

**COMPORTAMENTO DO CÁLCIO, FÓSFORO E
MAGNÉSIO EM RATAS SUBMETIDAS Á DESNUTRIÇÃO
DURANTE VARIAS ETAPAS NO PERÍODO GESTACIONAL**

*Maria Eneida Aiello Sartor,¹ Fernando José de Nóbrega,²
Suzana de Souza Queiroz Tonete,³ Cleide Enoir Petean
Trindade⁴ e Paulo Roberto Curi⁵*

**Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Botucatu, São Paulo, Brasil**

RESUMO

Pudemos observar para cálcio e fósforo, comportamento bastante semelhante:

— Aumento de concentração na gestante controle em determinado período da gestação. O mesmo não foi observado na gestante desnutrida, que

Manuscrito modificado recebido: 30-11-81.

- 1 Auxiliar de Ensino do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, Distrito de Rubião Junior, CEP. 18.610, Botucatu, SP, Brasil.
- 2 Professor Titular do Departamento de Pediatria da Escola Paulista de Medicina.
- 3 Professor Assistente Doutor do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.
- 4 Professor Adjunto do Departamento de Pediatria da mesma Faculdade.
- 5 Professor Assistente Doutor do Departamento de Matemática e Estatística do Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola do Campus de Botucatu, UNESP, São Paulo, Brasil.

mostrou evidente diminuição.

— A gestante foi mais afetada pela desnutrição que a não gestante.

Quanto ao magnésio notamos que:

— A sua concentração não sofreu influência no transcorrer do tempo, quer pela gestação ou desnutrição.

— A desnutrição por si só foi a maior responsável pelas diferenças observadas entre os grupos.

Concluimos que, em condições de eutrofia, a gestante tem toda condição de acionar determinados recursos a fim de suprir as necessidades fetais. No entanto, em condição de desnutrição esses mecanismos podem ficar seriamente inibidos, acarretando, desta forma, um desenvolvimento fetal, possivelmente inadequado.

INTRODUÇÃO

Modificações no metabolismo do cálcio e fósforo durante a gestação são conhecidas de longa data. Resultam da necessidade de calcificação do feto, determinando maior demanda desses íons e conseqüentemente, alterações no metabolismo materno.

Trabalhos em animais e principalmente em humanos, mostram que o cálcio plasmático materno diminui no decorrer da gestação o mesmo acontecendo com o fósforo (1-7). Apesar desses estudos, a variação dos elementos considerados em função da gestação ainda não está completamente esclarecida, uma vez que a homeostase do cálcio é regulada por mecanismos complexos (3) e o seu valor no soro não traduz completamente as variações nos diversos compartimentos em que ele se localiza.

Sabemos que o cálcio se encontra no líquido extra-celular sob três formas: iônico (47,5%), ligado à proteína em especial a albumina 45,5%) e o restante sob a forma de complexos como citratos, fosfatos e outros anions (14,15%). O cálcio iônico é o componente fisiologicamente mais importante, sendo esta a forma sob a qual o cálcio é transferido para o feto através da placenta (5, 8).

Trabalhos em gestantes têm mostrado aumento do cálcio na fase inicial (8-13 semanas) em relação às controles não gestantes o mesmo acontecendo com o fósforo, seguindo-se de queda até o final da gestação, sendo que o magnésio praticamente não se altera (5).

A fração iônica do cálcio, variou pouco segundo Pitkin e Gebhart (4), entretanto outros autores mostraram aumento do paratormônio (3, 4) e conseqüentemente, aumento na absorção do

calcio intestinal e reabsorção do cálcio ósseo.

A redução no cálcio total, tem sido relacionada com a queda de proteína, em especial da albumina, que ocorre com o progredir do período gestacional (5, 6).

Com relação ao magnésio tem se observado que durante a gravidez seus valores praticamente não se alteram (9). O paratormônio atua sobre o magnésio à semelhança do cálcio, porém menos eficazmente (10). Em ratas gestantes com privação de magnésio, Dancis, Springer e Cohlán (9), observaram discreta queda do magnésio muscular e acentuada redução do magnésio do feto, parecendo que os mecanismos de espoliação materna pelo feto funcionam pouco em relação ao magnésio.

