

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
FACULTAD DE CIENCIAS, SECCIÓN DE BIOLÓGICAS



TESIS DOCTORAL

**Mecanismo de transporte, niveles de hierro plasmático y
correlaciones con la puesta, en el tránsito de gallinas
inmaduras a maduras**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

María de los Ángeles López-Berges Nuño

Madrid, 2015



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5320929656

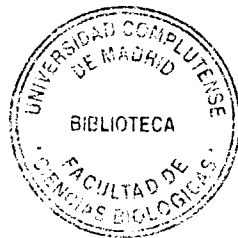
T5911
LOP
mec

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA - FACULTAD DE CIENCIAS

Sección de Biológicas - Departamento de Fisiología Animal



MECANISMO DE TRANSPORTE, NIVELES DE HIERRO
PLASMÁTICO Y CORRELACIONES CON LA PUESTA, EN
EL TRANSITO DE GALLINAS INMADURAS A MADURAS



Ma. de los Angeles López-Berges Nuño

R 37077

1977

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA = FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION DE BIOLOGICAS
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA ANIMAL

MECANISMO DE TRANSPORTE, NIVELES DE HIERRO
PLASMATICO Y CORRELACIONES CON LA PUESTA,
EN EL TRANSITO DE GALLINAS INMADURAS A MA-
DURAS.

Tesis Doctoral realizada por
M^a de los ANGELES LOPEZ-BERGES NUÑO
dirigida por el Profesor Dr. D. JOSE MARIA
RECIO PASCUAL.

1977

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo ha sido realizado bajo la dirección del Prof. Dr. D. José María Recio Pascual a quien deseo expresar mi gratitud por su ayuda y dedicación.

Deseo también expresar mi agradecimiento al Prof. Dr. D. José Antonio Cabezas Fernández del Campo por haber aceptado, amablemente, ser ponente de este trabajo.

Asimismo agradezco a todos mis compañeros de departamento, la ayuda prestada durante la realización de este trabajo, y, en especial, a la Srta. Cortés Encinas sin cuya ayuda no hubiera sido posible realizar parte del mismo.

Agradezco, de igual modo, a los Departamentos de Fisiología Vegetal y Microbiología de esta Facultad, toda la ayuda material, así como sus orientaciones.

Finalmente expreso mi agradecimiento por su colaboración constante y desinteresada a la Granja "Montserrat", en la persona de D. Jacinto González y a la granja "Híbridos Americanos", en la de D. Santiago Queipo de Llano.

INDICES

INDICE GENERAL

	<u>Págs</u>
I. INDICES	
1. Indice de tablas	
2. Indice de figuras	
II. INTRODUCCION. ANTECEDENTES ,	21
III. OBJETIVO DEL TRABAJO	37
IV. MATERIAL Y METODOS	41
1. Animales para experimentación	42
2. Mantenimiento, conservación y controles de puesta	43
3. Extracción de muestras	46
3.1. Materiales utilizados	46
3.2. Toma de muestras	47
4. Estrogenización	49
5. Técnicas ensayadas para la determinación de la sideremia	51
5.1. Técnica de absorción atómica	51

	<u>Págs.</u>
5.2. Técnica de RAMSAY (43)	53
5.3. Determinación de hierro con batofe nantrolina. Método de Triender, es tandarizado por Boerhinger Manm - heim S.A. ,	54
5.4. Determinación de hierro con Batofe nantrolina (Método del I.S.C.H.) .	55
5.5. Elección de la técnica para la deter minación de hierro	57
6. Técnica de determinación de la TIBC. Mé- todo de RAMSAY (44)	59
7. Tratamiento de los sueros con CO_3Mg y pos terior determinación de la sideremia. Méto- do de PLANAS y col. (38) adaptado por ALI y RAMSAY (2)	61
8. Técnica de determinación de cobre con Bato cupreña disulfonato. Método de ZAS estan- darizado por Boeringer Mannheim S.A. . . .	63
9. Técnica de determinación de fósforo.	65
10. Separación de proteínas con Sephadex G-200 normal.	71
11. Marcaje radioactivo "in vitro"	74
12. Determinación del hematocrito	77
13. Renovación del hierro plasmático, "Turnover".	78
14. Determinación directa de la cantidad de hierro contenido en las fracciones de fosfoproteína y transferrina.	82

	<u>Págs.</u>
V. RESULTADOS	84
1. Evolución de la sideremia, cupremia y TIBC	85
1,1 En gallinas en puesta y en no puesta	92
1.2 En gallos estrogenizados, antes de la primera inyección y a las 72-horas de la misma	94
1.3 Durante el paso de pollitas inmaduras a gallinas maduras.	97
1.4 En gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos.	112
2. Correlaciones entre el porcentaje de puesta, sideremia, TIBC y cupremia.	121
3. Mecanismo de transporte del hierro sérico(2º transportador).	129
3.1. Durante el paso de gallinas inmaduras a gallinas maduras.	129
3.1.1. Valoración de la sideremia, sideremia-CO ₃ Mg, TIBC y fósforo de la fosfoproteína.	139
3.1.2. Fraccionamiento proteico de los sueros marcados con Fe-59, en columnas de Sephadex G-200.	154
3.1.3. Determinación directa del hierro en las fracciones de transferrina y fosfoproteína.	160

	<u>Págs.</u>
3.2.1. Valoración de la sideremia, sideremia-CO ₃ Mg, TIBC y fósforo de la fosfoproteína	162
3.2.2. Fraccionamiento proteico de los sueros marcados con Fe-59, en columnas de Sephadex G-200	171
3.2.3. Determinación directa del hierro en las fracciones de transferrina y fosfoproteína	179
4. Correlaciones entre el porcentaje de puesta, sideremia, sideremia-CO ₃ Mg, sideremia (sideremia-CO ₃ Mg) y fósforo de la fosfoproteína . . .	181
5. Renovación del hierro plasmático, "Turnover".	192
5.1. En gallinas, en su paso de pollitas inmaduras a gallinas maduras	196
5.2. En gallos estrogenizados, desde las 0-horas a las 168-horas después de la primera inyección de estrógenos	206
VI. DISCUSION	216
VII. CONCLUSIONES	225
VIII. BIBLIOGRAFIA	230
1. Bibliografía citada en el texto	231
2. Bibliografía consultada	239

INDICE DE TABLAS

	<u>Págs.</u>
1. EVOLUCION DE LA SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC.	
1.1. En gallinas en puesta y no en puesta.	
TABLA Nº II	93
1.2. En gallos estrogenizados, a las 0-horas y a las 72-ho- ras de la primera inyección de estrógenos	
TABLA Nº III	95
1.1 y 1.2. TABLA Nº IV	96
1.3. Durante el paso de pollitas inmaduras a gallinas maduras:	
TABLA Nº V	98
TABLA Nº VI	99
TABLA Nº VII	100
TABLA Nº VIII	101
TABLA Nº IX	102
TABLA Nº X	103
TABLA Nº XI	104
TABLA Nº XII	105
TABLA Nº XIII	106
TABLA Nº XIV	107
TABLA Nº XV	108
TABLA Nº XVI	109

TABLA Nº XVII	110
1.4. En gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos.	
TABLA Nº XVIII	113
TABLA Nº XIX	114
TABLA Nº XX	115
TABLA Nº XXI	116
TABLA Nº XXII	117
TABLA Nº XXIII	118
TABLA Nº XXIV	119
2. CORRELACIONES ENTRE EL PORCENTAJE DE PUESTA , SIDEREMIA, TIBC Y CUPREMIA.	
TABLA Nº XXV	123
TABLA Nº XXVI	124
TABLA Nº XXVII	125
TABLA Nº XXVIII	126
TABLA Nº XXIX	127
TABLA Nº XXX	128
3. MECANISMO DEL TRANSPORTE DEL HIERRO (2º TRANS - PORTADOR).	
3.1. Durante el paso de gallinas inmaduras a gallinas maduras	
3.1.1. Valoración de la sideremia, sideremia-CO ₃ Mg, TIBC y fósforo de la fosfoproteína.	

	<u>Págs.</u>
TABLA Nº XXXI	140
TABLA Nº XXXII.....	141
TABLA Nº XXXIII	142
TABLA Nº XXXIV	143
TABLA Nº XXXV	144
TABLA Nº XXXVI	145
TABLA Nº XXXVII	146
TABLA Nº XXXVIII	147
TABLA Nº XXXIX	148
TABLA Nº XL	149
TABLA Nº XLI	150
TABLA Nº XLII	151
TABLA Nº XLIII	152
3. 1.3. Determinación directa del hierro en las fraccio <u>n</u> nes de fosfoproteína y transferrina.....	
TABLA Nº XLIV	161
3.2. En gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos.	
3.2.1. Valoración de la sideremia, sideremia-CO ₃ Mg, TIBC y fósforo de la fosfoproteína.	
TABLA Nº XLV	163
TABLA Nº XLVI	164

	<u>Págs.</u>
TABLA Nº XLVII	165
TABLA Nº XLVIII	166
TABLA Nº XLIX	167
TABLA Nº L	168
TABLA Nº LI.....	169
 3.2.3. Determinación directa del hierro en las fracciones de fosfoproteína y transferrina.	
TABLA Nº LII	180
 4. CORRELACIONES ENTRE PORCENTAJES DE PUESTA, SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO ₃ Mg, SIDEREMIA-(SIDEREMIA-CO ₃ Mg) Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA.	
TABLA Nº LIII	183
TABLA Nº LIV	184
TABLA Nº LV	185
TABLA Nº LVI	186
TABLA Nº LVII	187
TABLA Nº LVIII	188
TABLA Nº LVIX	189
TABLA Nº LX	190
TABLA Nº LXI	191
 5. RENOVACION DEL HIERRO PLASMATICO "TURNOVER"	
5. 1. En gallinas, en su paso de pollitas inmaduras a gallinas maduras.	

	<u>Págs.</u>
TABLA Nº LXII	197
TABLA Nº LXIII	198
TABLA Nº LXIV	199
TABLA Nº LXV	200
TABLA Nº LXVI	201
TABLA Nº LXVII	202
TABLA Nº LXVIII	203

5.2. En gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos.

TABLA Nº LXIX	207
TABLA Nº LXX	208
TABLA Nº LXXI	209
TABLA Nº LXXII	210
TABLA Nº LXXIII	211
TABLA Nº LXXIV	212
TABLA Nº LXXV	213

INDICE DE FIGURAS

Págs.

1. EVOLUCION DE LA SIDEREMIA. CUPREMIA Y TIBC.

1.3. Durante el paso de pollitas inmaduras a gallinas maduras.

FIGURA Nº 1 111

1.4. En gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos.

FIGURA Nº 2 120

3. MECANISMO DEL TRANSPORTE DEL HIERRO SERICO (2º TRANSPORTADOR).

3.1. Durante el paso de gallinas inmaduras (0% de puesta) a gallinas maduras.

3.1.1. Valoración de la sideremia, sideremia-CO₃-Mg, TIBC y fósforo de la fosfoproteína (PP).

	<u>Págs.</u>
FIGURA Nº 3.....	153
3.1.2. Fraccionamiento de los sueros marcados con Fe-59, en columnas de Sephadex G-200.	
FIGURA Nº 4	155
FIGURA Nº 5	156
FIGURA Nº 6	157
FIGURA Nº 7	158
FIGURA Nº 8	159
3.2. En gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos.	
3.2.1. Valoración de la sideremia, sideremia-CO ₃ Mg , TIBC y fósforo de la fosfoproteína.	
FIGURA Nº 9	170
3.2.2. Fraccionamiento de los sueros marcados con Fe-59, en columnas de Sephadex G-200.	
FIGURA Nº 10	172
FIGURA Nº 11	173
FIGURA Nº 12	174
FIGURA Nº 13	175
FIGURA Nº 14	176

	<u>Págs.</u>
FIGURA Nº 15	177
FIGURA Nº 16	178
 5. RENOVACION DEL HIERRO PLASMATICO "TURNOVER"	
5.1. En gallinas, en su paso de pollitas inmaduras a galli- nas maduras.	
FIGURA Nº 17	204
FIGURA Nº 18	205
 5.2. En gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos.	
FIGURA Nº 19	214
FIGURA Nº 20	215

II.- INTRODUCCION. ANTECEDENTES

Los primeros trabajos que aparecen en la literatura, sobre el hierro en las aves corresponden a WARBURG y KREBS (54). Hacen referencia a la sideremia en algunas aves (palomo, gallina y pato), y están encuadrados dentro de un estudio comparativo de las sideremias de distintos animales. Posteriormente, COOK y HARMON (8), MAUGHAN (31) y HARMON (16) realizan trabajos sobre el hierro hemoglobínico en aves en puesta y en no puesta, y sobre su relación con la producción de huevos; encontrando que la cantidad de hemoglobina en la sangre de las aves es mayor durante la puesta. Sus conclusiones estaban en total desacuerdo con los de DUKES y SCHWARTE (10) y WINTER (59).

Estos resultados, junto con los de WIDDAWSON y Mc.CANCE (56) que observaron que en las aves domésticas (al igual que en los mamíferos) el hígado de las hembras contenía, des-

de algunas semanas antes del comienzo de la puesta, más hierro que el de los machos, sugirieron a RAMSAY y CAMPBELL (45) una nueva investigación sobre la relación entre la hemoglobina, la producción de huevos y el hierro plasmático en aves en puesta y en no puesta. Hallaron que, en efecto, la cantidad de hemoglobina es menor en la sangre de las hembras en puesta, y atribuyeron este descenso a alguna posible intervención endocrina dependiendo de la demanda de hierro, necesario para la formación de los huevos. En lo referente a las posibles relaciones del hierro plasmático o sérico con la producción y con la demanda del hierro por los huevos, sólo pudieron relacionar la cantidad de hierro plasmático con la del hierro en los huevos; encontrándose que los valores de éste estaban directamente relacionados con el hierro plasmático.

También se comprobó que el hierro plasmático sufre grandes variaciones, oscilando sus sideremias entre 100-250 $\mu\text{gFe}\%$, para las gallinas en no puesta o inmaduras, y 500-900 $\mu\text{gFe}\%$ para gallinas en puesta. Este hecho es la base de una serie de trabajos que pretenden estudiar el fenómeno de la puesta, y su relación con la exaltación del metabolismo del hierro ocasionada al tener la hembra que soportar una eliminación de hierro, aproximadamente de 0,5 mg/día destinado a la formación de los huevos RAMSAY y CAMPBELL(45),

HALKETT, PETERS y ROSS (15).

Como es sabido desde los trabajos de LAUREL (24), el hierro en el suero se encuentra unido a una fracción proteica de la β 1-globulinas, denominada siderofilina o transferrina, aislada por SURGENOR, KOEHLIN y STRONG (52).

La transferrina es una glicoproteína sintetizada en el hígado, de peso molecular que oscila, según autores, entre 68.000 y 93.000. La proteína pura es incolora y puede unirse hasta con dos átomos de hierro, por molécula de proteína dando un complejo, Fe(III)-Transferrina, de color rojo salmón. La transferrina representa la fracción más importante de las β 1-globulinas: en valores absolutos oscila entre 0,2-0,32 gr/100, LAURELL(25). Generalmente se expresa como la cantidad máxima de hierro que es capaz de fijar, y oscila entre 250-400 $\mu\text{gFe}\%$; y representa lo que se llama TIBC o CTF (Capacidad total de fijación del hierro). Aunque cada gramo de transferrina puede fijar 1,25 mgs. de hierro, en condiciones normales solamente 1/3 está utilizada; el resto está libre y en condiciones de poderse combinar, y representa lo que se llama UIBC o CLF (capacidad latente de fijación del hierro) que se calcula restando de la TIBC, la sideremia.

La cantidad de hierro plasmático o sérico(sidere -

mia), así como la capacidad total de fijación del hierro (TIBC) son un índice del estado del metabolismo del hierro.

