

Hipofosfatemia y fragilidad osmótica eritrocítica en cabras (Hypophosphatemia and eritrocítica osmótica fragility in goats)

Forchetti O., Maffrand C., Vissio C., Boaglio C., Cufre G. Universidad Nacional de Río Cuarto Fac. de Agr. y Veterinaria

Contacto: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/curriculum/oforchetti.htm>

RESUMEN

El fósforo es un nutriente esencial y como fosfato está comprometido en muchas actividades metabólicas del organismo. La concentración de fósforo inorgánico sérico parece tener un efecto directo o indirecto en procesos que podrían contribuir a la hemólisis de los eritrocitos cuando los animales están entre otras, bajo situaciones de estrés metabólico con altas demandas energéticas como son el crecimiento, la gestación el parto y la lactancia. En esta trabajo se encontró en una cabra, una asociación entre fosfatemias persistentemente baja y mayor fragilidad osmótica de sus eritrocitos en comparación con la de otras que en las mismas condiciones fisiológicas, nutricionales y de manejo, mostraron fosfatemias superiores. Se observó además que en la etapa de lactancia el 70 –80 % de los eritrocitos se hemolizaban cuando eran suspendidos en solución buffereada de NaCl al 0,75%, mientras que en iguales condiciones para los eritrocitos de las cabras cuyas concentraciones de fósforo inorgánico habían sido superiores, el porcentaje de hemólisis no superaba el 20%. Ello indicaría la existencia de una clara relación entre hipofosfatemia y aumento en la fragilidad osmótica eritrocítica. Esto podría ser explicado, al menos en parte, por una reducción en la glucólisis anaeróbica, disminución de los niveles de ATP y de 2-3 difosfoglicerato y posible disminución en la síntesis de glutatión reducido (GSH), NAD y NADP, circunstancias que ponen en desventajas metabólicas a estos eritrocitos al tornarlos más frágiles.

Palabras claves: fosfatemia, cabras, fragilidad osmótica

ABSTRACT

Phosphorus, one of the essential nutrients, is involved mainly as phosphates in most of body metabolic activities. Blood serum phosphorus concentrations seems to have direct or indirect effects on different processes which could produce hemolysis of red blood cells when the animals are under metabolic stress or high energy requirements. Some of these conditions were produced during growing, pregnancy, parturition or lactation. In our work we found a goat that showed hypophosphatemia associated with higher osmotic fragility of red blood cells than that of goats subjected to the same physiological conditions but with higher phosphatemia.

In addition during lactation 70-80 % of the erythrocytes of this goat were hemolyzed in buffer solutions containing 0.75 % w/v NaCl meanwhile for the other goats only 20 % of hemolysis was detected.

It seems that there is a correlation between hypophosphatemia and osmotic fragility of red blood cells. This effect could be attributed to a decrease in anaerobic glycolysis ATP and 2-3 di phosphoglycerate concentrations and perhaps of reduced glutathione, NAD or NADP leading to a higher erythrocyte fragility.

Keywords: goats, phosphatemia, osmotic fragility.

INTRODUCCIÓN

El fósforo es constituyente esencial de los tejidos óseo y muscular y participa en la composición del tejido nervioso. Aproximadamente el 80% del fósforo corporal está presente en los huesos y dientes mientras que el resto se encuentra ampliamente distribuido en los tejidos blandos (Beede. y Davidson. 1999).

No está claro si su homeostasis esta regulada por el reciclaje de la saliva, la excreción endógena por heces y orina, que a su vez están relacionadas directamente con la cantidad de fósforo consumido y absorbido, o una combinación de dos o todos los factores mencionados (Beede. y Davidson. 1999.; Vitti y col. 2000). Su concentración en circulación esta en parte regulada entre otros factores por los niveles de Vitamina D y por la actividad de las glándulas endócrinas

Se han observado además, variaciones fisiológicas de acuerdo a la edad, ingesta, actividad física, estado de preñez y lactancia. Vitti (2000) postula que con bajos ingresos dietarios de fósforo, insuficientes para los requerimientos de mantenimiento, el nivel de fósforo en la sangre es mantenido por un incremento en la reabsorción ósea y por su movilización desde los tejido blandos. No obstante, puede resultar en bajos niveles de fosfatemia.