Objetivos

Neste trabalho, além do comportamento do Ca, P e Mg durante a gestação, procuramos evidenciar o efeito da desnutrição protéico-calórica (DPC) na gestante sobre os íons considerados no plasma.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos ratas virgens da raça Wistar, em idade de reprodução (90 dias), pesando em média 207 ± 20 g que constituíram os seguintes grupos:

Gestantes

Nos grupos de ratas gestantes procedeu-se à contagem dos dias de gestação após comprovação do coito pelo encontro de espermatozóides no esfregaço vaginal. Este era realizado pela manhã, após as fêmeas terem permanecido durante toda a noite (pelo menos 12 horas) com os machos.

Controle (GC) – Receberam *ad libitum* água e ração pronta para ratos e camundongos marca Batavo,⁶ assim composta de acor-

6 Constituição da dieta controle: umidade (máximo), 12,50%; proteína bruta (mínimo), 20,00%; extrato etéreo (mínimo), 3,50%; matéria fibrosa (máximo) 8,00%; cálcio (máximo), 1,90%; fósforo (mínimo), 0,35%, e proteína animal (mínimo), 1,00%. Componentes básicos: milho moído, farinha de torta de soja, subproduto de trigo, farinha de peixe, farinha de carne, bifosfato de calcio, sal comum, vitaminas e micro-elementos minerais.

do com as especificações do fabricante.

Desnutrida (GD) — Receberam, durante todo o período gestacional, ração carente protéico-calórica,⁷ preparada em nossos Laboratórios.

Não Gestantes

Controle (C) — Receberam *ad libitum* água e ração pronta para animais de laboratório como assinalado em controle (GC).

Desnutrida (D) — Receberam ração carente protéico-calórica durante período equivalente e da mesma forma que em desnutrida (GD).

O sacrifício dos animais era realizado sempre pela manhã e deu-se aos 7, 14, 17, 19 e 21 dias de gestação (GC e GD) e de desnutrição (D). Para o grupo controle (C) foram sacrificadas ratas eutróficas, semelhantes em idade e peso àquelas selecionadas para outros grupos e que serviram como controle de todos os tempos de desnutrição e/ou gestação.

O sangue foi coletado com heparina diretamente do coração, imediatamente centrifugado, o plasma separado, congelado em nitrogênio líquido e estocado em “freezer” até o momento das dosagens bioquímicas.

Para o dosagem do cálcio, foi utilizado o método do glioxalbis (13), sendo este de excelente reprodutibilidade, alta sensibilidade e fácil execução.

O fósforo foi dosado pelo método clássico de Fiske e Subbarow (14), o que dispensa discussão; e o magnésio por absorção atômica (Perkin-Elmer 305B).

Para cada uma das três variáveis estudadas, fez-se uma análise de variância visando determinar diferenças entre os grupos e os tempos de acordo com as considerações: fator A, quatro grupos e fator B, cinco tempos. Portanto utilizou-se um fatorial 4x5. A significância de F foi verificada sempre para $\alpha = 0.05$. No caso da interação ser significativa, a análise foi completada, verificando-se as diferenças entre os tempos dentro de cada grupo e as diferenças entre os grupos, fixado o tempo (15).

7 Constituição da dieta carente: amido (maizena), 89%; proteína (caseína), 1%; óleo de caroço de algodão, 5%; óleo de fígado de bacalhau, 1%; mistura de sais minerais, segundo Hegsted *et al.* (11), 4%; e vitaminas, segundo Manna e Hauge (12), 50 ml/kg.

RESULTADOS

Calcio (Tabela 1)

Observamos que no grupo gestante controle ocorreu aumento significativo do cálcio plasmático até o 17o. dia de gestação e a partir desse momento, até o 21o. dia, houve diminuição. Já o grupo gestante desnutrido apresentou diminuição durante todo o transcorrer da gestação, embora significativamente somente até o 17o. dia. As ratas que sofreram somente desnutrição não apresentaram alteração significativa do cálcio plasmático. Comparando os grupos entre si observamos que o grupo gestante controle mostrou-se sempre com níveis superiores aos demais.