PLANAS y CASTRO (38) llevaron a cabo un trabajo en el que ponen de manifiesto los valores de la sideremia para gallinas en puesta y en no puesta, y la relación de dichas sideremias con la capacidad de fijación del hierro (TIBC). Encontraron para las hembras en puesta, valores de sideremia de 500 $\mu\text{gFe}\%$ y 129 $\mu\text{gFe}\%$ para las que no estaban en puesta; que son similares a los hallados por RAMSAY y CAMPBELL (45). Los valores que dieron para la TIBC son 262 $\mu\text{gFe}\%$, para las gallinas en puesta, y 272 $\mu\text{gFe}\%$ para las de no puesta. Al tratar de relacionar las sideremias con las TIBC encontraron que, en las gallinas en puesta, los valores de sideremia sobrepasan los de la TIBC; superando, por ello, la capacidad transportadora de la transferrina.

Este hecho no encaja con la pauta general en la que la TIBC sería, de 1,5 a 2 veces, superior a la sideremia, como queda claro en las gallinas en no puesta. Al no ocurrir lo mismo en gallinas en puesta, aparecen valores de TIBC negativos, y, con ello, un coeficiente de saturación de la transferrina superior al 100 por 100.

Las variaciones del hierro sérico, que acompañan al fenómeno de la puesta en gallinas, llevó a comprobar si esto ocurriría también en otras especies de aves, como por ejemplo, ganso, pato y palomo.

PLANAS Y RECIO (40) estudiaron estas variaciones en el pato Ana platyrhynca y en el ganso Anser anser, hallando unos valores medios de sideremia, para patas en no puesta de $137 \mu\text{gFe}\%$, y una TIBC de $472 \mu\text{gFe}\%$; que proporcionan una UIBC positiva. Para las patas en puesta, hallan una sideremia de $1065 \mu\text{gFe}$ y una TIBC de $504 \mu\text{gFe}\%$ que representan una UIBC negativa, y, con ello, un coeficiente de utilización de la transferrina superior al 200 por 100. Para gansos obtienen los valores siguientes: para la oca en no puesta, una sideremia de $160 \mu\text{gFe}\%$, con una TIBC de $561 \mu\text{gFe}\%$ -lo que implica también una UIBC positiva-, y, para la oca en puesta, la sideremia asciende a $1260 \mu\text{gFe}\%$, con una TIBC de $705 \mu\text{gFe}\%$ -que representa también una UIBC negativa y un coeficiente de utilización superior al 100 por 100-, PLANAS y COCHO (40) llevaron a cabo el estudio en palomas, hallando los siguientes valores: para las palomas en no puesta, sideremias de $189 \mu\text{gFe}\%$, con TIBC de $272 \mu\text{gFe}\%$, y para las palomas en puesta, sideremias de $260 \mu\text{gFe}\%$, con TIBC de $299 \mu\text{gFe}\%$ (Tabla nº I).

T A B L A Nº I

VALORES MEDIOS Y DESVIACION STANDARD DE LA SIDEREMIA Y DE LA CAPACIDAD TOTAL DE FIJACION DEL HIERRO (TIBC), EN DIVERSAS AVES.

Especies	Sideremia µgFe%	TIBC µgFe%	Referencia
Gallina	♂	102 ± 22,4	PLANAS Y CASTRO (1960)
	♀	129 ± 10,4	
	♀	500 ± 42,4	
Pato	♂	159 ± 110,2	PLANAS Y RECIO (1960)
	♀	132 ± 40,5	
	♀	1062 ± 286,6	
Ganso	♂	163 ± 38,7	PLANAS Y RECIO (1960)
	♀ N.P.	160 ± 23,1	
	♀ P.	1260 ± --	
Paloma	♂	254 ± 53,0	PLANAS Y COCHO (1960)
	♀ N.P.	189 ± 11,0	
	♀ P.	260 ± 24,0	

N.P. = no puesta; P. = puesta.

A la vista de estos resultados, se puede decir que las variaciones del hierro sérico, que acompañan al fenómeno de la puesta en las gallinas, no son específicas de ellas, sino que se pueden hacer extensivas a otras especies de aves; haciéndose estas variaciones más acusadas en el caso de patos y gansos y casi imperceptibles en el caso de las palomas. La explicación lógica de que en las palomas sean los valores tan bajos, se atribuye a la puesta, tan escasa que se reduce a dos huevos cada vez, y sólo ocho veces al año; y, si, como hemos indicado anteriormente, las variaciones en el metabolismo del hierro, que se traducen en un aumento de la sideremia, tienen como fin el satisfacer la demanda de hierro por los huevos, entonces los resultados obtenidos tienen explicación.

Simultáneamente, se hallaron estos valores de sideremia, TIBC y UIBC para los machos, viéndose que no existen diferencias significativas con los de las hembras en reposo sexual (no puesta), y obteniéndose para los palomos los valores más altos de sideremia (siendo ésta poco menor que para las palomas en puesta y bastante superior a la de las palomas en no puesta).

Con esta primera observación de que la sideremia de las aves aumenta considerablemente con el fenómeno de la puesta y

llega a sobrepasar la capacidad transportadora de la proteína (transferrina), podría pensarse que había un aumento en el contenido de la proteína transportadora. Pero la determinación de la TIBC, que es un índice cuantitativo del contenido de transferrina, nos indica que la diferencia entre éstas no es estadísticamente significativa PLANAS Y CASTRO (38) y PLANAS Y RECIO (41).

Trabajos realizados por MARTIN MATEO, SEBASTIAN Y PLANAS (29) PLANAS y de CASTRO (40) con Fe-59 "in vivo" e "in vitro", referentes al transporte del hierro sérico en las aves, demostraron que, "in vivo", la radioactividad se fija selectivamente a nivel de las β 1-globulinas con independencia del grado de saturación de la transferrina, y que, "in vitro", las cargas crecientes de Fe-59 muestran compartimentos distintos, desplazándose la radioactividad hacia las α -globulinas aunque la mayor parte de éstas sigan estando a nivel de las β -globulinas. Esto demuestra que al menos "in vitro", existen otras proteínas capaces de cargarse de hierro.

PLANAS y de CASTRO (38), basándose en la técnica de RAMSAY (44) para la determinación de TIBC-que consiste en adicionar al suero un exceso de hierro (con lo que se satura total -

mente la transferrina), y separar el hierro sobrante con CO_3Mg en polvo-, suponen que, quizás, tratando los sueros con CO_3Mg según el método de RAMSAY (44), se podría obtener una disminución de los valores de la sideremia. PLANAS y de CASTRO (38) PLANAS y RECIO (41), llevaron a cabo un estudio que verificase esta hipótesis, y hallaron, efectivamente, que las sideremias de las aves (gallina, pato y ganso) en puesta desciende después de ser tratados los sueros con CO_3Mg , obteniéndose valores, incluso, más bajos que los de TIBC; estos resultados no se consiguieron cuando se trataron sueros de machos o de hembras en reposo sexual; en los cuales los valores eran prácticamente los mismos que sin tratar con CO_3Mg . Esto demuestra que la proteína sólo transporta un 40%, en gallinas, y un 50%, en patos y gansos, del hierro circulante. El tanto por ciento restante deberá estar unido a la propia transferrina por un mecanismo distinto, o bien deberá intervenir en el transporte otra fracción proteica que permita completar el transporte del hierro.

SHADE y CAROLINE (50), ALDERTON y col. (3) hallaron que la proteína conalbúmina tiene propiedades quelantes, y FULLER y BRIGGS (13) y WARNER y WEBER (55) describen una serie de propiedades de la conalbúmina que permiten establecer un pa

ralelismo entre ésta y la transferrina: BAIN y DUTSCH (5), BARBER y SHEELER (7), SCHULTZ, HEIDE y MULLER (49), WARNER y WEBER (55) muestran las analogías que existen entre las propiedades físicas y químicas de estas dos proteínas. KAMINSKI y DURIEUX (20) consideran a ambas proteínas como β -globulinas lentas, muy próximas entre sí. WILLIAMS (58) lleva a cabo un extremo análisis comparativo de estas dos proteínas del suero de la gallina, y sus resultados indican claramente la identidad de la fracción proteica de ambas glucoproteínas; lo que justifica su estrecho parentesco.

Basándose en estos datos, y en el trabajo de MARSHALL y DEUTSCH (26) que atribuyen a la proteína conalbúmina propiedades transportadoras de hierro, aunque no consideren la colaboración entre ésta y la transferrina, RODRIGUEZ y PLANAS (47) pensaron que la conalbúmina podía ser la fracción proteica que transportara el hierro excedente de la capacidad de transporte de la transferrina. MARTIN MATEO y PLANAS (28) comprobaron que añadiendo hierro a soluciones de conalbúmina y tratando éstas con CO_3Mg , éste es capaz de absorber todo el hierro que se encuentra en forma de conalbúmina-hierro; hallaron también que el contenido

de conalbúmina en el suero varía con el sexo y la edad; siendo superior en las hembras que en los machos, y en las hembras, a igual edad, es siempre superior en las que están en época de puesta. Parece, pues, claro que existe una correlación entre conalbúmina sérica, sexo y el fenómeno de la puesta. El aumento de conalbúmina sérica determina un aumento de la capacidad de transporte total que es suficiente para transportar el hierro excedente de la capacidad de la transferrina.

A la vista de las anteriores investigaciones, se puede decir:

- a. Que la transferrina fija fuertemente al hierro, y que su capacidad de fijación está saturada en las aves en puesta.
- b. Que existe una segunda fracción, la conalbúmina, que también fija el hierro, y que su concentración varía según las necesidades.
- c. Que el hierro que transporta la conalbúmina está unido más labilmente; por lo que fácilmente puede ser absorbido por el CO_3Mg en polvo.

A pesar de que los datos, que se tienen sobre la conalbúmina, inducen, en principio, a considerarla como el segundo transportador del hierro excedente de la capacidad de transporte de la transferrina, esta hipótesis no termina de satisfacer. El principal motivo que obliga a pensar que, quizás, sea otra la proteína transportadora, es que la gran semejanza que existe entre estas dos proteínas implicaría que las dos habrían de transportar el hierro de igual forma; cosa que no parece suceder, pues la transferrina lleva el hierro ligado más fuertemente, y un tratamiento del suero con CO_3^- Mg no es capaz de arrastrar el hierro ligado a la conalbúmina. Es por ello que se hicieron necesarias nuevas investigaciones.

Toda la atención se dirigió entonces hacia una nueva proteína, una fosfoproteína de la yema de huevo, que, según TABORSKY (53), también es capaz de acomplejar el hierro. Esta fosfoproteína se encuentra en el plasma de las gallinas en puesta, pero está ausente en el plasma de las gallinas en no puesta, LASKOWSKI (21), LASKOWSKI (22) y ROEPKE y HUGHES (48), y parece idéntica a la fosvitina de la yema de huevo. GRENGARD, MENDLSOHN y GORDON (14), observan que la administración de estrógenos a pollitas inmaduras, y a gallos, produce un gran incremento del hierro del

plasma, así como otros muchos fenómenos bioquímicos característicos de las gallinas en puesta; entre éstos está la aparición de ésta fosfoproteína en el plasma.

La seguridad de que esta fosfoproteína es la fosvitina, se tiene cuando HEALD y MACLACHLAN (17) consiguen aislarla del plasma de las gallinas en puesta.

GREENGARD y col. (14) son los primeros en pensar en la fosvitina como segundo transportador del hierro mientras permanece en el plasma, antes de ser transferida al ovario para la formación del huevo. La evidencia de este segundo transportador se tiene cuando ALI y RAMSAY (1), con técnicas de fraccionamiento proteico con Sephadex G-200 y DEAE-celulosa, separan el hierro en dos fracciones: una de las cuales emigra con la transferrina, y otra, con la fosfoproteína; esto demuestra que el hierro no-transferrínico (hierro no unido a la transferrina) está asociado con la fosfoproteína y no con las glicoproteínas (a las que pertenece la conalbumina). En 1974, estos mismos autores (2), utilizando las técnicas anteriormente citadas, y combinándolas con el marcaje radiactivo con $^{59}\text{Fe-}^{59}\text{FeCl}_3$, con el tratamiento de los sueros con CO_3Mg y con la valoración del fósforo, confirmaron la hipótesis de que la fosfo -

proteína fosvitina es el segundo transportador del hierro excedente de la capacidad de transporte de la transferrina; y hallaron una correlación entre el hierro no-transferrínico y el fósforo, y una relación precursor-producto, en la que el hierro transferrínico parece ser el precursor de la fosfoproteína sérica. El tratamiento de los sueros con CO_3Mg separó el hierro en dos componentes: uno llamado transferrínico (el ligado a la transferrina), y otro, no-transferrínico (el que parece estar ligado a la fosvitina) que se obtiene por diferencia entre el hierro del suero no tratado con CO_3Mg (que repre - senta la sideremia total) y el hierro del suero tratado con CO_3Mg (que representa el hierro ligado a la transferrina).

Basándonos en estos datos que poseemos, podemos decir:

1. Que la sideremia sufre un considerable aumento cuando las aves están en época de puesta.
2. Que este aumento es tan grande que supera la capacidad de transporte de la transferrina.
3. Que es necesario un segundo transportador que lleve este exceso de hierro.

4. Que este hierro se une a este segundo transportador de una forma más débil que como lo hace con la transferrina, ya que el CO_3Mg puede eliminarlo.

5. Que este segundo transportador, que lleva el excedente de hierro, parece ser una fosfoproteína denominada fosvitina.

III.- OBJETIVO DEL TRABAJO

Dado el desarrollo de la industria avícola en esta región, nos decidimos a iniciar este trabajo sobre gallinas; y seleccionamos las instalaciones más cercanas a la capital o aquellas cuyo manejo nos ofrecía más garantía.

Estas instalaciones comerciales de cría, recría y puesta, fueron: "Granja Monserrat", "Granja de Vega de Tirados" y "Granja de Villamayor" (las dos últimas, colaboradoras de "Híbridos Americanos de Valladolid").

En primer lugar, nos proponíamos estudiar las variaciones del hierro en suero, motivadas por la puesta en situaciones extremas de puesta y no-puesta. Asimismo los cambios graduales que sufría la sideremia en los diferentes estadios desde gallinas inmaduras a plena producción; continuando la experiencia durante un

período largo para ver cómo los niveles de hierro han de volver a los valores iniciales a medida que el organismo del ave va envejeciendo.

Con objeto de comprobar que estas variaciones del hierro en suero son motivadas por la acción estrogénica del ovario, pensamos sería interesante, durante los períodos de espera, impresionables en el anterior estudio de las variaciones fisiológicas realizar ensayos en gallos estrogenizados.

Otro problema que pretendíamos abordar es contribuir al esclarecimiento del mecanismo de transporte del hierro a través de la sangre, teniendo presente que, en las gallinas en puesta, la sideremia rebasa la capacidad de transporte de la transferrina; por lo que ha venido proponiéndose un segundo transportador.

Nos proponíamos estudiar la forma de comportarse ese segundo transportador y su relación con la transferrina durante el paso de gallinas inmaduras a maduras, en puesta. Es decir, sabemos, por la bibliografía, que el segundo transportador es una fosfoproteína, pero se desconoce si compite, desde el primer momento en que aparece la fosfoproteína en sangre, con la transferrina en el

transporte, ó, por lo contrario, y por un efecto de rebosamiento, la fosfoproteína inicia su función de transporte al quedar saturada totalmente la transferrina.

Finalmente hemos estudiado los cambios en la renovación del hierro en sangre, "Turnover", durante el período de paso de gallinas inmaduras a maduras.

- - -

MATERIAL Y METODO

1. ANIMALES PARA EXPERIMENTACION

Para realizar nuestro trabajo, fueron utilizadas aves del género Gallus domesticus (L), machos y hembras dobles híbridos comerciales. Las aves macho, de la raza WHITE ROCK-CORNIS, procedían de la granja avícola "Monserrat", y las hembras, de la raza DOBLES HIBRIDOS H-5, procedentes de la granja "Híbridos Americanos de Valladolid".