Esta fina regulación es necesaria pues el fósforo es requerido para múltiples reacciones metabólicas y energéticas. Como fosfatos ayuda a mantener el balance ácido base y osmótico de los líquidos corporales, como componente de los ácidos nucleicos está comprometido en el crecimiento y diferenciación celular, como componente de los fosfolípidos contribuye a la integridad y fluidez de las membranas. (Rosol. y Capen. 1997. Beede. y Davidson. 1999).

En bovinos se observó que una inadecuada concentración plasmática de fósforo altera la funcionalidad y viabilidad de los eritrocitos. (Ogawa. y col. 1989). La prolongada hipofosfatemia se considera la causa predisponente más importante de fragilidad eritrocítica y se cree que la lactación al producir pérdidas adicionales de las reservas de fósforo, contribuiría a incrementarla (Blood. y Radostits. 1992)

La membrana del eritrocito es flexible pero no elástica y su fragilidad está relacionada a su configuración geométrica por lo que en un ambiente hipotónico se hincha hasta su máximo (volumen hemolítico crítico) y se torna esférico antes de que ocurra la hemólisis. En distintas enfermedades la resistencia a la hemólisis puede verse incrementada o disminuida y la determinación *in vitro* de la fragilidad osmótica del eritrocito, se correlaciona con un posible comportamiento similar de estas células *in vivo* (Schalm y col. 1975, Jain. 1993)

Existe una marcada diferencia por especie en la susceptibilidad del eritrocito a la hemólisis en solución salina hipotónica. Varios factores extrínsecos (pH, temperatura, oxigenación) e intrínsecos (edad de los animales, especie, raza, lipemia, edad de los eritrocitos) influyen sobre la fragilidad osmótica y los valores obtenidos varían con los diferentes laboratorios lo que lleva a considerar que en cada investigación se deban establecer los valores de referencia para el propósito de compararlos con el observado en las enfermedades.

Por todo ello se consideró importante estudiar la fragilidad osmótica de los eritrocitos (FOE) de una cabra que presentaba fosfatemia persistentemente baja respecto a otras que estaban en iguales condiciones fisiológicas y de manejo productivo, durante distintas etapas de su desarrollo (prepubertad-pubertad, gestación, parto y lactancia).

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en Río Cuarto, Córdoba, Argentina, 33° 08" S, 64° 20" O, bajo condiciones de fotoperíodo natural. Los primeros 150 días del ensayo comprendieron al período de prepubertad-pubertad de las cabrillonas y los siguientes 200 días el período de gestación-parto y lactancia.

Período prepubertad-pubertad.

Cinco cabras Criollas, prepúberes nacidas en primavera, de 4 meses de edad y de $12,96 \pm 1,02$ kg. de peso, que habían superado un cuadro agudo de coccidiosis y que desde hacía treinta días se encontraban clínicamente sanas, fueron identificadas como: cabras 01, 02, 03, 04, y 05 respectivamente.

El alimento se ofreció en jaulas individuales desde las 8,00 hs hasta las 16,00 hs a fin de controlar el consumo diario, permaneciendo los animales libres el resto del tiempo durante el cual tenían libre acceso a la provisión de agua y podían desarrollar interacción social.

Las dietas fueron periódicamente ajustadas para mantenerlas a un máximo consumo posible minimizando el rechazo de alimento. La composición de la dieta fue: 20% PB y 2,7 Mcal EM/kg. MS, (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición de la dieta entregada a las cabrillonas.

Componente	%	Composición Química (base seca)	%
Grano de maíz molido	40,10	MS	87,67
Alfalfa, heno (%)	41,00	Proteína cruda	20,00
		Extracto etéreo	5,08
Harina de soja.	15,00	PNDR	30,0
		PDR	70,0
Expeller de soja	3,00	CNS	46,19
		FDN	21,74
Aceite de soja	0,50	Lignina	5,0
		Energía (Mcal EM/Kg MS)	2,70
Minerales y vitaminas	0,40	Ceniza	7,07

A intervalos semanales se determinó el peso vivo antes de suministro de alimento, con un desbaste previo de 16 horas. Simultáneamente se examinaron todas las cabras para comprobar su estado clínico y se tomaron muestras de materia fecal para exámenes parasitológicos.