Fósforo (Tabela 2)

As ratas gestantes-controle apresentaram apenas pequeno aumento do fósforo plasmático aos 17 e 19 dias de gestação, enquanto que as gestantes desnutridas e as somente desnutridas mostraram diminuição durante o período estudado.

Quanto ao comportamento do fósforo entre grupos, aqui ocorreu maiores níveis da gestante controle em relação aos outros grupos.

Magnésio (Tabela 3)

O magnésio plasmático não se mostrou alterado quando estudado em função de tempo, dentro dos vários grupos. Comparando os grupos entre si, observamos que, para a maioria dos tempos estudados, os grupos-controle (GC e C) apresentaram sempre níveis mais elevados que os grupos desnutridos (GD e D).

DISCUSSÃO

O valor do cálcio, fósforo e magnésio plasmático em um dado momento da gestação é a resultante da sua oferta, dos mecanismos que regulam a sua homeostase e da demanda fetal.

As necessidades fetais desses elementos são diferentes em cada período da gestação correspondendo à maior ou menor incorpo-

TABELA 1

DOSAGENS DE CÁLCIO (mg/dl) NO PLASMA DE RATAS NOS DIFERENTES GRUPOS
E PERÍODOS ESTUDADOS. MÉDIAS (\bar{X}), DESVIOS-PADRÃO (S) E
COEFICIENTES DE VARIACÃO (CV)

Grupo	Tempo (días)	7	14	17	19	21	
Gestante controle (GC)	\bar{X}	8,597	8,654	10,132	9,629	8,628	
	S	0,579	1,194	1,648	1,105	0,777	17 = 19 > 7
	CV	6,736	13,801	16,266	11,475	9,007	7 = 14 = 21
Gestante desnutrida (GD)	\bar{X}	7,920	7,803	6,576	6,389	6,279	7 = 14 > 17
	S	0,524	1,028	0,514	0,937	0,605	17 = 19 = 21
	CV	6,612	13,175	7,821	14,677	9,629	
Desnutrida (D)	\bar{X}	8,060	7,505	7,640	7,760	7,671	
	S	0,917	0,313	0,755	0,659	0,750	n.s.
	CV	11,379	4,168	9,876	8,497	9,771	
Controle (C)	\bar{X}	7,96	7,96	7,96	7,96	7,96	
	S	0,585	0,585	0,585	0,585	0,585	-
	CV	7,356	7,356	7,356	7,356	7,356	
		n.s.	GC > D	GC > GD GD = D = C	GC > GD, D, C GD < D = C	GC > GD GC = D = C	

No. de amostra = 8.

TABELA 2

DOSAGENS DE FÓSFORO (mg/dl) NO PLASMA DE RATAS DE DIFERENTES GRUPOS E PERÍODOS ESTUDADOS. MÉDIAS (X), DESVIOS-PADRÃO (S) E COEFICIENTES DE VARIAÇÃO (CV)

Grupo	Tempo (dias)	7	14	17	19	21	
Gestante controle (GC)	\bar{X}	6,631	7,198	7,985	8,332	5,963	
	S	0,844	0,720	1,088	1,038	0,989	17 = 19 > 7
	CV	12,736	9,998	13,623	12,455	16,585	7 = 14 = 21
Gestante desnutrida (GD)	\bar{X}	5,639	5,200	5,410	4,105	4,296	
	S	0,515	0,752	0,808	0,590	0,687	7 = 14 = 17
	CV	9,136	14,755	14,929	14,380	16,003	17 > 19 = 21
Desnutrida (D)	\bar{X}	6,501	4,942	5,748	4,379	5,676	
	S	0,244	0,618	1,179	0,589	0,627	7 = 17 = 21
	CV	3,750	12,500	20,515	13,442	11,054	21 > 14 = 19
Controle (C)	\bar{X}	5,60	5,61	5,61	5,61	5,61	
	S	0,865	0,865	0,865	0,865	0,865	-
	CV	15,447	15,447	15,447	15,447	15,447	
		GC > C	GC > GD GD > D > C	GC > GD GD > D > C	GC > D G > GD = D	GC > GD GC = D = C	

No. de amostra = 8.