2. MANTENIMIENTO, CONSERVACION Y CONTROLES DE PUESTA

Los lotes de gallos fueron trasladados desde la granja a nuestro laboratorio, donde eran colocados en baterías metálicas comerciales que constaban de 20 cubículos; en cada uno de ellos se colocaba un gallo. Disponían de comedero y bebedero, y tanto el pienso como el agua eran renovados diariamente.

En el caso de las aves hembras nos trasladábamos a las propias granjas; donde las condiciones eran óptimas, ya que se trataba de hembras próximas a la puesta, y que pretendíamos que desencadenasen ésta y llegasen a sus porcentajes más altos.

Las hembras procedían de dos granjas diferentes.

La situada en el término municipal de Vega de Tirados, a 25 km. de Salamanca, contaba con cuatro naves; al azar, elegimos una en la que había 6.000 aves instaladas en baterías comerciales semejantes a las nuestras, pero en cada cubículo, ellos, colocaban cuatro aves, se separaron y señalaron debidamente cinco cubículos, con lo que disponíamos en total de 20 gallinas. Con el suero de estos ejemplares estudiamos las variaciones de hierro sérico (sideremia), TIBC, variaciones de cobre sérico (cupremia), concentraciones de fósforo y valores del hierro sérico en sueros tratados con CO_3Mg , que tenían lugar en el desencadenamiento de la puesta.

La segunda granja que se encontraba en el término municipal de Villamayor, a 5 km. de Salamanca, disponía de una sola nave con 12.000 aves colocadas también en baterías comerciales y distribuidas en cuatro por cubículo. Con las muestras obtenidas, realizamos el "Turnover" del hierro plasmático en relación con el desencadenamiento de la puesta.

La noche antes de llevarse a cabo la extracción de sangre, se les retiraba el pienso, colocando unos paneles de cartón sobre el comedero, para evitar así un exceso de grasa en el suero y facilitar su manejo y conservación cuando fuese necesario.

El control de la puesta fue seguido por dos métodos: el primero consistía en llevar un control de los cubículos seleccionados por nosotros, de modo que se controlaban cuatro gallinas con - juntamente, y el otro era un control general de toda la nave por medio de los estadillos diarios que se utilizaban en la granja.

3. EXTRACCION DE LAS MUESTRAS

3.1. MATERIALES UTILIZADOS

3.1.1. Agujas

3.1.1.1. De calibre 25-7, bisel largo, para extracción de sangre.

3.1.1.2. De calibre 25-6, bisel corto, para inyección de estrógenos.

3.1.2. Jeringuillas

Eran de plástico con capacidad entre 5-10 ml. según las necesidades.

3.1.3. Anticoagulante

El trabajo se realizó sobre suero y se utilizó como anticoagulante. Heparina de la casa LEO, en frascos de 5 ml. al 1%.

3.2. TOMA DE MUESTRAS

Una vez heparinizadas las jeringuillas, se desplazaba la parte inferior del ala del ave, quedando al descubierto la vena alar, y se introducía la aguja, subcutáneamente, en un lateral de la vena; desde donde se deslizaba hasta el interior de la misma, y se tomaba la sangre necesaria. Antes de sacar la aguja, se presionaba con el dedo en la región inmediatamente anterior al punto de incisión. Se retiraba la aguja cuidadosamente para no dañar la vena, manteniendo el dedo en esta posición unos minutos; con esto se conseguía que la vena no sangrase, y no se produjera el consiguiente hemetoma que nos hubiera impedido una nueva e inmediata extracción en los casos en que esto fuese necesario (como, por ejemplo, en las experiencias de "Turnover" que exigían hasta cinco tomas diarias).

Fueron probados otros métodos para extraer las muestras: tomas a corazón, tomas del ala cortando previamente la

piel, encanulación de la vena, punctura directamente en la vena, sin antes hacerlo subcutáneamente; pero ninguno de ellos nos dió tan buen resultado como el anteriormente descrito.

4. ESTROGENIZACION

Para que en un gallo se produzcan los cambios metabólicos que acontecen en las gallinas en puesta, es necesaria la administración de estrógenos; con ello se consiguen estos cambios de una forma experimental.

El estrógeno utilizado fue PROGYNON b-ol. fuerte, de la casa SCHERING, en cajas de cinco ampollas de un ml. que contenían, en solución oleosa, 5mg. = 50.00 UI de benzoato de estradiol.

Los estrógenos se inyectaban por vfa intramuscular, en dosis de una ampolla por 1000 gr. de peso, durante dos días seguidos; la respuesta se comenzaba a obtener al segundo día, se

hacía máxima al cuarto día, y descendía hasta los niveles de la normalidad, al octavo día de la primera inyección. Con lo cual, en una semana, era posible obtener una serie de valores de la misma naturaleza que los que se producen en el desencadenamiento, ascenso y progresivo descenso de la puesta.

- - -

5. TECNICAS ENSAYADAS PARA LA DETERMINACION DE LA SI- DEREMIA.

La sideremia, o concentración de hierro sérico , puede ser determinada por diversos métodos que consisten en liberar la proteína que transporta al hierro, generalmente, mediante un ácido, y, después, con un reactivo adecuado (α - α' dipiridilo, bato fenantrolina disulfonato...), formar un complejo coloreado que, en disolución, sigue la ley de Lamber-Beer (es decir, cuya absorción del color es directamente proporcional a la concentración del metal.

5.1. TECNICA DE ABSORCION ATOMICA

1 ml. de problema

1 ml. de CLH (Merck)

1 ml. de NO_3H (Merck).

Se colocan los matraces sobre un hornillo, con embudos en la boca, para provocar reflujo. Los embudos se retiran cuando la mezcla es totalmente transparente (unos 15 min.) y se deja evaporar a sequedad.

Preparación de la muestra para la medida

El residuo seco se disuelve en ClH al 4% y se coloca en un matraz aforado que se enrasa para completar 10 ml.

Patrones

Se prepara una batería de patrones partiendo de una solución madre de 3,00 μg de hierro en ClH 0,005 N.

Lectura

Las muestras y patrones son medidas en un aparato de absorción Atómica, Pye-Unicam, modelo S.P. 1900, perteneciente al departamento de Petrología.

5.2. TECNICA DE RAMSAY (1957) (43)

Reactivos

- sulfito sódico 0,1 M.
- 2,2' Dipiridilo 0,1% en ácido acético 3% (V/V)
- Cloroformo redestilado

Técnica

Se mezclan volúmenes iguales de suero o plasma, sulfito sódico y reactivo dipiridilo en un tubo de ensayo con cuello esmerilado.

La mezcla es calentada, en un baño, a ebullición durante 5 min. y después, enfriada. Se añade 1 ml. de cloroformo, y el tubo se tapa y agita violentamente durante 30 segundos. Se retira el tapón, y el tubo se centrifuga a 3.000 r.p.m. durante 5 min.- Si el sobrenadante no está absolutamente claro (implicaría una medida errónea en el espectrofotómetro), se repite la agitación y centrifugación. El líquido sobrenadante se retira a un tubo seco, y, a continuación, se mide la densidad óptica (D.O.) a 250 nm; frente a agua destilada, junto a un blanco y un patrón de 1000 μg Fe, en un espectrofotómetro.

Calculos

$$\frac{\text{D.O. del problema} - \text{D.O. del blanco}}{\text{D.O. del patrón} - \text{D.O. del blanco}} \times 100 = \mu\text{g Fe \% ml.}$$

5.3. DETERMINACION DEL HIERRO CON BATOFENANTRO FINA.

(Método de Triender, estandarizado por Boehringer
Mannheim S.A.)

Reactivos

- Patrón de hierro de 100 $\mu\text{g Fe \%}$ (Sol. 1)
- Cl H 1 N . (Sol. 2)
- Acido tricloroacético 1,23 M. (sol. 3)
- Batofenantrolina disulfonato 0,56 M, Tampón acetato 4,0 M. (pH= 4,6), $\text{S}_2\text{O}_5\text{Na}_2$ 0,1 M. y p-metil-aminofenol 16nM. (sol. 4).

Método de determinación

En tubos de ensayo, señalados como B, St, y Pr, (blanco, standard y problema), se añaden las soluciones, antes descritas, de la forma siguiente:

	Blanco	Standard	Problema
H ₂ O destilada	1,0 ml.	---	---
Solución 1	---	1,0 ml.	---
Solución 2	0,5 ml.	0,5 ml.	1,0 ml.
Suero	---	---	2,0 ml.

Mezclar y dejar 20 min. a la temperatura ambiente

Solución 3	0,5 ml.	0,5 ml.	1,0 ml.
------------	---------	---------	---------

Mezclar bien, y repartir el precipitado con varilla de vidrio; centrifugar a 3.000 r.p.m. durante 10 min. Separar el sobrenadante.

Sobrenadante	---	---	2,0 ml.
Solución 4	1,0 ml.	1,0 ml.	1,0 ml.

Mezclar bien, y leer las extinciones del problema y del standard ,
frente al blanco.

Cálculos

$$\frac{\text{D.O. Problema}}{\text{D.O. standard}} \times 100 = \mu\text{g Fe \% ml de suero}$$

5.4. DETERMINACION DEL HIERRO CON BATOFENANTROLINA.

(Método de International Committee for Standardi-

zation in Hematology) (19).

Reactivos

- Solución A. Solución acuosa conteniendo 100 gr. de ac. tricloroacético (redestilado) 30 ml. de ac. tioglicólítico y ac. clorhídrico (redestilado) 2N, por litro.
- Solución B. (Solución cromógena) Acetato de sodio (2mol/1) conteniendo 250 mg. de batofenatrolina sulfonato por litro.
- Solución c. Solución standard de hierro al 100 μ g por 100ml.

Técnica

En tubos de ensayo, señalados como B, St, y Pr, (blanco, standard y problema), se añaden las soluciones, antes descritas, de la forma siguiente:

	Blanco	Standard	Problema
Solución a	0,5 ml.	0,5 ml.	1,0 ml.
H ₂ O destilada	0,5 ml.	---	---
Standard de Fe	---	0,5 ml.	---
Suero	---	---	1,0 ml.

El tubo problema se agita enérgicamente durante 5 min., y se cen -

trifuga 15 min. a 3.000 r.p.m.

Sobrenadante	- - -	- - -	1,0 ml.
Solución b	1,0 ml.	1,0 ml.	1,0 ml.

Reposo durante 5 min. para que se estabilice el color; se efectua la lectura, frente a un blanco de agua bidestilada, a 535 nm.

Cálculos

$$\frac{\text{D.O. Problema} - \text{D.O. Blanco (reactivos)}}{\text{D. O. Standard} - \text{D.O. Blanco (reactivos)}} \times 100 = \mu\text{gFe\% ml. de suero}$$

5.5. ELECCION DE LA TECNICA PARA LA DETERMINACION DEL HIERRO.

Hemos realizado ensayos con todas las técnicas anteriormente descritas con objeto de adoptar la que ofreciera mejores resultados.

La técnica de RAMSAY (43) nos dió buenos resultados, pero tiene el inconveniente de que desarrolla poco color, y, en algunos casos, la lectura se tenía que realizar casi en los límites de sensibilidad del espectrofotómetro.

El método de TRIENDER, que utiliza batofenantrolina en vez de ortofenantrolina como cromógeno, desarrolla más color que el anterior, pero los valores oscilaban dentro de márgenes demasiado amplios cuando se trataban los mismos sueros.

La técnica propuesta por el I.C.S.H. (19) fue la que mejor se acomodaba a nuestras necesidades, pues: a) Daba buen color. b) Había escasas variaciones cuando se comprobaba el mismo suero repetidas veces. c) Se podía trabajar con él en escala micro; lo que facilitaba el trabajo en casos de escasas cantidades de suero, sin que por ello variaran los resultados.

Posteriormente se comenzó a utilizar en nuestro laboratorio una técnica de mayor sensibilidad que utiliza "Ferrozine" como cromógeno, y, operativamente, es semejante a la técnica del I.C.S.H. Sin embargo, preferimos no seguirla por no haber sido comprobada suficientes veces como para que los datos tuvieran la credibilidad de la anterior.

El espectrofotómetro utilizado ha sido un PYE UNICAM SP 600 UV.

6. TECNICA DE DETERMINACION DE LA TIBC.RAMSAY (44).

Al añadir al suero un exceso de hierro, se satura la proteína transferrina; la adición de CO_3Mg elimina el hierro no ligado a la transferrina; y sobre el restante se determina la sideremia.

Reactivos

- Cl_3Fe , conteniendo $5 \mu\text{gFe/ml}$. en $\text{Cl H N}/200$
- CO_3Mg , libre de hierro.

Técnica

A un volumen de suero se añaden dos volúmenes de solución de Cl_3Fe . Esto proporciona una adición de $1000 \mu\text{gFe}\%$ ml. de suero; la capacidad de saturación de la transferrina es aproxima

damente de 0-500 $\mu\text{gFe}\%$ ml. de suero.

Después de 5 min., se añaden 100 mg. de CO_3Mg por cada ml. de disolución de Cl_3Fe añadido al suero; se agita frecuentemente con varilla de vidrio (30-60 min. como máximo), seguidamente se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 5 min., se retira el sobrenadante, y, sobre él, se determina la sideremia por el método de la I.C.S.H., haciendo las veces de suero el sobrenadante anterior.

Cálculos

Los cálculos con los mismos que se hacen para la sideremia, pero los resultados obtenidos se multiplican por 3, por estar el suero diluido 3 veces.

$$\frac{\text{D.O. Probl.} - \text{D.O. Blanco (reac.)}}{\text{D.O. Stan.} - \text{D.O. Blanco (reac.)}} \times 100 \times 3 = \mu\text{gFe}\% \text{ ml.}$$

7. TRATAMIENTO DE LOS SUEROS CON CO_3Mg Y POSTERIOR
DETERMINACION DE LA SIDEREMIA.

(Método de PLANAS y col. (38) adaptado por ALI y RAMSAY (2)).

El fundamento de dicho método se basa en que, por medio de tratamiento de los sueros con CO_3Mg , se elimina del suero todo el hierro que no se encuentra ligado a la transferrina y sobre el sobrenadante se lleva a cabo una sideremia. Con este dato se calcula cuánto hierro tiene la transferrina, y, si se conoce la sideremia del suero sin tratar, por diferencia con la anterior tendríamos la cantidad de hierro que se encuentra unido a la otra proteína transportadora.

Reactivos

- H₂O, bidestilada
- CO₃Mg, libre de hierro

Técnica

Tres mililitros de agua bidestilada se mezclan con un mililitro de suero, se agita, y se deja en reposo durante 10 min; seguidamente se le añaden 200 mg. de CO₃Mg, y se agita intermitentemente por espacio de 30 min. con varilla de vidrio; se centrifuga 15 min. a 3000 r.p.m. se separa el sobrenadante, y éste se centrifuga de nuevo 15 min. a 3000 r.p.m. para eliminar las últimas trazas de CO₃Mg.

Sobre el sobrenadante se determina la sideremia por el método de I.C.S.H., haciendo el sobrenadante de suero.

Cálculos

Los mismos que para la sideremia, pero los resultados se multiplican por 4 (ya que el suero se ha diluido 4 veces).

$$\frac{\text{D.O. Prob.} - \text{D.O. Blanco (reac.)}}{\text{D.O. prob.} - \text{D.O. Blanco (reac.)}} \times 100 \times 4 = \mu\text{gFe\% ml.}$$

8. TECNICA DE DETERMINACION DEL COBRE CON BATOCUPREI-
NA DISULFONATO.

(Método de ZAS, standarizado por Boeheringer
Mannheim S.A.)

Tras la liberación del cobre combinado, se desproteiniza el suero con ácido tricloroacético.

El cobre con la batocupreína forma un complejo coloreado, cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de cobre.