Las muestras de sangre de los animales fueron tomadas por venipunción yugular dos veces por semana antes de la oferta de comida, y antes de transcurridos dos horas desde su extracción fueron centrifugadas por 10 min a 1200 g para separar el suero. Los sueros fueron procesados inmediatamente empleando un método colorimétrico para la determinación de fósforo inorgánico usando los reactivos para Laboratorio Clínico (Wiener Lab®) y en un multianalizador (Metrolab 2100®).

A partir del día 25 de iniciado el ensayo y habiéndose constatado la persistencia de valores bajos de fosfatemia de la cabra 02 respecto de las otras, se ejecutó el test de fragilidad osmótica eritrocítica (FOE) a todos los animales, el que se repitió durante el transcurso de los restantes días en diez oportunidades elegidas arbitrariamente. Para ello se tomaron de cada animal muestras de sangre en tubos con heparina como anticoagulante. El porcentaje de hemólisis de cada muestra se graficó en función de concentraciones crecientes de NaCl (Parpart y col. 1947, Schalm y col. 1975).

Período gestación-parto-lactancia.

De las cinco cabras iniciales en tres se detectó preñez correspondiendo a las identificadas como: cabra 01, cabra 02 y cabra 03. Por ecografía se observaron dos embriones en las cabras 02 y 03 y sólo un embrión en la 01. Se las mantuvo bajo estudio durante todo el período de gestación (147-150 días), parto y hasta los 45-50 días de lactancia.

La metodología de muestreo y los procedimientos analíticos para el dosaje de fósforo y para el estudio de la FOE, fueron los mismos a los empleados en el período anterior

RESULTADOS.

Durante todos los períodos de estudio las cabras se mantuvieron clínicamente sanas y libres de parásitos.

Período prepubertad-pubertad.

El registro de peso vivo mostró un incremento sostenido en todos los animales durante el primer período de 150 días.

No obstante se observó que la cabra 02 que mostró un incremento en el peso similar al de las más pesadas en los primeros 60 días, mantuvo su incremento de peso por debajo del de las más livianas en los siguientes 70 días (Figura 1).

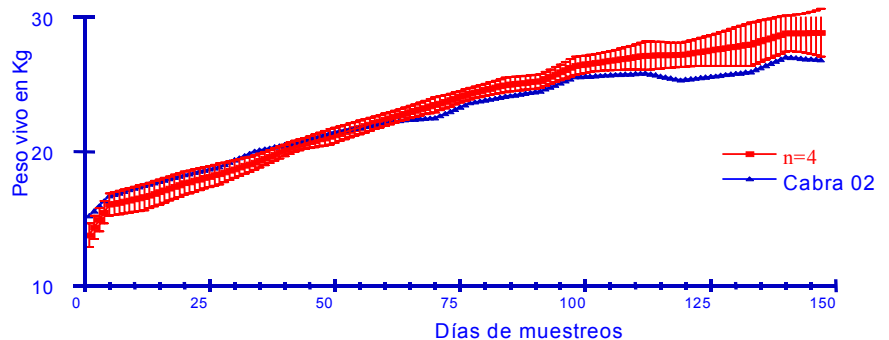


Figura 1. Evolución de los pesos promedio de las cabras 01, 03, 04, y 05 (n=4) y de los pesos correspondientes a la cabra 02.

Las concentraciones sanguíneas de fósforo inorgánico (P) en mg/dl, de la cabra 02, se mantuvieron inferiores a las de las otras cabras durante los primeros 150 días (Figura. 2).