TABELA 3

DOSAGENS DE MAGNÉSIO ($\mu\text{g/ml}$) NO PLASMA DE RATAS NOS DIFERENTES GRUPOS E PERÍODOS ESTUDADOS. MÉDIAS (\bar{X}), DESVIOS-PADRÃO (S) E COEFICIENTES DE VARIAÇÃO (CV)

Grupo	Tempo (días)	7	14	17	19	21	
Gestante controle (GC)	\bar{X}	21,240	18,651	16,883	22,109	19,938	n.s.
	S	4,139	2,582	2,712	4,756	4,685	
	CV	19,487	13,846	16,066	21,513	23,498	
Gestante desnutrida (GD)	\bar{X}	16,686	18,744	17,084	17,933	15,323	n.s.
	S	1,742	7,142	1,903	3,512	4,744	
	CV	12,727	22,092	11,142	19,583	30,961	
Desnutrida (D)	\bar{X}	14,917	12,279	16,815	12,618	15,652	n.s.
	S	3,015	2,458	2,246	1,917	2,710	
	CV	20,210	20,018	13,357	15,192	17,316	
Controle (C)	\bar{X}	19,469	19,469	19,469	19,469	19,469	—
	S	4,550	4,550	4,550	4,550	4,550	
	CV	23,372	23,372	23,372	23,372	23,372	
		GC = C GC > GD = D	GC = GD = C GD > D	n.s.	GC = GD = C GD > D	n.s.	

No. da amostra = 7.

ração destes no organismo fetal (3, 16). Em ovelhas já se demonstrou que a transferência do Ca do "pool" materno para o feto mantinha-se baixa até aproximadamente a metade da gestação, aumentando rapidamente no final da mesma (17).

Com relação ao cálcio, pudemos observar, nas ratas gestantes controle aumento dos valores a partir do terço médio, que foram superiores aos das não prenhas. Além disso, ocorreu queda dos níveis calcêmicos no final deste período, embora tenham permanecido em níveis mais elevados que os das não gestantes (Tabela 1).

Trabalhos em mulheres (5) têm mostrado resultados semelhantes. O aumento seria resultante da elevação na fração iônica e estaria de acordo com níveis mais elevados de paratormônio e, conseqüentemente, aumento na absorção intestinal de cálcio e aumento na reabsorção óssea, fatos que se observam durante a gestação. Evidentemente esses níveis são alcançados com a finalidade de aumentar a passagem do cálcio iônico para o feto, favorecendo a mineralização do esqueleto. A queda do cálcio no fim deste período estaria, portanto, relacionada com a mineralização fetal e/ou acompanharia a diminuição das proteínas totais, em especial da albumina, que ocorre normalmente com o progredir da gestação (3, 5, 6).

Quando analisamos a gestante desnutrida observamos que no terço final, os valores do cálcio são mais baixos do que os encontrados nas desnutridas não prenhas (Tabela 1), parecendo haver somação de efeitos, isto é, a gestação imporia uma sobrecarga à desnutrida acentuando o seu déficit em cálcio. Como a dieta introduzida para promover desnutrição tem quantidades suficientes de cálcio e vitamina D, sendo apenas deficiente em proteínas e calorias, podemos supor que as alterações estejam fundamentalmente relacionadas com a redução protéica.

Entre nós, Lopez (18), utilizando dieta idêntica observou diminuição de proteínas totais tanto nas gestantes desnutridas como nos respectivos recém-nascidos, quando comparados com seus controles. Entretanto, a fração iônica do cálcio encontrava-se ligeiramente alterada nas gestantes eutróficas e aumentada significativamente nos recém-nascidos controle, o mesmo não sendo observado nos animais desnutridos.

Essas observações corroboram nossas suposições de que, em condições normais, ocorre aumento de passagem de cálcio iônico no sentido de favorecer a mineralização fetal.

Ficaria, ainda, a possibilidade de uma menor absorção intestinal ao contrário do que acontece com a gestante eutrófica. A

menor absorção intestinal poderia ser a consequência de menor teor de proteína transportadora em nível intestinal e/ou a redução de energia necessária para o transporte ativo do cálcio do interior das células para a corrente sanguínea, o que é feito contra gradiente de concentração (19).