Reactivos

- 200 µg de cobre /100 ml. (Sol. 1)
- ClH 1N. (Sol. 2)

- Acido tricloracético 1,23 M. (Sol. 3).
- Batocupreína disulfonato 0,53 mM. acetato 3,3M., $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 0,10M. y p-metilaminofenol 16mM (Sol. 4).

Técnica

En tubos de ensayo, señalados como B, St y Pr.

(Blanco, Standard y Problema), se añaden las soluciones, antes de scritas, de la forma siguiente:

	Blanco	Standard	Problema
Agua bidestilada	1,0 ml.	---	---
Solución 1	---	1,0 ml.	---
Solución 2	0,5 ml.	0,5 ml.	1,0 ml.
Suero	---	---	2,0 ml.

Se mezclan, y se dejan a la temperatura ambiente 20 min.

Solución 3. 0,5 ml. 0,5 ml. 1,00ml.

Se mezclan bien, repartiendo el precipitado, en el problema, con va
rilla de vidrio; se centrifuga a 3000 r.p.m. durante lo min.

Sobrenadante	---	---	1,0 ml.
Solución 4	1,0 ml.	1,0 ml.	1,0 ml.

Se mezclan bien, y se mide la D.O. del problema y del stand
ard frente al blanco.

Cálculos

$$\frac{\text{D.O. Problema}}{\text{D.O. Standard}} \times 200 = \mu\text{gCu\% ml.}$$

9. TECNICA DE DETERMINACION DE FOSFORO

Dicho método consiste en precipitar las proteínas del suero por medio del ácido perclórico. Como en este precipitado tenemos también las lipofosfoproteínas, nos interesa también separar los lípidos y las proteínas para dejar libre el fósforo y así poderlo valorar; los lípidos se eliminan por medio de una serie de lavados según la técnica de ALLEN (4). Una vez hecho esto tenemos un precipitado en el que se encuentran ya las fosfoproteínas sin lípidos, y, como sólo interesa el fósforo, se lleva a cabo hidrólisis con KOH para eliminar las proteínas según método de SCHMIDT y THANNHANSER (51). A continuación, con el sobrenadante obtenido se realiza una colorimetría según la técnica de DELORY (9); midiéndose la intensidad de color que ha de ser proporcional a la cantidad de fósforo.

Método experimental

1.- Precipitar 2 ml. de plasma con 1 ml. de ClO_4H 0,5 M., y agitar para que la mezcla sea homogénea. Comprobar el pH; de no estar por debajo de 5, añadir más perclorico. Centrifugar durante 10 min. a 3.000 r.p.m., decantar el sobrenadante y tirarlo.

2.- Actuar sobre el precipitado para eliminar lípidos y dejar libres las fosfoproteínas para lo cual es necesario:

a.- Añadir 1 ml. de una mezcla de etanol-éter (3:1v/v), agitar para conseguir homogeneidad e introducir el tubo de ensayo unos minutos en un baño María hirviente; a continuación centrifugar 10 min. a 3.000 r.p.m.; decantar el sobrenadante y tirarlo.

b.- Lavar el precipitado con 1 ml. de éter, agitar y centrifugar 10 min. a 3.000 r.p.m.; tirar el sobrenadante.

c.- Añadir al precipitado 1 ml. de una mezcla caliente de cloroformo-metanol (1:2 v/v); mezclar y centrifugar 10 min. a 3.000 r.p.m., y tirar el sobrenadante.

d.- Lavar el precipitado repetidas veces añadiendo 1 ml. de éter; mezclar y centrifugar. Eliminamos el sobrenadante, y sobre el precipitado repetimos la operación por lo menos tres

veces.

e) El precipitado que nos queda se deseca en un de
secador de vacío.

3.- En el desecado tenemos ahora las fosfoproteínas, y, como nos interesa dejar libre el fósforo, llevamos a cabo una hidrólisis, para eliminar las proteínas, de la forma siguiente:

a.- Añadir al precipitado, ya desecado, 2,5 ml. de KOH (0,1 M). Comprobar seguidamente el pH, que ha de ser supe
rior a 10, y, en caso contrario, añadir más KOH en porciones de 0,5 ml. Una vez alcanzado el pH, óptimo, tapar el tubo, y mantener
lo así 18-horas a 37°.

b.- Pasado este tiempo, precipitar con 1 ml. de HClO_4 que previamente, ha estado en un recipiente con hielo para mantenerlo frío. Mezclar y centrifugar durante 10 min. a 3.000 r.p.m., separar el sobrenadante que se coloca en un tubo aparte.

c.- El precipitado se lava con 1 ml. de H_2O bides
tilada, se centrifuga 10 min. a 3,000 r.p.m. se separa el sobrena -
dante, y se añade al sobrenadante anterior; se desprecia el precipi -
tado.

4. Sobre los sobrenadantes se aplica la técnica de DELORY (9) para determinación del fósforo.

a. Colocar las muestras en tubos de centrifuga graduados, y agregar unas gotas de fenolftaleina; añadir, gota a gota, una solución amoniacal concentrada hasta que la mezcla adquiera un color rosa, señal de que la muestra está neutralizada. A continuación, se añade sucesivamente:

0,2 ml. de solución amoniacal concentrada.

1 ml. de cloruro cálcico al 2,5%

1 ml. de una suspensión, en agua de CO_3Mg (0,5%)

Se agita la mezcla, y se deja en reposo durante 30 min.; al cabo de los cuales se agita de nuevo, y se centrifuga 15 min. a 3.000 r.p.m., se separa el sobrenadante cuidadosamente, y se tira.

b.- Lavar el precipitado con 5 ml. de una solución amoniacal al 2% (sobresaturada de hidróxido cálcico), agitar, y centrifugar 10 min., a 3.000 r.p.m.; separar el sobrenadante cuidadosamente y tirarlo; dejar secar el precipitado.

c.- Se disuelve el precipitado con:

0,4 ml. de ac. perclórico al 60%
0,3 ml. de molibdato amónico al 5%
0,15 ml. de ac. 1:2:4: aminonaftol sulfónico;
completar con H₂O bidestilada hasta 5 ml.

d.- Esperar 10 min. para la estabilización del color, y leer en el espectrofotómetro, a 420 nm.

Las lecturas se efectúan frente a un blanco de los reactivos y un standard de fósforo que contiene 0,878 gr. de PO₄⁻ KH₂ en litro de H₂O bidestilada.

La turbidez que presentaban las muestras impide una buena lectura por lo que adaptamos un nuevo método de determinación de fósforo inorgánico en suero (Método de ZILVERS-MIT y DAVIS (1950) estandarizado por Boehringer Mannheim).

Determinación del fósforo a partir del precipitado del paso (4) de la técnica anterior.

Reactivos

- 5 mg. de fósforo/100 ml. (sol. 1).

- 1 ml. de Sol. 1 más 9 ml. de ac. tricloroacético. Esta mezcla es

el standar sobre el que se miden las D.O. (sol.1a); 1 ml. de Sol. la contiene 0,5 mg. de fósforo/100 ml..

- Acido tricloroacético 1,2N. (Sol. 2).
- Molibdato amonico 40 mM y ácido sulfúrico 2,) N (Sol. 3).
- Vanadato amónico 21 mM y ácido nítrico 0,28N. (Sol. 4).

Método de determinación

	Blanco	Standard	Problema
Precipitado	---	---	Precipitado
Sol. 1a.	---	1,0 ml.	---
Sol. 2	1,0 ml.	---	1,0 ml.
Sol. 3	1,0 ml.	1,0 ml.	1,0 ml.
Sol. 4	1,0 ml.	1,0 ml.	1,0 ml.

Se mezclan, y, al cabo de 10 min., se mide la D.O. de problema y del standard, frente al blanco de los reactivos.

Cálculos

$$\frac{\text{D.O. problema}}{\text{D.O. Standard.}} \times 0,5 \times \text{Vol. del suero inicial} = \text{mg. P/100 ml. de /suero.}$$

10. SEPARACION DE PROTEINAS CON SEPHADEX G-200 NORMAL

La filtración a través de gel es un tipo de fraccionamiento que permite separar los componentes de las muestras según sus diferentes pesos moleculares. En principio se utilizaron geles hidrófilos en sistemas acuosos, pero el hallazgo más decisivo en esta técnica fue la introducción, por PORATH y FLODIN, de geles de dextrano interunido (conocido con el nombre comercial de Sephadex).

Para nuestro trabajo utilizamos un equipo completo de la casa Pharmacia Fine Chemicals. Constaba de una columna, modelo K-26, con una longitud de 40 cm. y 2,5 cm. de diámetro, y con un volumen de lecho aproximadamente de 210 ml. Un reservorio,

modelo R 25/26, con una longitud de 20 cm. y un diámetro de 5,9 cm., con un volumen de 550 ml., y con una llave de triple paso. El gel utilizado fue Sephadex G-200 normal, con un tamaño de partícula de 40-120 u.

El hinchado del gel se hizo en caliente, por ser este método mucho más rápido (5 horas frente a 2 días con ebullición a reflujo); la forma de llenado y empaquetamiento, según instrucciones de la casa Pharmacia Fine Chemicals (11). Las condiciones de presión operativa fueron de 10 cm. (dentro de los márgenes establecidos, que oscilan entre 8-16 cm.); con esta presión de 10 cm., obtuvimos las mejores resoluciones, y la velocidad de recorrido variaba entre 10-15 gotas/min.

El eluyente utilizado, para llevar a cabo el recorrido de la muestra, fue un tampón "buffer" CLNa (0,15M), TRIS-CLH (0,01 M), a pH 8,0.

El colector utilizado fue un microcolector Gilson, modelo T.D.C. 80.

Una vez que la columna estaba en condiciones de ser utilizada, pasábamos, a través de ella, la muestra consistente

en 2 ml. de suero. Las fracciones individuales eran de 2 ml., y se recolectaban 80. Las 22 primeras fracciones fueron desechadas por corresponder al volumen nulo de la columna, y, a partir de estas, se comenzaba el estudio. A los 2 ml. de cada muestra se añadían 2 ml. del tampón utilizado para el recorrido, y se medía la extinción de cada tubo en un espectrofotómetro PYE Unicam SP 6000 UV, a 270 nm.

11. MARCAJE RADIOACTIVO "IN VITRO".

Para poder estudiar a que fracciones proteicas se unfa el hierro, fue necesario marcan "in vitro" el suero, y, luego, hacerlo pasar por la columna de Sephadex G-200 normal, en las mismas condiciones en las que eran realizados los fraccionamientos proteicos normales.

El marcaje se hizo de la siguiente forma: a 2 ml. de suero, se le añadfan 0,2 ml. de solución de $\text{Cl}_3\text{Fe}^{59}$, que contenfa 10 μ Ci/10 ml. de Cl_3Fe en Cl.H 0,1 N, y se neutralizaba la muestra con 0,3 ml. de CO_3HNa 0,1 N. La muestra así preparada, era incubada 10 min. a 37 $^\circ$, y, pasado este tiempo, se colocaba el tubo en agua fría.

La muestra se pasaba a continuación por la columna y se recogían 80 fracciones, de 2 ml. cada una; 22 fracciones eran desechadas y sobre las 58 restantes se trabajaba.

De cada una de ellas, se separó 0,5 ml. que eran colocados sobre unos viales pequeños, y se les adicionaba 2,2 ml. de líquido de centelleo que constaba de:

- 3g. de PPO (2,5 difeniloxazol).
- 0,2 g. de POPO (1-4 bis-(2-(4-metil 5-filoxazol)) benceno).
- 60 g. de Naftaleno
- 20 ml. de Etilén-Glicol
- 100 ml. Metanol bidestilado
- 880 ml de Dioxano

La mezcla se agitaba durante 24 horas, y ya estaba dispuesta para su uso.

Una vez adicionado el líquido de centelleo, se colocaban los viales dentro de unos mayores, se limpiaban cuidadosamente, y se medía la radiactividad que llevaba cada uno, durante un minuto, en un contador de Centelleo modelo PACARD TRICARB 3320, perteneciente al departamento de Microbiología.

Las cuentas radioactivas de cada tubo fueron reducidas a % de radioactividad, porque, debido a la pérdida de radioactividad que experimenta el $\text{Cl}_3\text{Fe}^{59}$ con el paso del tiempo, era imposible colocar todos los datos de una experiencia en las mismas condiciones.

12. DETERMINACION DEL HEMATOCRITO

Con el fin de que el valor fuera lo más preciso posible, los tubos de hematocrito se llenaban inmediatamente después de la extracción de sangre (agitando previamente para su homogenización).

La técnica adoptada fue la del microhematocrito: capilares de 70mm. de largo por 2 mm. de diámetro se ponían sobre la sangre obtenida, y, por capilaridad, se llenaban los tubos hasta sus 3/4 partes; se cerraban introduciendo ambos extremos en plastilina y apretando ligeramente hasta formarse un tapón de unos 2 mm. Se mantenían verticales hasta que eran llevados al laboratorio donde se centrifugaban 6 min. a 11,000 r.p.m. La centrifuga y el microcolector eran del modelo GRI-GEL, especiales para la técnica del microhematocrito.

13. RENOVACION DEL HIERRO PLASMATICO ("TURNOVER")

En términos generales, las técnicas de ferrocinética consisten en inyectar por vía intravenosa Fe-59, bien directamente o bien incubando éste, previamente, con un poco de suero del mismo animal, que se distribuye uniformemente marcando eficazmente el hierro circulante.

Posteriormente, y, durante un tiempo determinado para cada caso, se va controlando la presencia del Fe-59 en el suero. De esta forma se obtienen una serie de valores que expresan la cinética del hierro.

En cuanto a la desaparición del hierro plasmático, el dato más interesante es el del "Turnover" del hierro plasmático

o velocidad de recambio; se denota por la letra T. o PIT (Plasma Iron Turnover) que expresa la velocidad de recambio en la unidad de tiempo.

Para llevar a cabo el estudio del "Turnover", hacíamos lo siguiente: a 3,5 ml. de suero, se añadían 0,1 ml. de una solución de $\text{Cl}_3\text{Fe}^{59}$ que contenía 12,3 $\mu\text{gFe\%ml.}$, 100Ci/ml. en CIH 0,1 N.. La muestra se incubaba 15 min. a 37°, y, de los 3,5 ml., se separaban 0,5 ml. que se colocaban en un vial y se tapaban. Los 3 ml. restantes se inyectaban en la gallina (por la vena alar), y, a intervalos sucesivos de 15, 30, 60 y 120 min., se iban extrayendo muestras de sangre en la otra vena alar.

Las 4 muestras, después de tomar la sangre para el hematocrito, eran centrifugadas 15 min. a 3,000 r.p.m. para extraer el suero; de los sueros se tomaban 0,5 ml. y se colocaban sobre los viales. A estos cuatro junto con el inicial, se les adicionaba líquido de centelleo, se les tapaba y se colocaban sobre otros viales mayores, para, seguidamente, medir la radioactividad de cada uno de ellos. La radioactividad del vial inicial nos indicaba la cantidad de hierro radioactivo que inyectábamos; necesaria para posteriores cálculos. Los otros valores eran representados sobre

papel semilogarítmico: En abscisas, los tiempos de toma de las muestras y, en ordenadas, el Nº de cuentas radioactivas de cada vial. La unión de estos puntos es una recta, y su prolongación hasta el eje de ordenadas nos indica la radioactividad en el tiempo 0.

El tiempo medio se puede hallar dividiendo la radioactividad en el tiempo 0, por 2, y ver el tiempo medio ($T_{1/2}$) correspondiente a la radioactividad calculada. Todos los valores obtenidos pueden ser expresados en % en vez de cuentas de radioactividad, haciendo equivaler el tiempo 0 al 100 por 100 de radioactividad.