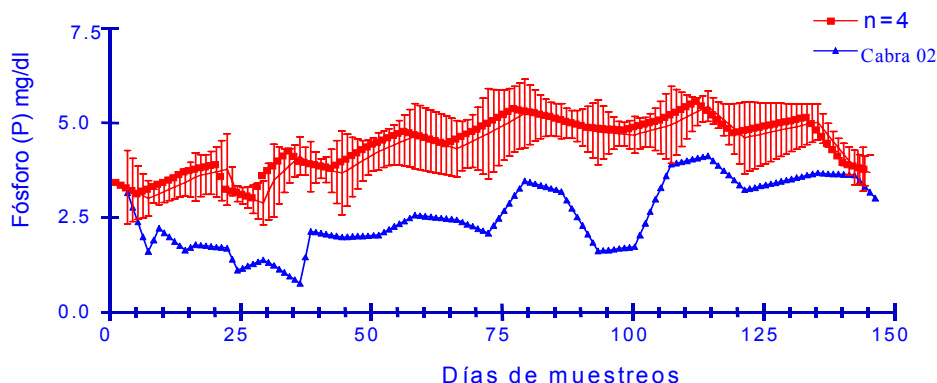
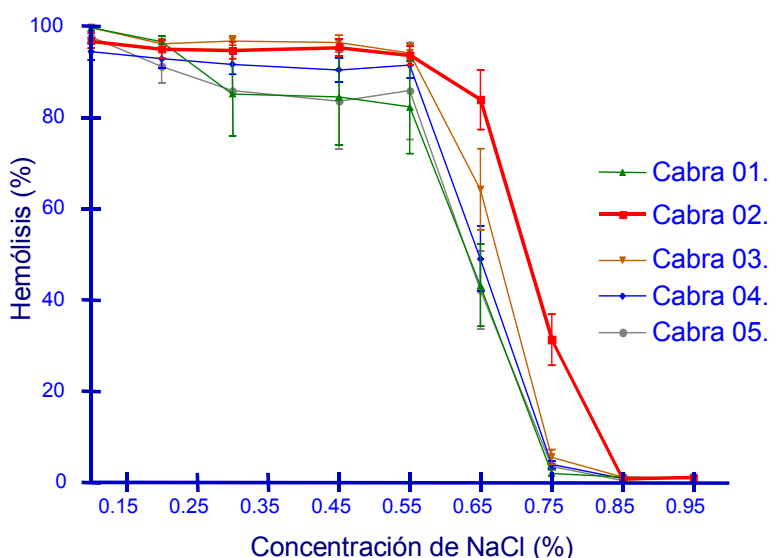


Figura 2. Concentración sérica de fósforo inorgánico de la cabrilla 02 y promedios con desvíos estándar de las otras cuatro, en período prepubertad-pubertad.

Cuando los eritrocitos de las muestras tomadas en distintos momentos del transcurso del ensayo, fueron suspendidos en solución buffereada con concentraciones crecientes de solución de NaCl, se observó que los de la cabra 02 mostraron mayor susceptibilidad osmótica que los de las otras cabras. Esto fue evidente para las concentraciones de NaCl 0,75% y para la de NaCl 0,65% (Figura.3).

Figura 3. Gráfico de los valores promedio con sus desvíos de los porcentajes de hemólisis cuando los eritrocitos de las cabras fueron suspendidos en soluciones buffereadas con concentraciones crecientes de NaCl en distintas oportunidades durante los primeros 150 días de comenzado el ensayo.



Período gestación-parto-lactancia.

Si bien al inicio de la gestación las concentraciones de fósforo sanguíneo de las cabras fueron similares, en las determinaciones posteriores de este mismo período, se observó que las fosfatemias de la cabra 02 eran persistentemente inferiores a las de las otras cabras (Figura 4. A, C y E). Cuando los eritrocitos fueron suspendidos en solución buffereada de NaCl (0,75%) el porcentaje de hemólisis de los de la cabra 02 fue superior (mayor de 20%) al de los de las otras cabras que nunca superaron el 10 % de hemólisis. (Figura 4. B, D y F).