O comportamento do fósforo na rata gestante normal é semelhante ao do cálcio, havendo aumento no terço médio e queda no final do período gestacional (Tabela 2). É possível que o paratormônio, já comprovadamente aumentado durante a gestação (5), esteja produzindo elevação na absorção intestinal do fósforo, sendo a sua diminuição, no fim deste período, decorrente da maior utilização fetal.

Na gestante desnutrida também observamos queda da concentração do fósforo no transcórter do tempo, embora tenha ocorrido mais tardiamente do que para o cálcio. As alterações verificadas nas ratas que sofreram apenas desnutrição, não foram muito claras, os níveis de fósforo oscilaram, porém em nenhum momento diferiram estatisticamente do controle, dando a impressão que esta variação não tem significado especificamente biológico.

A ação do paratormônio sobre o magnésio é semelhante a do cálcio, porém em menor intensidade (10). Observando o comportamento do magnésio na gestante, verificamos que ocorreram variações no decorrer da gestação, embora sem significância estatística, sendo os valores finais não diferentes dos iniciais, como já observado anteriormente em mulheres por Reitz *et al.* (5). Para esse tipo de variação, sem comportamento definido, fica difícil ajustar uma explicação. Como o magnésio é um íon importante, participando da atividade de vários enzimas como co-fator e atuando em sistemas de transporte, torna-se imprescindível tanto para a mãe como para o feto; deste modo é de se esperar que ocorram alterações mínimas no magnésio da gestante.

Trabalhos em ratas prenhas com dietas carentes apenas em magnésio têm mostrado discreta diminuição nos níveis plasmáticos, persistência do magnésio muscular e perda do osseo. Entretanto, as maiores deficiências foram encontradas no feto onde a redução era acentuada, dando a impressão de que a mãe se protege com prejuízo do feto (9).

Na desnutrição protéico-calórica, pode-se relacionar a redução do magnésio plasmático ao menor teor protéico do desnutrido, conseqüentemente, ocorre redução do magnésio ligado à proteína (20).

O comportamento da concentração de magnésio na desnutri-

ção foi diferente daquele observado nos dois grupos gestantes. Ao contrário do que verificamos com relação a cálcio e fósforo, o magnésio parece ter sofrido influência maior quando impusemos às ratas apenas carência protéico-calórica (Tabela 3).

Na primeira semana, as gestantes desnutridas têm seus valores de magnésio semelhantes às aquelas desnutridas; no entanto, esses níveis se elevam tendendo a se aproximarem das gestantes controles (Tabela 3). Este fato sugere que algum mecanismo seria acionado, no sentido de aumentar a concentração plasmática deste íon; mecanismo este que poderia estar relacionado com o paratormônio, que favoreceria a absorção intestinal de magnésio.

Além dessa hipótese, não poderíamos descartar outras, como reabsorção tubular renal ou ainda mobilização dos depósitos do magnésio. Para tanto, já se encontram em andamento, em nosso laboratório, estudos metabólicos mais detalhados.

Pudemos observar que a gestação por si só determina alterações no comportamento do cálcio e fósforo e a desnutrição no magnésio. Quando associamos à gestação o fator desnutrição, o comportamento dos íons citados se modifica, indicando que a desnutrição protéico-calórica interfere acentuadamente nesses íons, durante a gravidez.

SUMMARY

CALCIUM, PHOSPHORUS AND MAGNESIUM METABOLISM IN RATS SUBMITTED TO PROTEIN-CALORIE DEPRIVATION IN DIFFERENT GESTATIONAL PERIODS

An attempt was made to point out the alterations in serum calcium, phosphorus and magnesium, during gestation in female rats fed *ad libitum* normal diets (protein content, 21%), a protein-calorie deficient diet (protein content, 1%) in a quantity equal to half of that given to normal rats.

As the data revealed, in the control group of pregnant rats a significant increase in calcium on the 17th and 19th days was observed, as well as a decrease at the end of gestation. The values remained at higher levels in this group than those detected in the control non-pregnant rats.