Cálculos

$$\text{Volumen plasmático} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de cuentas inyectadas} \times 6}{\text{n}^\circ \text{ de cuentas } T^\circ \times 2} = \text{ml.}$$

$$\text{Volumen sanguíneo} = \frac{100 \times \text{V.P.}}{100 - \text{Hematocrito}} = \text{ml.}$$

$$\text{PIT} = K \times \frac{\text{Sid.}}{1.000} \times \frac{\text{V.P.}}{100} \times 1440 = \text{mg. \% 24 h.}$$

Siendo:

$$= K = \frac{0,6931}{T (1/2)} \quad (\text{fracción de Fe-59 renovada por min.})$$

- 1440 = nº de cuentas por día
- Sid. = sideremia
- V.P. = volumen plasmático
- T^o = Radioactividad en el tiempo 0
- T (1/2). Tiempo medio.

14. DETERMINACION DIRECTA DE LA CANTIDAD DE HIERRO
QUE CONTENIAN LAS FRACCIONES DE FOSFOPROTEINA
Y DE TRANSFERRINA.

Una vez establecida la distribución de la radioactividad en las distintas fracciones recogidas (cosa que se llevaba a cabo utilizando las fracciones pares), las restantes fracciones (las impares) se agrupaban en tantos picos como salieran en la distribución: en nuestro caso, dos. Estos dos conjuntos de fracciones se concentraban por diálisis durante 6 horas, con ACUACIDE como deshidratante, hasta conseguir un vol. de 4 ml.. Sobre este volumen se llevaba a cabo una sideremia por el método de la I.S.C.H,

Cálculos

a) $\mu\text{gFe}\% \times \text{Vol. final} / 100 = \mu\text{gFe en 2 ml. iniciales.}$

b) μgFe (en los 2 ml. inic.) $\times 100 / 2 = \mu\text{gFe}\% \text{ml}$.

c) El resultado de (b) se multiplica por 2, pues sólo se tomaron en consideración la mitad de los tubos.

- - -

RESULTADOS

1. EVOLUCION DE LA SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC.

- 1.1. En gallinas en puesta y no en puesta.
- 1.2. En gallos estrogenizados, a los 0-horas y a las 72-horas de la primera inyección de estrógenos.
- 1.3. Durante el paso de pollitas inmaduras a gallinas maduras.
- 1.4. En gallos estrogenizados, desde la 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos.

La sideremia, en el caso de las gallinas en puesta, es tan alta que sobrepasa la capacidad de la proteína transportadora, como fue comprobado por PLANAS y col. (34), (35), (38), (42) RAMSAY y col (45).

Nosotros hemos obtenido valores similares a estos autores, como queda reflejado en la Tabla II; encontrando para 20 gallinas en no puesta (N.P.) valores medios de sideremia de 134 $\mu\text{gFe}\%$ y una TIBC media de 235 $\mu\text{gFe}\%$, y, para gallinas en puesta (P) superior al 90%, valores de sideremia de 646 $\mu\text{gFe}\%$, con una TIBC de 537 $\mu\text{gFe}\%$. Esto deja claro que la proteína transferrina no tiene capacidad suficiente para transportar todo el hierro circulante, y que se hace necesaria la presencia de un segundo transportador.

Esto mismo, lo comprobamos inyectando, durante dos días seguidos, benzoato de estradiol (5mg/kg de peso) a 20 gallos, y viendo la respuesta del hierro a la inyección de estrógeno. El primer día, es decir, a las 0-horas, los valores basales que se obtenían, según la tabla III, podrían corresponderse a los de las pollitas con el 0% de puesta: sideremias de 137 $\mu\text{gFe}\%$, con TIBC de 232 $\mu\text{gFe}\%$. Pero a las 72-horas de la primera inyección, se obtuvieron valores semejantes a los de las gallinas con una puesta superior al 90%: sideremias de 558 $\mu\text{gFe}\%$, con TIBC de 454 $\mu\text{gFe}\%$.

Antes de comenzar nuestro estudio para tratar de

identificar este segundo transportador, nos pareció necesario ver cómo variaban los parámetros de sideremia y TIBC cuando se tomaban pollitas inmaduras (que tan solo contaban 20 semanas) y se las seguía, durante el tiempo necesario, hasta que alcanzaran la puesta más elevada.

La razón de un experimento de este tipo era que siempre que se habían realizado estudios que comparaban sideremia y TIBC, se habían hecho con gallinas en puesta o no en puesta, y con gallos sin estrógenos o en el máximo de acción de los estrógenos: pero nunca se habían especificado a qué % de la puesta se referían. Tampoco se sabía si la sideremia aumentaba bruscamente, manteniéndose luego constante para los distintos porcentajes de puesta, o bien aumentaba progresivamente, según iba haciéndose más acusado el régimen de la puesta.

Incluimos también en este estudio las variaciones de cupremia, íntimamente ligadas a las variaciones de la sideremia.

Para realizar dicho estudio nos trasladamos a la granja de Vega de Tirados. Los detalles sobre toma de muestras, controles de puesta y mantenimiento fueron expuestos en el apartado

(2) de material y métodos. A intervalos de tiempos sucesivos, como queda indicado en las Tablas V a XVI, se tomaron muestras de sangre y se determinaron los valores de sideremia, cupremia y TIBC; se comprobó que estos valores son más altos cuanto más acusado es el régimen de la puesta. El nº de ejemplares utilizados fue de 20 pollitas inmaduras (de 20 semanas). Fueron controladas durante un año, y, a lo largo del cual, pudimos comprobar cómo, a la vez que la puesta iba aumentando, la sideremia, cupremia y TIBC lo hacían también. Por el contrario, conforme aumentaba la edad y el tiempo en puesta, los niveles de hierro, cobre y TIBC en suero iban disminuyendo.

De la Tabla V a la XIII, se ve un aumento progresivo de la puesta desde 0% a un valor superior al 90%, y, con ello, las sideremias desde 144 $\mu\text{gFe}\%$ a 647 $\mu\text{gFe}\%$, las cupremias desde 20 $\mu\text{gCu}\%$ a 82 $\mu\text{gCu}\%$ y de las TIBC desde 235 $\mu\text{gFe}\%$ a 537 $\mu\text{gFe}\%$. Todos estos valores se mantienen, aunque ligeramente, durante un tiempo; queda esto reflejado en la Tabla XIV donde la puesta es todavía superior al 90%, los valores obtenidos para la sideremia, cupremia y TIBC son, respectivamente, de 613 $\mu\text{gFe}\%$, 79 $\mu\text{gCu}\%$, y 532 $\mu\text{gFe}\%$. En las Tablas XV a XVI

se ve que todos los valores han ido desce ndiendo progresivamente a medida que se extiende el período de puesta hasta un año; los va lores medios de sideremia, cupremia y TIBC, al concluir la expe - riencia, son: 337 $\mu\text{gFe}\%$, 46 $\mu\text{gCu}\%$ y 404 $\mu\text{gFe}\%$, respectivamen te.

A la vista de estos resultados podemos decir que la sideremia, cupremia y TIBC aumentan progresivamente a la vez que lo va haciendo el porcentaje de puesta. Por lo tanto, no ocurre que aumenten estos parámetros al desencadenarse la puesta y luego se mantengan constantes para los distintos porcentajes.

Estos valores ascendentes quedaban, quizás, re - flejados en algunos trabajos; por ejemplo PLANAS y col. (34) (35) (38) (42), daban, para gallinas en puesta, valores entre 300 $\mu\text{gFe}\%$ y 800 $\mu\text{gFe}\%$. Ahora, creemos poder decir que esta disparidad se debe al distinto porcentaje de puesta que en aquel momento presen - taba la gallina. Lo que, sin embargo, no pudimos confirmar fueron valores para la TIBC, más o menos constantes, es decir, variando solamente entre 250 $\mu\text{gFe}\%$ - 350 $\mu\text{gFe}\%$, aproximadamente, como encontraron, (34) (38) (42), siempre que estudiaron gallinas en pue - ta. Nosotros hemos encontrado que la TIBC, al igual que la sidere -

mia y cupremia, aumenta con la puesta.

A pesar de este aumento, la TIBC no puede sopor tar todo el incremento de hierro circulante; haciéndose de igual modo necesario la presencia de un segundo transportador, ya que la sideremia aumenta más deprisa y llega, de igual modo, a sobrepasar la capacidad transportadora de la transferrina. Esto queda bien reflejado en la Fig. 1. En ella podemos ver como la TIBC va siempre por delante de los valores de sideremia, pero llega un momento, aproximadamente en el 50% de la puesta, en que la sideremia se coloca por delante de la TIBC hasta que vuelve a descender el régimen de la puesta.

Este mismo estudio fue llevado a cabo en 20 gallos a los que se inyectaban 5 mg. de benzoato de estradiol por kg. de peso, durante dos días sucesivos, y viendo la acción de los estrógenos sobre el metabolismo del hierro. Los resultados quedan reflejados en las Tablas XVIII a XXIII; son similares a los hallados para las gallinas desde que eran inmaduras (0% de puesta) hasta que alcanzaban puestas superiores al 90%, y durante su descenso. Este método tiene la ventaja de que en una semana se pueden tener datos que de la otra forma necesitan más de un año; pero tiene el

inconveniente de que no es un proceso natural sino inducido por me
dio de los estrógenos a dosis farmacológicas.

La Fig. 2 deja constancia de este aumento, así co
mo de la recuperación al séptimo día de todos los valores sidere -
mia y TIBC y siendo esta última siempre superior a la sideremia ex
cepto cuando esta alcanza sus valores más elevados (72-96 horas).

- - -

1.1. VALORES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC, EN GALLI-
NAS EN PUESTA Y NO EN PUESTA. TABLA Nº II.

T A B L A N º II

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA Y TIBC PARA POLLITAS INMADURAS DE 20 SEMANAS (0% DE PUESTA) Y GALLINAS DE 29 SEMANAS (CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90%).

Ejem. Nº	Pollitas inmaduras N.P.		Gallinas puesta P.superior al 90%	
	Sideremia µgFe%	TIBC µgFe%	Sideremia µgFe%	TIBC µgFe%
1	94	180	472	368
2	120	305	650	586
3	131	190	622	490
4	188	250	595	591
5	139	242	731	627
6	196	200	604	437
7	130	198	795	622
8	120	209	795	625
9	139	245	607	477
10	100	203	686	515
11	120	290	686	518
12	173	332	613	635
13	148	219	749	635
14	135	289	659	540
15	150	289	550	409
16	118	194	607	559
17	134	209	659	526
18	123	221	659	613
19	109	246	559	436
20	121	219	631	540
M.	134,40	235,05	646,00	537,45
D.St.	±26,48	±42,16	±79,65	±81,37
E.St.	±5,92	±9,34	±17,82	±18,20

1.2. VALORES DE SIDEREMIA Y TIBC, EN GALLOS ESTROGE-
NIZADOS; A LAS 0-HORAS Y A LAS 72 HORAS DE LA
PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS. TABLA Nº III.-

T A B L A N° III

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA Y TIBC PARA GALLOS, A LAS 0-HORAS Y A LAS 72-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS. (5mg/Kg).

Ejem. Nº	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$ 0-Horas	TIBC $\mu\text{gFe}\%$ 0-Horas	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$ 72-Horas	TIBC $\mu\text{gFe}\%$ 72-Horas
1	125	270	527	436
2	163	303	618	573
3	165	293	709	600
4	163	253	481	464
5	129	253	681	573
6	174	276	664	450
7	112	216	682	348
8	120	216	564	464
9	122	298	541	405
10	108	216	361	320
11	112	228	498	334
12	106	180	578	490
13	136	200	486	504
14	142	216	490	436
15	142	233	686	382
16	148	200	459	450
17	144	200	504	491
18	145	167	514	445
19	136	234	557	453
20	154	245	569	480
M.	137,30	234,85	558,45	454,90
D.St.	$\pm 20,33$	$\pm 38,68$	$\pm 91,52$	$\pm 75,25$
E.St.	$\pm 4,55$	$\pm 8,65$	$\pm 20,47$	$\pm 16,84$

T A B L A N° IV

VALORES MEDIOS Y DESVIACION STANDARD DE LAS SIDEREMIAS Y TIBC PARA POLLITAS INMADURAS (0% DE PUESTA) Y GALLINAS CON MAS DE 90% DE PUESTA, Y PARA GALLOS A LAS 0-HORAS y 72-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/Kg.).

Gallos	0-Horas	72-Horas
Sideremia	137,30	558,45
µgFe%	±20,33	±91,52
TIBC	234,85	452,90
µgFe%	±38,68	±75,25

Gallinas	0% puesta	90% puesta
Sideremia	134,40	640,45
µgFe%	±26,48	±80,23
TIBC	236,50	537,45
µgFe%	±43,65	±81,37

(N° de ejemplares 20)

1.3. EVOLUCION DE LA SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC EN GALLINAS, DURANTE EL PASO DE POLLITAS INMADURAS A GALLINAS MADURAS. LOS VALORES QUEDAN REFLEJADOS EN LAS TABLAS V A XVI, Y LA TABLA Nº XVII Y LA FIG. 1. SON UN RESUMEN DE ELLAS.

T A B L A N º V

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC EN GALLINAS INMADURAS CON 0% DE PUESTA (20 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Cupremia µgCu%	TIBC µgFe%
1	94	12	180
2	120	15	305
3	131	22	190
4	188	27	250
5	139	24	242
6	196	12	200
7	130	25	198
8	120	29	209
9	139	10	245
10	100	10	203
11	120	12	290
12	173	27	332
13	148	12	219
14	135	29	260
15	150	31	289
16	118	22	194
17	134	17	209
18	123	12	221
19	109	29	246
20	121	24	219
M.	134,40	20,05	235,05
D.St.	±26,48	±7,54	+42,16
E.St.	±5,92	±1,69	±9,31

T A B L A N º VI

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC EN GALLINAS INMADURAS CON 0% DE PUESTA (22 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia ugFe%	Cupremia ugCu%	TIBC ugFe%
1	108	18	238
2	208	27	210
3	134	22	268
4	148	22	224
5	128	21	305
6	104	25	200
7	124	24	245
8	144	24	229
9	108	16	332
10	261	24	194
11	146	23	246
12	81	13	219
13	108	17	221
14	95	15	305
15	131	28	250
16	188	25	200
17	124	27	290
18	111	21	260
19	148	20	194
20	98	14	190
M.	134,85	21,30	241,00
D.St.	±42,59	±4,50	±41,52
E.St.	±9,53	±0,95	±9,29

T A B L A N° VII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 10-15% (23 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. N°	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	Cupremia $\mu\text{gCu}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	103	50	145
2	236	67	352
3	140	43	220
4	213	45	320
5	143	41	190
6	106	23	200
7	180	32	210
8	253	47	340
9	340	51	430
10	103	20	280
11	346	36	314
12	146	23	280
13	363	34	246
14	246	34	280
15	266	36	280
16	130	36	198
17	193	45	273
18	289	34	320
19	279	34	280
20	123	42	180
M.	209,45	38,65	266,90
D.St.	$\pm 85,23$	$\pm 10,91$	$\pm 69,34$
E.St.	$\pm 19,07$	$\pm 2,44$	$\pm 15,51$

T A B L A N° VIII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 20-25% (24 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. N°	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	Cupremia $\mu\text{gCu}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	139	57	280
2	136	34	250
3	313	36	350
4	183	41	230
5	393	67	430
6	201	40	256
7	300	52	312
8	253	43	350
9	205	40	216
10	330	39	396
11	433	68	396
12	123	24	280
13	380	62	240
14	293	50	312
15	320	59	380
16	233	42	306
17	263	51	270
18	246	40	280
19	266	43	280
20	326	65	340
M.	279,50	47,65	307,70
D.St.	$\pm 85,24$	$\pm 12,14$	$\pm 60,68$
E.St.	$\pm 19,07$	$\pm 2,72$	$\pm 13,58$