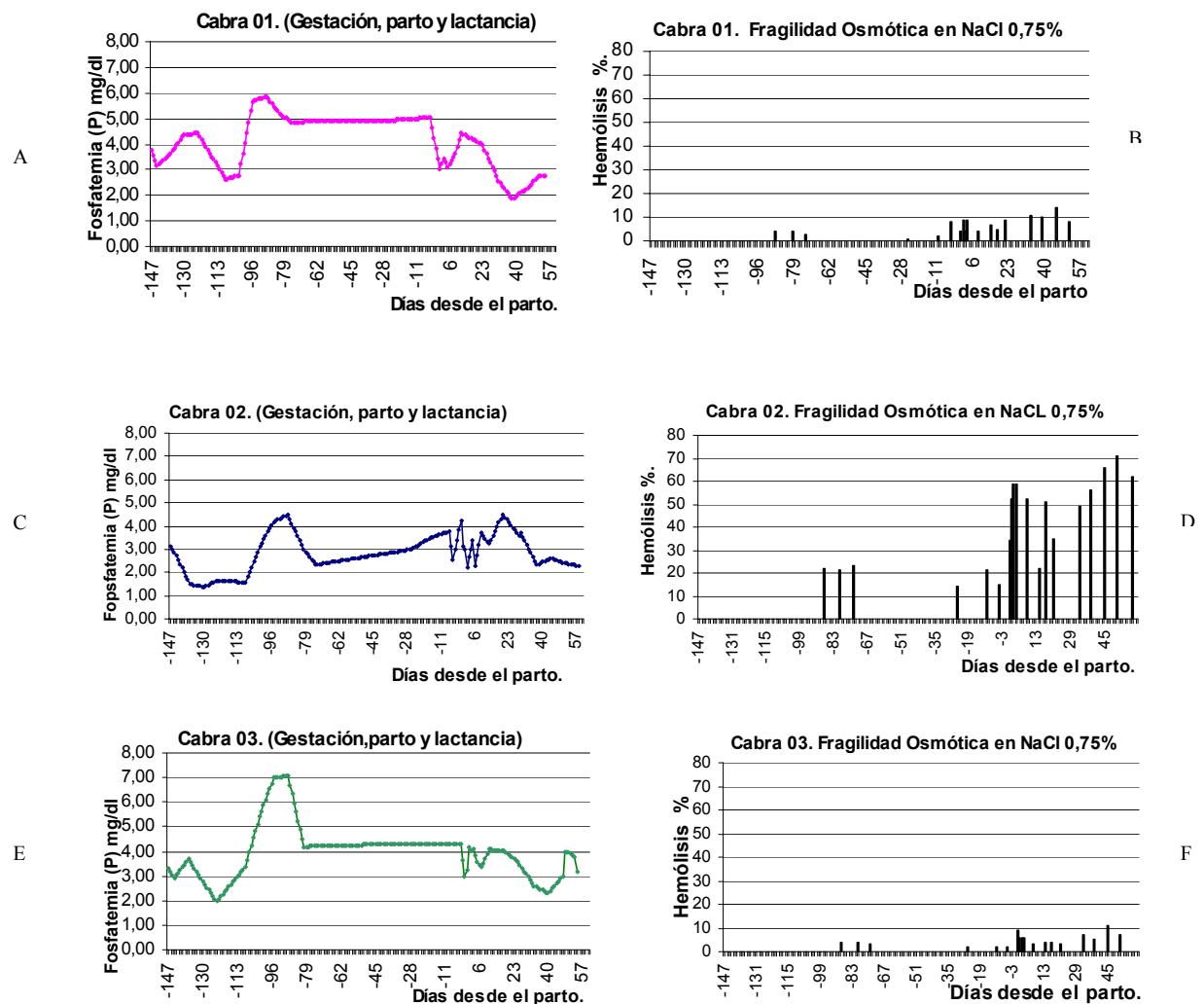


Figura 4. Gráficos de los cambios que ocurren en las concentraciones de fósforo inorgánico sérico y en el porcentaje de hemólisis cuando los eritrocitos son suspendidos en solución buffereada de NaCl 0,75% durante los períodos de gestación parto y lactancia de las cabras preñadas 01, 02, y 03.

Durante el parto y la lactancia las variaciones en la fosfatemia de las cabras fueron similares, observándose entre los días 40-50 posteriores al parto, los valores más bajos de este período (Figura 4. A, C y E). El test de FOE en solución buffereada de NaCl (0,75 %) mostró que si bien en todas hubo un incremento en el porcentaje de hemólisis, este incremento llegó a más del 70 % para los eritrocitos de la cabra 02 durante el transcurso de los 40-50 días posteriores al parto (Figura 4. B, D y F).

DISCUSIÓN.

En el período en que se realizó el presente estudio los animales tenían alta demanda nutricional por crecimiento, sin embargo podemos presumir que el aporte dietario logró satisfacerla, pues los exámenes clínicos fueron en todo momento compatibles con los de animales sanos, al igual que la ganancia promedio de pesos.

No obstante en la cabra 02 se hicieron evidentes a partir del segundo muestreo los valores de fósforo inorgánico sérico muy bajos respecto de los de las otras, y persistieron hasta finalizar el trabajo. También se observó en esta misma cabra que a partir del día 70 de iniciado el ensayo, su incremento de peso comenzó a ser inferior al de las restantes cabras.