The above-mentioned increase was not observed in the undernourished pregnant rats, which showed an evident decrease. The behavior of phosphorus in the control pregnant rats was similar to calcium behavior, but this "ion" had not suffered the influence of malnutrition when isolately imposed. With regard to magnesium, we noticed that throughout the experiment serum concentration was not influenced either by malnutrition or by gestation. Malnu-

trition itself was the greatest responsible factor as judged by the differences observed among the groups.

BIBLIOGRAFIA

1. Kerr, C., H. F. Loken, M. B. Glendening, G. S. Gordan & E. W. Page. Calcium and phosphorus dynamics in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **83**: 2-8, 1962.
2. Olatunbosun, D. A., F. A. Adeniyi & B. K. Adadevoh. Serum calcium, phosphorus and magnesium levels in pregnant and non-pregnant Nigerians. *Brit. J. Obstet. Gynaecol.*, **82**: 568-571, 1975.
3. Pitkin, R. M. Calcium metabolism in pregnancy: A review. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **121**: 724-737, 1975.
4. Pitkin, R. M. & M. P. Gebhard. Serum calcium concentrations in human pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **127**: 775-778, 1977.
5. Reitz, R. E., T. A. Daane, M. U. Facog, J. R. Woods & R. L. Weinstein. Calcium, magnesium, phosphorus, and parathyroid hormone interrelationship in pregnancy and newborn infants. *Obstet. Gynecol.*, **50**: 701-705, 1977.
6. Tan, C. M. & A. Raman. Serum ionic calcium levels during pregnancy. *J. Obstet. Gynaecol. Brit. Commonwealth*, **79**: 694-697, 1972.
7. Watney, P. J. M. & B. T. Rudd. Calcium metabolism in pregnancy and in the newborn. *J. Obstet. Gynaecol. Brit. Commonwealth*, **81**: 210-219, 1974.
8. Schauburger, C. W. & R. M. Pitkin. Maternal perinatal calcium relationships. *Obstet. Gynecol.*, **53**: 74-76, 1979.
9. Dancis, J., D. Springer & S. Q. Cohlan. Fetal homeostasis in maternal malnutrition. II. Magnesium deprivation. *Pediat. Res.*, **5**: 131-136, 1971.
10. Tsang, R. C. Neonatal magnesium disturbances. *Am. J. Dis. Child.*, **124**: 282-292, 1972.
11. Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. *J. Biol. Chem.*, **138**: 459-466, 1941.
12. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B₁₃ to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, **202**: 91-96, 1953.
13. Oliveira, A. M. **Determinação do Cálcio em Materiais Biológicos pelo Método Colorimétrico do Glixal-bis (2-hidroxianil)**. Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas, Botucatu, SP, Brasil, 1974, 70 p.
14. Fiske, C. H. & Y. Subbarow. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66**: 375-400, 1925.

15. Cochran, W. G. & G. Cox. **Experimental Designs**. 2a. ed. New York, N. Y., John Wiley & Sons, Inc., 1975, 611 p.
16. Forfar, J. O. Normal and abnormal calcium, phosphorus and magnesium metabolism in the perinatal period. **Clin. Endocrinol. Metabol.**, **5**: 123-148, 1976.
17. Braithwaite, G. D., R. F. Glascock & S. H. Riazuddin. Calcium metabolism in pregnant ewes. **Brit. J. Nutr.**, **24**: 661-670, 1970.
18. López, F. A. **Repercussões da Desnutrição da Gestante no Comportamento das Proteínas Plasmáticas e do Cálcio, Fósforo e Magnésio Plasmático e Ósseo. Estudo em Ratos Recém-nascidos, Jovens e Adultos.** Tese de Livre Docencia, Faculdade de Medicina de Botucatu, SP, Brasil, 1980.
19. Duncan, Garfield G. **Diseases of Metabolism**. Bondy-Rosemberg (Ed.). Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1974, p. 1229.
20. Lopez, F. A. & F. J. Nóbrega. Comportamento do magnésio plasmático e tecidual na desnutrição protéico-calórica experimental. **J. Pediat.**, **44**: 83-88. 1978.