T A B L A N º IX

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 35-40%(25 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	Cupremia $\mu\text{gCu}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	195	33	300
2	493	75	375
3	464	71	525
4	525	52	405
5	259	28	325
6	425	46	555
7	487	81	390
8	335	54	375
9	368	43	495
10	280	47	270
11	446	69	363
12	438	62	473
13	400	71	525
14	432	54	300
15	385	78	405
16	355	80	330
17	355	47	375
18	475	64	487
19	471	71	345
20	375	42	461
M.	398,15	58,40	403,90
D.St.	$\pm 85,29$	$\pm 15,96$	$\pm 84,07$
E.St.	$\pm 19,08$	$\pm 3,57$	$\pm 18,81$

T A B L A N º X

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 50-60%.(26 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. N º	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	Cupremia $\mu\text{gCu}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	526	67	468
2	550	49	572
3	309	51	231
4	425	89	506
5	523	99	521
6	491	59	422
7	472	87	314
8	523	59	286
9	550	59	399
10	241	47	340
11	432	71	531
12	591	49	531
13	400	56	340
14	568	75	463
15	414	75	394
16	482	92	477
17	418	75	313
18	391	82	368
19	432	49	423
20	488	56	368
M.	461,30	67,30	413,35
D.St.	$\pm 87,50$	$\pm 16,26$	$\pm 93,91$
E.St.	$\pm 19,57$	$\pm 3,64$	$\pm 21,01$

T A B L A N º X I

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 70-75% (27 SEMANAS DE EDAD)

Ejem. N º	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	Cupremia $\mu\text{gCu}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	490	60	485
2	677	63	621
3	559	75	466
4	504	75	613
5	595	75	640
6	559	96	481
7	550	63	433
8	595	70	433
9	613	58	481
10	513	74	595
11	475	69	531
12	563	73	559
13	540	72	469
14	695	59	463
15	677	89	531
16	514	84	478
17	659	52	545
18	568	69	422
19	595	72	463
20	480	83	409
M.	572,40	71,55	505,90
D.St.	$\pm 66,34$	$\pm 10,88$	$\pm 69,73$
E.St.	$\pm 14,84$	$\pm 2,43$	$\pm 15,63$

T A B L A N° XII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 80-90% (28 SEMANAS DE EDAD)

Ejem. N°	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	Cupremia $\mu\text{gCu}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	641	65	507
2	650	65	469
3	495	104	382
4	659	108	499
5	686	62	409
6	704	91	606
7	677	519	450
8	483	56	490
9	568	52	567
10	704	91	471
11	704	109	506
12	750	112	510
13	550	96	477
14	559	83	560
15	586	70	601
16	650	62	504
17	522	88	512
18	482	78	489
19	641	78	622
20	504	80	595
M.	616,75	79,95	511,30
D.St.	$\pm 79,77$	$\pm 19,63$	$\pm 64,27$
E.St.	$\pm 17,85$	$\pm 4,39$	$\pm 14,38$

T A B L A N° XIII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90% (29 SEMANAS Y ME DIA DE EDAD)

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Cupremia µgCu%	TIBC µgFe%
1	472	96	368
2	650	72	586
3	622	86	490
4	595	54	591
5	731	86	627
6	604	82	437
7	795	106	622
8	607	76	625
9	686	92	477
10	680	67	515
11	795	106	518
12	613	97	635
13	740	92	635
14	659	92	540
15	550	71	409
16	607	100	559
17	659	61	526
18	659	78	613
19	559	86	436
20	631	67	540
M.	646,00	83,30	537,45
D.St.	±79,65	±14,78	±81,37
E.St.	±17,82	±3,31	±18,20

T A B L A N° XIV

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90% (41 SEMANA DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	Cupremia $\mu\text{gCu}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	614	94	572
2	782	103	518
3	627	69	540
4	709	110	613
5	664	92	591
6	495	58	527
7	673	78	622
8	700	85	635
9	627	86	490
10	627	102	368
11	636	58	540
12	636	79	613
13	582	84	436
14	496	56	438
15	554	75	516
16	627	75	410
17	481	46	630
18	582	82	528
19	618	86	540
20	593	69	518
M.	613,45	79,35	532,25
D. St.	$\pm 76,27$	$\pm 16,79$	$\pm 75,25$
E. St.	$\pm 17,06$	$\pm 3,76$	$\pm 16,94$

T A B L A N º X V

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 60-55% (62 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	Cupremia $\mu\text{gCu}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	439	73	567
2	388	62	342
3	397	43	492
4	409	55	628
5	513	78	536
6	484	46	396
7	566	51	513
8	398	69	485
9	435	72	612
10	415	42	433
11	629	62	595
12	395	55	469
13	410	68	422
14	359	67	409
15	456	82	535
16	539	74	424
17	534	68	539
18	485	59	436
19	550	71	354
20	486	49	463
M.	464,35	62,30	482,50
D.St.	$\pm 72,39$	$\pm 11,83$	$\pm 82,39$
E.St.	$\pm 16,95$	$\pm 2,65$	$\pm 18,43$

T A B L A N º X V I

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, CUPREMIA Y TIBC PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 40-55% (98 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Cupremia µgCu%	TIBC µgFe%
1	179	32	450
2	268	43	253
3	368	45	450
4	280	40	392
5	375	46	455
6	439	72	351
7	504	39	438
8	333	48	421
9	495	40	452
10	328	24	323
11	162	39	524
12	170	39	491
13	350	47	289
14	358	50	325
15	366	68	498
16	240	53	512
17	429	33	367
18	395	46	372
19	362	59	405
20	340	61	345
M.	337,05	46,20	404,75
D.St.	±97,49	±11,92	±78,29
E.St.	±21,81	±2,67	±17,51

T A B L A N° XVII

VALORES MEDIOS Y DESVIACIONES STANDARD DE SIDEREMIA, CU-
PREMIA Y TIBC PARA GALLINAS; EN EL PASO DE POLLITAS INMA-
DURAS (0 % de PUESTA A GALLINAS MADURAS (CON MAS DEL 90%
DE PUESTA), Y DURANTE SU DESCENSO HASTA UN 40-35 %. N° DE
EJEM. 20 POR CADA LOTE.

EDAD Semanas	% Puesta	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	Cupremia $\mu\text{gCu}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
20	0%	134,40 \pm 26,48	20,05 \pm 7,54	235,05 \pm 42,16
22	0%	134,85 \pm 42,59	21,30 \pm 4,50	241,00 \pm 41,52
23	10-15%	209,45 \pm 85,23	38,65 \pm 10,91	266,90 \pm 69,34
24	20-25%	279,50 \pm 85,24	47,65 \pm 12,14	307,70 \pm 60,68
25	35-40%	398,15 \pm 85,29	58,40 \pm 15,96	403,90 \pm 84,07
26	50-60%	461,30 \pm 87,50	67,30 \pm 16,26	413,35 \pm 93,91
27	70-75%	572,40 \pm 66,34	71,55 \pm 10,88	505,90 \pm 6-,73
28	80-90%	615,75 \pm 79,77	79,95 \pm 19,63	511,30 \pm 64,27
29	> 90%	646,00 \pm 79,65	83,30 \pm 14,78	537,45 \pm 81,37
41	> 90%	613,45 \pm 76,27	79,35 \pm 16,79	532,25 \pm 75,74
62	60-55%	464,35 \pm 72,39	62,30 \pm 11,83	482,56 \pm 82,39
98	40-35%	337,05 \pm 97,49	46,20 \pm 11,92	404,75 \pm 78,29

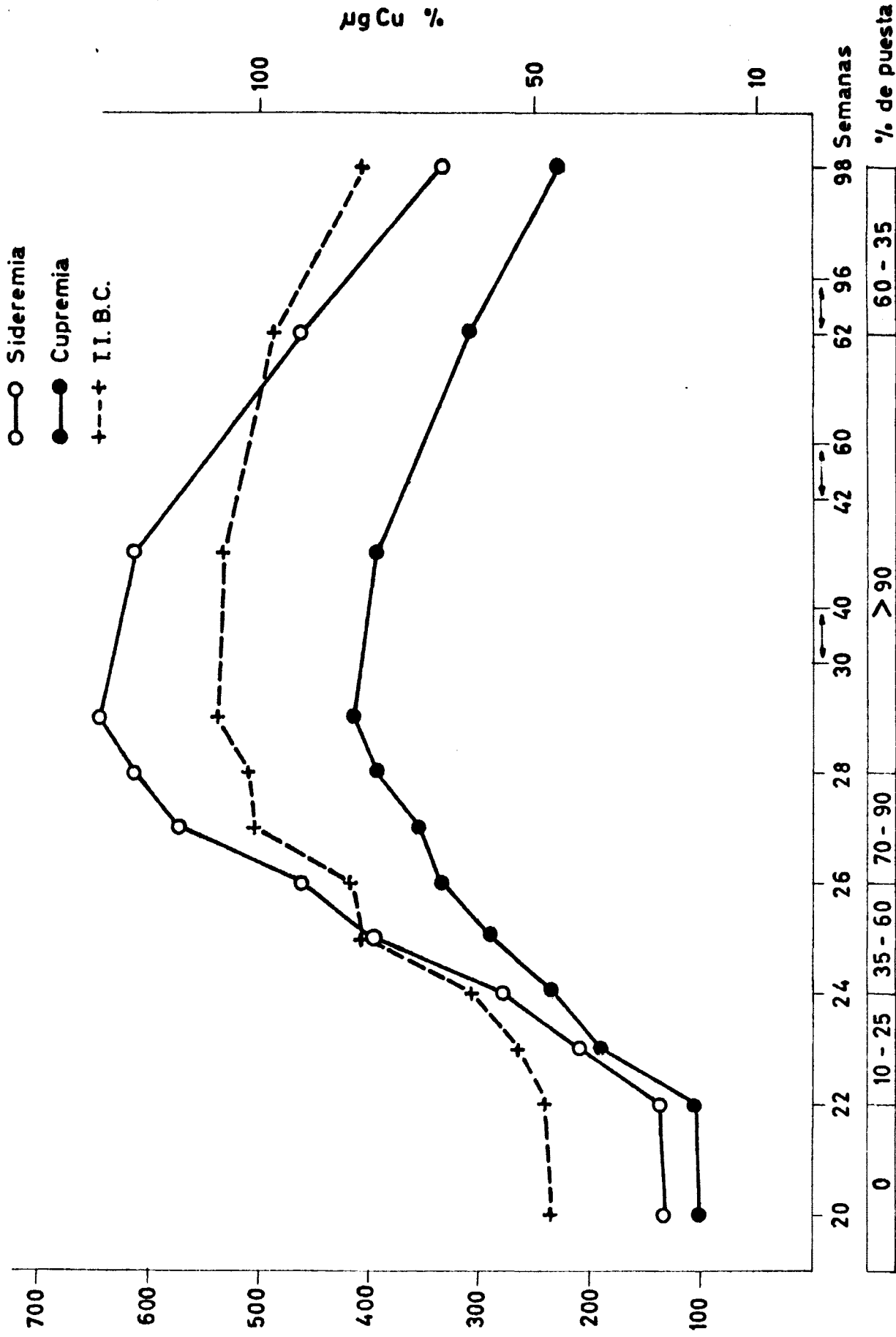


Fig.1

1.4. EVOLUCION DE LA SIDEREMIA Y TIBC EN GALLOS ESTROGENIZADOS; DESDE LAS 0-HORAS HASTA LAS 168-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS. LOS VALORES ENCONTRADOS SE HALLAN EN LAS TABLAS XVIII A LA XXIII, Y SON UN RESUMEN DE ELLOS, LA TABLA Nº XXIV Y LA FIGURA Nº 2.

T A B L A N° XVIII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA Y TIBC PARA GALLOS,
ANTES DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS.

Ejem. N°	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	125	270
2	163	303
3	165	293
4	163	253
5	129	253
6	174	276
7	112	216
8	120	216
9	122	298
10	108	216
11	112	228
12	106	180
13	136	200
14	142	216
15	142	233
16	148	200
17	144	200
18	145	167
19	136	234
20	154	245
M.	137,30	234,85
D.St.	$\pm 20,33$	$\pm 38,68$
E.St.	$\pm 4,55$	$\pm 8,65$

T A B L A N º X I X

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA Y TIBC PARA GALLOS, A LAS 24-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS. DES PUES DE LA TOMA DE SANGRE SE INYECTABA UNA NUEVA DOSIS DE ESTROGENOS (5 mg/Kg.).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	TIBC µgCu%
1	170	284
2	165	348
3	202	316
4	191	252
5	202	258
6	188	235
7	180	216
8	165	186
9	175	201
10	160	278
11	144	340
12	155	216
13	250	264
14	230	331
15	210	259
16	224	242
17	241	290
18	230	286
19	193	261
20	208	284
M.	194,15	262,35
D.St.	±30,31	±42,87
E.St.	±6,78	±9,59

T A B L A N º X X

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA Y TIBC PARA GALLOS, A LAS 48-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/Kg).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	TIBC µgFe%
1	299	340
2	240	280
3	271	316
4	332	224
5	264	231
6	375	278
7	283	283
8	253	326
9	320	370
10	246	224
11	260	290
12	320	366
13	293	342
14	330	248
15	233	254
16	263	292
17	324	256
18	291	330
19	288	291
20	310	330
M.	289,75	293,55
D.St.	±36,85	±45,31
E.St.	±8,25	±10,14

T A B L A N º XXI

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA Y TIBC PARA GALLOS, A LAS 72-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS. (5 mg./Kg.).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	TIBC µgFe%
1	527	436
2	618	573
3	709	600
4	481	464
5	681	573
6	664	450
7	682	348
8	564	464
9	541	405
10	361	320
11	498	334
12	578	490
13	486	504
14	490	436
15	686	382
16	458	450
17	504	491
18	514	445
19	557	453
20	569	480
M.	558,45	454,90
D.St.	±91,52	±75,25
E.St.	±20,41	±16,84

T A B L A N° XXII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA Y TIBC PARA GALLOS, A LAS 96-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS. (5 mg/Kg.).

Ejem. Nº	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	440	280
2	577	302
3	532	415
4	390	355
5	540	375
6	415	390
7	578	353
8	556	418
9	557	445
10	375	326
11	482	379
12	543	353
13	519	458
14	436	555
15	476	483
16	327	540
17	432	475
18	469	500
19	479	411
20	460	408
M.	479,15	411,05
D.St.	$\pm 70,95$	$\pm 75,01$
E.St.	$\pm 15,87$	$\pm 16,78$

T A B L A N° XXIII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA Y TIBC PARA GALLOS, A LAS 168-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/Kg.).

Ejem. N°	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
1	113	177
2	106	203
3	106	175
4	85	203
5	99	203
6	85	243
7	140	345
8	123	307
9	161	232
10	119	207
11	141	205
12	161	220
13	110	240
14	90	210
15	125	225
16	150	219
17	90	225
18	115	240
19	117	226
20	131	240
M.	118,35	227,25
D.St.	$\pm 23,48$	$\pm 39,29$
E.St.	$\pm 5,25$	$\pm 8,79$

T A B L A N° XXIV

VALORES MEDIOS Y DESVIACIONES STANDARD DE SIDEREMIA Y TIBC PARA GALLOS; DURANTE LA ESTROGENIZACION (5 mg/Kg. DE BENZOATO DE ESTRADIOL EL DIA PRIMERO Y SEGUNDO), DES DE LAS 0-HORAS HASTA LAS 168-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS.