Ambas circunstancias podrían estar relacionadas pues se ha descrito para bovinos que los animales con deficiencias primarias de fósforo crecen con lentitud y si la deficiencia persiste por varios meses pueden desarrollar entre otros signos una marcada pérdida de peso (Blood. y Radostits. 1992).

Considerando que los animales pertenecían a una misma raza, correspondían al mismo grupo etario, estaban en estados fisiológicos similares y bajo las mismas condiciones ambientales y de manejo nutricional, los valores de fosfatemia persistentemente bajos de esa cabra, podrían ser atribuidos a una menor absorción intestinal producto de posibles secuelas de la coccidiosis aguda (Aumont. y col. 1986. Allen. y Bockwski. 1999) que los animales sufrieron tres meses antes de iniciarse el trabajo. Si bien la concentración sanguínea de fósforo no es un buen indicador de la cantidad de fósforo que se encuentra en el organismo del animal, una hipofosfatemia intensa es un buen indicador de la deficiencia grave de fósforo (Blood. y Radostits. 1992).

Los exámenes de FOE nos mostraron que en la cabra con hipofosfatemia la susceptibilidad a la hemólisis estaba incrementada respecto de las otras que presentaban fosfatemias más altas y por lo tanto, bajo estas condiciones existiría una clara relación entre ellos. Esto podría ser explicado, al igual que para otras especies, por una reducción en la glucólisis anaeróbica, y en los niveles de ATP y de 2-3 difosfoglicerato y posible disminución en la síntesis de glutatión reducido (GSH), NAD y NADP, circunstancias que ponen en desventaja metabólica a estos eritrocitos al tornarlos más frágiles. Cuando en el eritrocito disminuye la energía metabólica suficiente para mantener la forma, el balance osmótico, proteger la hemoglobina y los lípidos de membrana del daño oxidativo, se incrementa la susceptibilidad a la hemólisis y sobreviene la destrucción celular (Jain. 1993).

La gestación parto y lactancia son considerados estados en los que el organismo está bajo un estrés metabólico y asociado a esto se han comunicado algunos cambios bioquímicos y

hematológicos en distintas especies y razas de animales como es el caso de las cabras (Azab. y col. 1999).

En nuestra experiencia pudimos observar que en el período de gestación los valores de fosfatemia que eran semejantes para todos los animales en sus inicios, se hicieron inferiores para las cabras melliceras, lo que nos hizo suponer que ello fue debido a una mayor demanda fetal. Además en una de estas melliceras se observaron los valores más bajos de fósforo inorgánico y ello correspondió al animal que previamente manifestaba hipofosfatemia persistente, lo que nos permitió suponer que a las variaciones en la concentración de fósforo que le eran propias por el estado fisiológico y número de embriones gestantes, debíamos agregar las variaciones individuales producto de circunstancias particulares como las ya mencionadas.

Luego del parto las tendencias en las fosfatemias fueron similares en todos los animales aunque con valores inferiores a los comunicados por otros autores (Landow. 1988) lo que podría justificarse por las fuertes diferencias que existen entre razas de cabras (Azab. y col. 1999).

Las mismas circunstancias de estrés con incrementos en las demandas de nutrientes como necesidad de adaptación metabólica, y en particular el relacionado con el metabolismo energético, podría ser la causa de una mayor susceptibilidad a la hemólisis de los eritrocitos de la cabra que presentó marcada y persistente hipofosfatemia. Sin embargo este factor por sí solo no podría justificar el asombroso incremento en la fragilidad osmótica de los eritrocitos de esta misma cabra luego del parto, por lo que podríamos suponer que existirían además otros factores involucrados.

En el bovino la hemoglobinuria posparto se caracteriza por una hemólisis intravascular previa que ocurre 2 a 3 semanas luego del parto, aunque también puede ocurrir a los 42 días posteriores al mismo (Blood D. C., Radostits O. M. 1992). Si bien en las cabras no observamos hemoglobinuria, la mayor fragilidad osmótica eritrocitaria se observó durante los períodos comprendidos entre la segunda y tercer semana de lactancia y luego entre los 45 a 50 días del parto, por lo que podríamos suponer que existirían en esos períodos perturbaciones metabólicas y mecánicas en el eritrocito, similares a las descriptas para el bovino.