Horas	Ejem. N°	Sideremia $\mu\text{g}\%$ Fe	TIBC $\mu\text{g}\%$ Fe
0-Horas	20	137,34 \pm 20,33	234,85 \pm 38,68
24-Horas	20	194,15 \pm 30,31	262,35 \pm 42,87
48-Horas	20	289,75 \pm 36,85	293,55 \pm 45,31
72-Horas	20	558,45 \pm 91,52	454,90 \pm 75,25
96-Horas	20	479,15 \pm 70,95	411,05 \pm 75,01
168-Hras	20	118,35 \pm 23,48	227,25 \pm 39,29

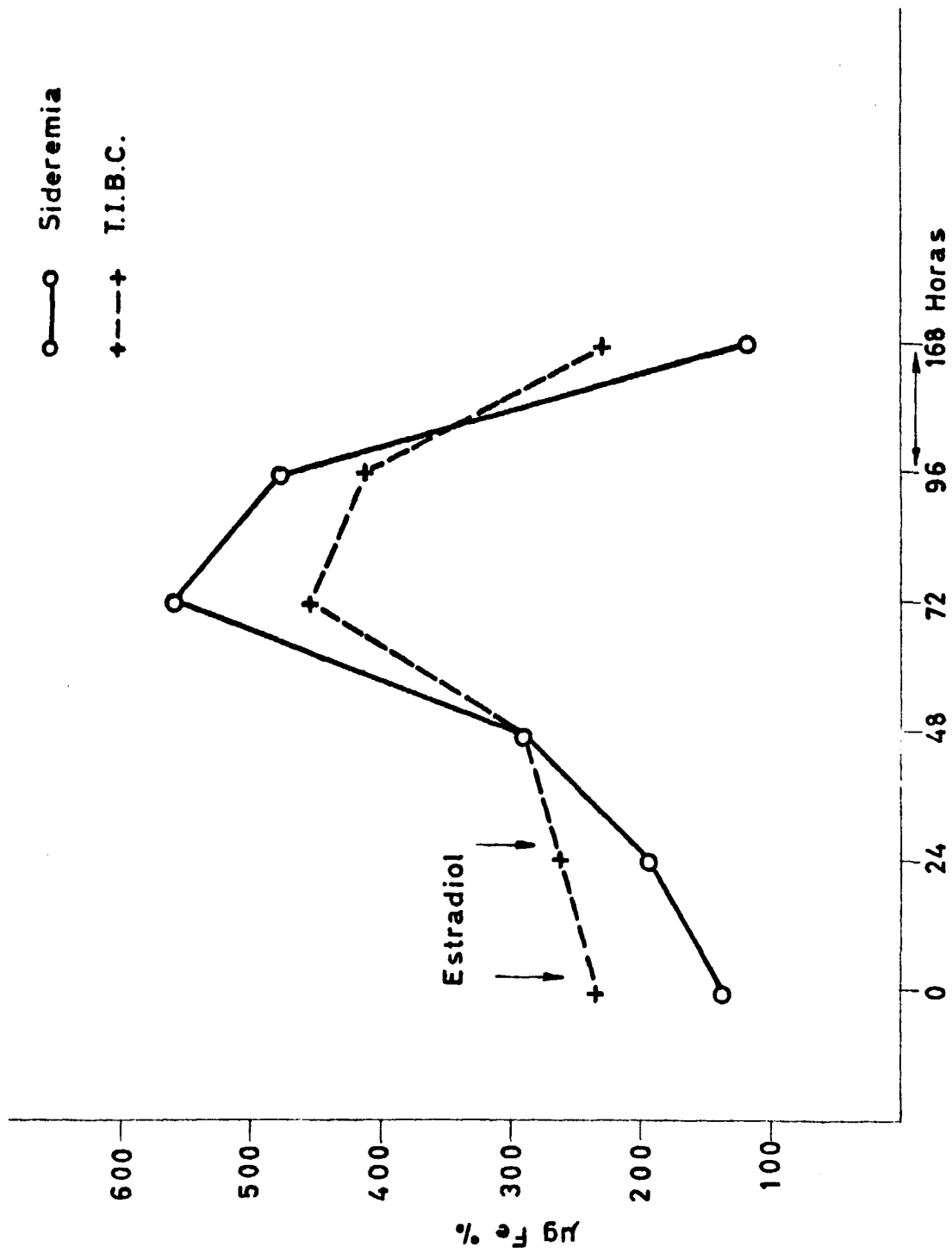


Fig. 2

2. CORRELACIONES ENTRE EL PORCENTAJE DE PUESTA, SIDEREMIA, TIBC Y CUPREMIA.

Una vez determinados los tanto por ciento de puesta, las sideremias, cupremias y TIBC para gallinas, en su paso de pollitas inmaduras a gallinas con más del 90% de puesta, hemos calculado las correlaciones entre estos parámetros y hemos encontrado buena correlación, con valores de p altamente significativos (inferiores a 0,001).

Así, en la tabla nº XXV, en la que se relacionan tantos por ciento de puesta y sideremias correspondientes a dichos porcentajes, el estudio estadístico demuestra que hay una buena correlación entre estos dos parámetros, con $r=0,99$ y p inferior a 0,001.

En la tabla nº XXVI, relacionamos los tantos por ciento de puesta y los valores de la TIBC correspondientes a dichos porcentajes; encontramos una buena correlación con $r=0,99$ y p inferior a $0,001$.

En la tabla nº XXVII, se relacionan los valores de sideremia y cupremia durante el paso de pollitas inmaduras hasta gallinas maduras. Encontramos, en este caso, $r=0,98$ y p . inferior a $0,001$.

En la tabla nº XXVIII se relacionan porcentajes de puesta y valores de Cupremia; hallándose también una buena correlación entre estos dos parámetros, con una $r=0,97$ que, también, proporciona un valor de p inferior a $0,001$.

En la tabla nº XXIX se relacionan los valores de sideremia y de TIBC durante el paso de pollitas inmaduras a gallinas maduras; hallando un valor de $r=1,0$ y un valor de p inferior a $0,001$.

T A B L A N° XXV

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE PUESTA Y LOS DE LA SIDEREMIA, EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0 % DE PUESTA) A GALLINAS CON MAS DEL 90% DE PUESTA.

% de PUESTA	SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$
0%	134,40
10%	209,45
20%	279,50
35%	398,15
50%	461,30
70%	572,40
80%	615,75
90%	646,00

$r=0,99$

$t=17,1473$

$p < 0,001$

(N° de Ejem. en cada caso, 20)

T A B L A N^o XXVI

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE PUESTA Y LOS DE LA TIBC, EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0 % DE PUESTA) A GALLINAS CON MAS DEL 90% DE PUESTA.

% de PUESTA	TIBC $\mu\text{g Fe}\%$
0%	235,05
10%	266,90
20%	307,70
35%	403,90
50%	413,35
70%	505,90
80%	511,30
90%	537,35

$$r = 0,99$$

$$t = 17,1473$$

$$p < 0,001$$

(N^o de ejem. en cada caso, 20)

T A B L A N° XXVII

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE PUESTA Y LOS DE LA CUPREMIA, EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0 % DE PUESTA) A GALLINAS CON UNA PUESTA DE MAS DEL 90 %.

% de PUESTA	CUPREMIA $\mu\text{gCu}\%$
0%	20,05
10%	38,65
20%	47,65
35%	58,40
50%	67,30
70%	71,55
80%	79,95
90%	83,30

$$r = 0,97$$

$$t = 9,9020$$

$$p < 0,001$$

(N° de ejem. en cada caso, 20)

T A B L A N° XXVIII

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE SIDEREMIAS Y CUPREMIAS, EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0% DE PUESTA) A GALLINAS CON MAS DEL 90 % DE PUESTA.

% de PUESTA	SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$	CUPREMIA $\mu\text{gCu}\%$
0%	134,40	20,05
10%	209,45	38,65
20%	279,50	47,65
35%	398,15	58,40
50%	461,30	67,30
70%	572,40	71,55
80%	615,75	79,95
90%	646,00	83,30

$$r = 0,98$$

$$t = 12,005$$

$$p < 0,001$$

(N° de ejemp. en cada caso, 20)

T A B L A N º XXIX

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE SIDEREMIA Y LA TIBC,
EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0% DE PUESTA) A GA -
LLINAS CON UNA PUESTA DE MAS DEL 90%.

% de PUESTA	SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$	TIBC $\mu\text{gFe}\%$
0	134,40	235,05
10	209,45	266,90
20	279,50	307,70
35	398,15	403,90
50	461,30	413,35
70	572,40	505,90
80	615,75	511,30
90	646,00	537,45

$$r = 1,0$$

$$t = \infty$$

$$p < 0,001$$

(Nº de ejem. en cada caso, 20)

T A B L A N° XXX

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE SIDEREMIA, TANTO POR CIENTO DE PUESTA, TIBC Y CUPREMIA, PARA GALLINAS EN SU PASO DE POLLITAS INMADURAS (0 % DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS CON MAS DEL 90 % DE PUESTA.

0 a 90 % de PUESTA --- SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$ $r = 0,99$
 $t = 17,1473$
 $p < 0,001$

0 a 90 % de PUESTA --- TIBC $\mu\text{gFe}\%$ $r = 0,99$
 $t = 17,1473$
 $p < 0,001$

0 a 90 % de PUESTA -- CUPREMIA $\mu\text{gCu}\%$ $r = 0,98$
 $t = 9,902$
 $p < 0,001$

SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$ -- CUPREMIA $\mu\text{gCu}\%$ $r = 0,98$
 $t = 12,0015$
 $p < 0,001$

SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$ --- TIBC $\mu\text{gFe}\%$ $r = 1,0$
 $t = \infty$
 $p < 0,001$

3. MECANISMO DEL TRANSPORTE DEL HIERRO SERICO (2º TRANSPORTADOR)

3.1. Durante el paso de gallinas inmaduras a gallinas maduras.

3.1.1. Valoración de la sideremia, sideremia-
CO₃Mg, TIBC y fósforo de la fosfoproteína.

3.1.2. Fraccionamiento proteico de los sueros mar-
cados con Fe-59, en columnas de Sephadex
G-200.

3.1.3. Determinación directa del hierro en las fra-
ciones de transferrina y fosfoproteína.

3.2. En gallos estrogenizados, desde las 0-horas a las 168-
horas de la primera inyección de estrógenos.

- 3.2.1. Valoración de la sideremia, sideremia- CO_3^- Mg, TIBC y fósforo de la fosfoproteína.
- 3.2.2. Fraccionamiento proteico de los sueros marcados con Fe-59, en columnas de Sephadex G-200.
- 3.2.3. Determinación directa del hierro en la fracciones de transferrina y fosfoproteína.

En el estudio referente a la identificación del segundo transportador, también utilizamos gallinas procedentes de la granja de Vega de Tirados.

El mantenimiento, control de puesta y extracción de muestras se llevaron a cabo del mismo modo que en nuestra experiencia anterior, como indicamos en el apartado de material y métodos (2). De un lote de 20 gallinas, se seleccionaron 6, al azar, y, sobre éstas, se estudió la sideremia, la sideremia de los sueros tratados con CO_3Mg , la TIBC y el fósforo de la fosfoproteína. Los valores de hierro correspondientes al segundo transportador se calcularon por diferencia entre la sideremia y la sideremia de los sueros tratados con CO_3Mg (en las tablas aparece como (Sid. -

- Sid. Mg). También en esta ocasión se realizó el estudio basándose en los distintos porcentajes de puesta que iban teniendo las gallinas con el paso del tiempo; estudiándose, así, desde que eran pollitas inmaduras, con un 0 % de puesta, hasta que alcanzaban una puesta superior al 90%, y luego al ir descendiendo progresivamente.

La Tabla nº XXXI, indica que, para una puesta del 0%, la media de las sideremias era de 125 $\mu\text{gFe}\%$; la sideremia de los sueros tratados con CO_3Mg , de 115 $\mu\text{gFe}\%$ y su diferencia daba valores de Sid. - Sid.Mg de 10 $\mu\text{gFe}\%$; la TIBC era, en ese momento, de 229 $\mu\text{gFc}\%$. Como nos interesaba saber que cantidad de hierro se encontraba unida a la transferrina, hallamos el coeficiente de utilización de la misma, que resultaba ser del 55%; aproximadamente, pues, la mitad estaba utilizada. Sí, como señalaban ALI y RAMSAY (1) (2), el hierro que excede de la capacidad de transporte de la transferrina es tomado por una fosfoproteína que se encuentra en el suero cuando se desencadena la puesta, valoramos también la cantidad de fósforo de la fosfoproteína en dichos sueros, y se obtuvieron valores de 0,39 mg. %. De estos primeros resultados parece deducirse que casi el total del hierro que se en-

cuentra en el suero está unido a la transferrina. Aunque lo lógico sería que los valores de la sideremia y la sideremia de los sueros tratados con CO_3Mg fueran iguales, nosotros no hemos podido comprobarlo en ningún caso; quizás a causa de error experimental, ya que todos los errores experimentales, que puedan ocasionarse al hallar las sideremias y las sideremias de CO_3Mg , son arrastrados a este tercer valor que es hallado por diferencia.

En las Tablas XXXII a XXXIX vemos cómo, al aumentar el tanto por ciento de puesta, van aumentando proporcionalmente los demás valores. Podemos ver que la sideremia aumenta desde 133 $\mu\text{gFe}\%$, para una puesta del 0%, hasta 610 $\mu\text{gFe}\%$ cuando la puesta es superior al 90%. La sideremia de CO_3Mg también aumenta; desde 166 $\mu\text{gFe}\%$, para el 0% de puesta, hasta alcanzar valores de 361 $\mu\text{gFe}\%$ para una puesta superior al 90%. Los valores del hierro no-transferrínico, correspondientes a Sid. - Sid. Mg también van aumentando desde 16 $\mu\text{gFe}\%$, hasta 249 $\mu\text{gFe}\%$ para una puesta superior al 90%. El fósforo de la fosfoproteína (PP) pasa, de tener 0,44 mg% (PP), a valores de 6,5 mg. % (PP). La TIBC también aumenta desde valores de 257 $\mu\text{gFe}\%$ hasta alcanzar valores de 554 $\mu\text{gFe}\%$. Todo ello hace que el coeficiente de

utilización de la transferrina pasa, de ser del 55%, a valores del 120%.

En las tablas XL a XLII se ve cómo todos los valores van descendiendo a medida que va pasando el tiempo, y, con ello, va descendiendo la puesta; hallándose valores de sideremia de 575 $\mu\text{gFe}\%$ para gallinas con una puesta superior al 90%, que se reduce a valores de 355 $\mu\text{gFe}\%$ cuando la puesta era del 35%. De igual forma van descendiendo el resto de los parámetros hallados: así la sideremia de CO_3Mg pasa de 369 $\mu\text{gFe}\%$ a 256 $\mu\text{gFe}\%$; la sideremia (sideremia- CO_3Mg) de 206 $\mu\text{gFe}\%$ a 102 $\mu\text{gFe}\%$; la TIBC disminuye desde valores de 523 $\mu\text{gFe}\%$ a valores de 415 $\mu\text{gFe}\%$. El coeficiente de utilización ya no rebasa el 100 por 100: siendo del 86% para una puesta del 35%. El fósforo de la fosfoproteína pasa a ser de 2,94 mg% frente a 6,10 que tenía cuando la puesta era superior al 90%.

La tabla XLIII expresa los valores medios y las desviaciones standard de todos los parámetros anteriormente descritos, y parecen indicar que:

1.- La sideremia es mayor cuanto mayor es el régimen de puesta.

2.- A pesar de que lo lógico sería que la transferrina llevara todo el hierro circulante hasta que estuviera saturada, y el hierro sobrante en ese momento fuera tomado por el segundo transportador desde el momento en que se desencadena la puesta, el hierro se reparte entre las dos sin necesidad de que la transferrina esté saturada. Creemos en consecuencia que la transferrina no llega nunca a saturarse de hierro, y, si en verdad, el hierro que queda en los sueros después de haber tratado éstos con el $\text{CO}_3\text{-Mg}$ es el que está ligado a la transferrina, los valores del coeficiente de utilización deberían poderse calcular con los valores de la sideremia de los sueros tratados; y no con los de la sideremia de los sueros sin tratar.

3.- La cantidad de (PP) de la fosfoproteína en el suero aumenta progresivamente, pero esto no indica nada más que, cuanto mayor es el porcentaje de puesta, la cantidad de (PP) es mayor. Más adelante veremos si existe, o no, correlación entre los valores del hierro de la Sid. - Sid._{Mg} y los valores de (PP).