Si bien el mecanismo de destrucción celular que sucede en estos momentos no es definitivamente conocido, se sospecha que las causas directas o indirectas que estarían comprometidas serían la disminución en la concentración sanguínea de fósforo inorgánico y/o la de cobre. Esto llevaría no sólo a la perturbación energética del glóbulo rojo, sino que además estaría comprometiendo la habilidad de oponerse o resistir el daño oxidativo acumulativo generado en forma endógena, o los que pudieran generarse por diferentes causas mecánicas (Jaín N. C. 1993, Landaw O. 1988).

Aunque la determinación de la fragilidad osmótica de eritrocitos *in vitro* se correlaciona con una posible similitud de comportamiento *in vivo*, su exacta relación no se conoce. No obstante existe correlación entre anormalidad osmótica y fragilidad mecánica con acortamiento de sobrevivencia de los eritrocitos. Se ha considerado que todos estos factores podrían contribuir a desencadenar o profundizar cuadros de anemias aunque en esta oportunidad no se presentaron.

BIBLIOGRAFÍA

1. Allen. M. J., Bockowski. G. L. (1999). The Laboratory Small Ruminant. CRC Press. LLC. pp 60.
2. Aumont. G., Yvone. P., Esnault. A. (1986) Experimental coccidiosis in goats. Effect of parasitism on nutritional balances and some blood parameters. Ann. Rech. Vet. v.17(2). pp 191-196
3. Azab. M.E., Hussein. A., Abdel-Maksoud (1999). Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. Small Ruminant Research 34, pp 77-85.
4. Beede. D. K., Davidson. J. A. (1999). Phosphorus: Nutritional management for Y2K and beyond. Tri-State Dairy Nutrition Conference. pp.51-97.
5. Blood. D. C., Radostits. O. M. (1992). Medicina Veterinaria. McGraw-Hill. Interamericana.
6. Jain. N. C. (1993). Essentials of Veterinary Hematology. Eds. Lea & Febiger. Philadelphia.
7. Landaw O. 1988 citado por Harvey, J. W. (1997) en Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Fifth Edition. Ed Kaneko. J. J., Harvey. J. W., Bruss. M. L. Academic press. pp 189.
8. Ogawa. E., Kobayashi. K., Yoshiura. N., Mukai. J. (1989). Hemolytic anemia and red blood cell metabolic disorder attributable to low phosphorus intake in cows. Am. J. Vet. Res. 50(3) pp 388-392.
9. Parpart. A. K., Lorenz. P.B., Paarpart. E. R., Gregg. J. R., Chase. A. M. (1947). The Osmotic Resistance (Fragility) of Human Red Cells. J. Clin. Invest. 26 pp 636.
10. Rosol. T. J., Capen. C. CH. (1997). Phosphate Metabolism. en Clinical Biochemistry of Domestic Animals Eds. Kaneko J J., Harvey J W., Bruss M L. pp 646-648.
11. Schalm. O. W., Jain. N. C., Carroll. E. J. (1975). Veterinary Hematology. 3rd ed Lea & Febiger. Philadelphia.
12. Vitti. D. M. S. S., Kebreab. E., Lopes. J. B., Abdalla. A. L., DeCarvalho. F. F. R., De Resende. K. T., Crompton. L., Frances. J. (2000). A kinetic model of phosphorus metabolism in growing goats. J. Anim. Sc. 78:2706-2712.

Trabajo recibido el 07/11/2005, nº de referencia 010602_RED VET. Enviado por su autor principal, forchetti, miembro de la [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)®. Publicado en [Revista Electrónica de Veterinaria REDVET](http://www.veterinaria.org)®, ISSN 1695-7504 el 01/01/06.

[Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - Veterinaria Organización S.L.®

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica en su totalidad o parcialmente, siempre que se cite la fuente, enlace con [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org) - [http://www.veterinaria.org/](http://www.veterinaria.org) y [REDVET](http://www.veterinaria.org)® [http://www.veterinaria.org/revistas/redvet](http://www.veterinaria.org) y cumplan los requisitos indicados en [Copyright](http://www.veterinaria.org) 1996-2006