Este mismo estudio fué realizado en gallos, administrándoles durante dos días sucesivos una inyección de benzoato de estradiol (5 mg./kg. de peso), se obtenía respuesta máxima a la

acción de los estrógenos a las 73-horas de la primera inyección, para luego disminuir a las 168-horas. Los valores hallados para todos los parámetros fueron prácticamente iguales a los hallados en el estudio anterior; se reflejan en las tablas XL a L. Los valores medios, expresados en la tabla LI, indican que las diferencias entre ellos no eran significativas.

Las figuras 3 y 9 corresponden a la representación gráfica de estas dos experiencias, y se observa en ellas el progresivo aumento y el posterior descenso de todos los parámetros considerados.

Como nuestro objetivo primordial era formular una hipótesis sobre lo que ocurría con el hierro no ligado a la transferrina, cuando la gallina desencadenaba la puesta, quién lo captaba y cómo lo hacía, si se trataba de un proceso brusco, o bien, paulatinamente, el hierro era tomado por el otro transportador, llevamos a cabo un marcaje "in vitro" con Fe-59, según el procedimiento indicado en el apartado (11) de material y métodos, y un fraccionamiento proteico para identificar en que fracciones se fijaban los distintos hierros.

Los resultados quedan reflejados en las figuras (4, 5, 6, 7, 8,). La curva proteica indica que existe una gran cantidad de proteinas (entre las que se encuentran las lipofosfoproteinas de alto peso molecular) que salen en las primeras fracciones. En las siguientes se observa una bajada brusca del nivel de proteinas; entre ellas aparecen las transferrinas de bajo peso molecular.

Los dos picos de radioactividad se fijan, selectivamente, en las primeras fracciones (donde está la fosfoproteina) y en las segundas fracciones donde está la transferrina.

Debido a que la actividad radiactiva del Fe-59 disminuye bastante rápidamente, ya que la experiencia llevaba más de un año, por lo que hubo que renovar el hierro varias veces, nos fué imposible poder comparar todos los valores de radioactividad hallados y colocar todas nuestras experiencias al mismo nivel. Fue por ello que pensamos en dar los valores en tantos por ciento en vez de en cuentas por minuto. Para ello asignabámos el 100/100 al valor máximo encontrado en cada experiencia. Como el máximo de radioactividad se encontró siempre al nivel de la transferrina, este punto se mantuvo fijo, y el otro siempre era movil; y vimos cómo, según aumentaba la puesta, el pico correspondiente al hierro

de las primeras fracciones iba subiendo progresivamente hasta alcanzar los porcentajes más altos cuando la puesta era del 80-90%.

También fue realizada esta experiencia en gallos estrogenizados, figuras (10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,) obteniéndose unos picos de radioactividad similares. También en este caso se mantuvo fijo uno de ellos, aunque, por la poca duración de la experiencia (8 días) podría haberse dado los valores en cuentas de radioactividad.

Llevamos a cabo también una determinación directa de la cantidad de hierro que contenían las fracciones del primer pico (fosfoproteína) y del segundo pico (transferrina), según lo indicado en el apartado (14) de material y métodos. Los valores quedan reflejados en la tabla XLIV. Primero calculamos la sideremia de los sueros tratados con CO_3Mg , y, por diferencia, la sideremia (sideremia - CO_3Mg). Luego se pasaba por una columna de sephadex G-200, una muestra de suero (2 ml.), y después de identificar las fracciones donde se encontraba el hierro, se medían las sideremias en el conjunto de las fracciones del primero y segundo pico. Los valores encontrados fueron en todos los casos ligeramente superiores a los hallados en los sueros normales sin fraccionar. Es-

ta diferencia la atribuimos a la manipulación que experimentaban dichos sueros. Se mantenía, sin embargo, el hecho de que la cantidad de hierro existente en las dos fracciones aumenta progresivamente cuanto más alto es el porcentaje de puesta. Se comprueba pues, el reparto del hierro sérico cuando la gallina desencadena la puesta; así como que la cantidad de hierro no-transferrínico es inferior a la cantidad de hierro transferrínico.

Al igual que en las anteriores ocasiones, también se llevó a cabo el estudio en gallos estrogenizados y los resultados quedan reflejados en la tabla LII; sus valores son más o menos similares a los anteriores, apareciendo también los valores ligeramente más altos.

- - -

3.1.1. Mecanismo del transporte del hierro sérico (2º Transportador), durante el paso de gallinas inmaduras a gallinas maduras. Valoración de la sideremia, sideremia-CO₃Mg. TIBC y fósforo de la fosfoproteína. Las tablas XXXI a XLII son los resultados de dicha experiencia, y la Tabla XLIII y la fig. Nº 3 son el resumen de dichas tablas.

T A B L A N° XXXI

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA-(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS INMADURAS CON 0% DE PUESTA (20 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. µgFe% Mg	Sid.-Side. µgFe% Mg	TIBC µgFe%	C.U.Trans. %	(PP) mg.%
1	121	105	16	289	41,87	0,33
2	109	103	6	194	56,19	0,30
3	123	102	21	209	58,85	0,42
4	134	130	4	221	60,63	0,53
5	118	112	6	246	47,97	0,21
6	150	139	11	219	68,49	0,52
M.	125,83	115,17	10,67	229,67	55,67	0,39
D.St.	±14,33	±15,64	±6,68	±33,69	±9,48	±0,13
E.St.	±5,85	±6,38	±2,73	±13,78	±3,87	±0,05

T A B L A N° XXXII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA-(SIDEREMIA-CO₃Mg) TIBC y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUESTA DE 0% (22 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µg Fe%	Sid. µgFe% ^{mg}	Sid.-Sid. µgFe% ^{mg}	TIBC µgFe%	CU.Trans. %	(PP) mg%
1	131	120	11	250	52,40	0,53
2	188	156	32	250	75,20	0,50
3	124	109	15	290	42,76	0,42
4	111	100	11	260	42,69	0,38
5	148	130	18	194	76,29	0,51
6	98	86	12	298	32,89	0,30
M.	133,33	116,83	16,50	257,00	53,71	0,44
D.St.	±31,76	±24,55	±8,07	±37,00	±18,16	±0,09
E.St.	±12,96	±10,02	±3,29	±15,10	±7,41	±0,04

T A B L A N° XXXIII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA-CO₃Mg) TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 10-15 % (23 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. N°	Sideremia µgFe%	Sid. mg µgFe%	Sid.-Sid. mg µgFe%	TIBC µgFe%	CU.Trans. %	(PP) mg.%
1	246	187	59	280	87,86	1,90
2	266	172	94	280	95,00	1,97
3	130	100	30	198	65,66	1,46
4	193	141	52	273	70,70	1,52
5	289	199	90	320	90,31	2,01
6	274	200	74	280	97,86	1,99
M.	233,00	166,50	66,50	271,83	84,56	1,81
D.St.	±60,47	±39,25	±24,35	±39,93	±13,26	±0,25
E.St.	±24,68	±16,02	±9,94	±16,30	±5,41	±0,09

T A B L A N° XXXIV

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA-CO₃Mg)
TIBC Y FOSFORO DE LAS FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 20-25%
(24 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. Mg µgFe%	Sid.-Sid. µgFe% mg	TIBC µgFe%	CU. Trans. %	(PP) mg.%
1	320	222	98	380	84,21	2,50
2	233	172	61	306	76,14	1,92
3	263	190	73	270	97,41	2,04
4	246	169	77	280	87,86	1,87
5	266	191	75	280	95,00	2,06
6	320	225	95	340	94,12	2,58
M.	274,67	194,83	79,83	309,33	89,12	2,15
D.St.	±37,09	±23,98	±14,09	±42,93	±8,03	±0,30
E.St.	±15,14	±9,79	±5,75	±17,52	±3,28	±0,12

T A B L A N^o XXXV

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA-(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 35-40 % (25 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. N ^o	Sideremia µgFe%	Sid. _{Mg} µgFe%	Sid.-Sid. _{Mg} µgFe%	TIBC µgFe%	CU.Trans. %	(PP) mg.%
1	385	271	114	405	95,06	2,82
2	355	260	95	330	107,58	2,79
3	355	257	98	375	94,67	2,80
4	475	333	142	486	97,74	3,08
5	471	339	132	345	136,52	3,10
6	375	283	92	461	81,34	3,06
M.	402,67	290,50	112,17	400,33	102,15	2,94
D.St.	±52,72	±36,46	±20,92	±62,76	±18,81	±0,15
E.St.	±22,47	±14,88	±8,54	±25,61	±7,68	±0,06

T A B L A N° XXXVI

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA-(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 50-60% (26 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. _{Mg} µgFe%	Sid.-Sid. _{Mg} µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.Trans. (PP) %	(PP) mg%
1	414	302	112	394	105,08	4,07
2	482	339	143	477	101,05	4,22
3	418	296	122	313	133,55	4,20
4	391	282	109	368	106,25	4,18
5	432	303	129	423	102,13	4,30
6	488	342	146	368	132,61	4,28
M.	437,50	310,67	126,83	390,53	113,44	4,21
D.St.	±39,13	±24,31	±15,46	±55,80	±15,33	±0,08
E.St.	±15,97	±9,29	±6,31	±22,78	±6,26	±0,03

T A B L A N° XXXVII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 70-75% (27 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. Mg µgFe%	Sid.-Sid. Mg µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.Trans. %	(PP) mg.%
1	677	432	245	531	127,50	5,59
2	514	349	165	478	107,53	5,28
3	659	424	235	545	120,92	5,78
4	568	376	192	422	134,60	5,44
5	595	372	223	463	128,51	5,50
6	480	327	153	409	117,36	4,46
M.	582,17	380,00	202,17	474,67	122,74	5,34
D.St.	±77,91	±41,21	±38,08	±55,41	±9,59	±0,46
E.St.	±31,80	±16,82	±15,54	±22,62	±3,92	±0,19

T A B L A N º X X X V I I I

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA-(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUES - TA DEL 80-90 % (28 SEMANAS DE EDAD).

Ejem.	Sideremia	Sid. _{Mg}	Sid.-Sid. _{Mg}	TIBC	C.U.Trans. (PP)	
Nº	µgFe%	µgFe%	µgFe%	µgFe%	%	mg%
1	586	371	215	601	97,50	5,49
2	650	423	227	504	123,97	5,86
3	522	360	162	512	101,95	5,42
4	582	369	213	489	119,02	5,54
5	641	417	224	622	103,05	5,87
6	504	338	166	595	84,71	5,33
M.	580,83	379,67	201,17	554,00	105,87	5,62
D.St.	±59,65	±33,42	±29,29	±58,46	±15,80	±0,23
E.St.	±24,35	±13,64	±11,96	±23,86	±6,45	±0,09

T A B L A N° XXXIX

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90 % (29 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. _{Mg} µgFe%	Sid.-Sid. _{Mg} µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.Trans. %	(PP) mg.%
1	550	364	186	409	134,47	5,86
2	607	408	199	559	108,59	6,28
3	659	426	233	526	125,29	6,30
4	659	419	240	613	107,50	6,22
5	559	375	184	436	128,21	6,03
6	631	415	216	540	116,85	6,18
M.	610,83	401,17	209,67	513,83	120,15	6,15
D.St.	±47,85	±25,45	±23,82	±77,14	±10,96	±0,17
E.St.	±19,53	±10,39	±19,72	±31,49	±4,47	±0,07

T A B L A N º X L

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA
-CO₃Mg), TIBC y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUES-
TA SUPERIOR AL 90 % (41 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. _{Mg} µgFe%	Sid.-Sid. _{Mg} µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.T _{rans.} %	(PP) mg.%
1	554	361	193	516	107,36	6,10
2	627	419	208	410	152,39	6,22
3	481	316	165	630	76,35	5,79
4	582	369	213	528	110,23	6,12
5	618	397	221	540	114,44	6,21
6	593	357	236	518	114,48	6,18
M.	575,93	369,83	206,00	523,67	112,63	6,10
D.St.	±53,29	±35,49	±24,61	±70,15	±24,41	±0,16
E.St.	±21,75	±14,48	±10,04	±28,63	±9,97	±0,07

T A B L A N º X L I

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 60-55 % (62 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. Mg µgFe%	Sid.-Sid. Mg µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.Trans. %	(PP) mg.%
1	456	307	149	535	85,23	4,58
2	539	359	180	424	127,12	5,10
3	534	351	183	539	99,07	5,07
4	485	314	171	430	112,79	4,28
5	550	372	178	354	155,37	5,15
6	496	337	159	463	107,13	5,00
M.	510,00	340,00	170,00	457,50	114,45	4,95
D.St.	±36,75	±25,61	±13,39	±71,09	±24,42	±0,22
E.St.	±15,00	±10,45	±5,46	±29,02	±9,97	±0,09

T A B L A N° XLII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA—CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 40-35 % (98 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. _{Mg} µgFe%	Sid.—Sid. _{Mg} µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.Trans. %	(PP) mg.%
1	366	254	112	498	73,49	2,90
2	240	170	70	367	65,40	2,91
3	429	310	119	512	83,79	3,11
4	395	282	113	372	106,18	3,00
5	362	274	88	405	89,38	2,96
6	340	246	114	345	98,55	2,94
M.	355,33	256,33	102,66	416,50	86,13	2,94
D.St.	±64,34	±47,78	±19,35	±71,33	±15,24	±0,11
E.St.	±26,26	±19,50	±7,90	±29,11	±15,24	±0,04

T A B L A N º X L I I I

VALORES MEDIOS Y DESVIACIONES STANDARD DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA — (SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS; EN SU PASO DE POLLITAS INMADURAS (0% DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90 % Y EN SU DESCENSO A UNA PUESTA DEL 40-35 %.

% puesta	Sideremia µg Fe%	Sideremia _{Mg} µgFe%	Sid.-Sid. _{Mg} µgFe%	TIBC µg Fe%	C.U.Transfer. %	(PP) mg.%
0%	125,83 ± 14,33	115,17 ± 15,64	10,67 ± 6,68	229,67 ± 33,69	55,67 ± 9,48	0,39 ± 0,18
0%	133,33 ± 31,76	116,83 ± 24,55	16,50 ± 8,07	257,00 ± 37,00	53,71 ± 28,16	0,44 ± 0,09
10 - 15%	233,00 ± 60,47	166,50 ± 39,19	66,56 ± 24,35	271,83 ± 39,93	84,57 ± 13,26	1,81 ± 0,25
20 - 25%	274,67 ± 37,09	194,83 ± 23,98	79,83 ± 14,09	309,33 ± 42,93	89,12 ± 8,03	2,15 ± 0,30
35 - 40%	402,67 ± 52,72	290,50 ± 36,46	112,17 ± 20,92	400,33 ± 72,76	102,15 ± 18,81	2,94 ± 0,15
50 - 60%	437,50 ± 39,13	310,67 ± 24,31	126,83 ± 15,46	390,53 ± 55,80	113,44 ± 15,33	4,21 ± 0,08
70 - 75%	582,17 ± 77,91	380,00 ± 41,21	202,17 ± 38,08	474,67 ± 55,41	122,74 ± 9,59	5,34 ± 0,46
80 - 90%	580,33 ± 59,65	379,67 ± 33,42	201,17 ± 29,29	554,00 ± 58,46	105,87 ± 15,80	5,59 ± 0,23
> 90%	610,83 ± 47,85	401,17 ± 25,46	209,67 ± 23,82	513,83 ± 77,14	120,13 ± 10,99	6,15 ± 0,17
> 90%	575,93 ± 53,29	369,83 ± 35,49	206,00 ± 24,61	523,67 ± 70,15	112,63 ± 24,41	6,10 ± 0,16
60 - 55%	510,00 ± 36,65	340,00 ± 25,61	170,00 ± 13,39	457,50 ± 71,09	114,45 ± 24,42	4,95 ± 0,22
40 - 35%	355,33 ± 64,34	256,33 ± 47,78	102,66 ± 19,35	416,50 ± 71,33	86,13 ± 15,24	2,94 ± 0,11

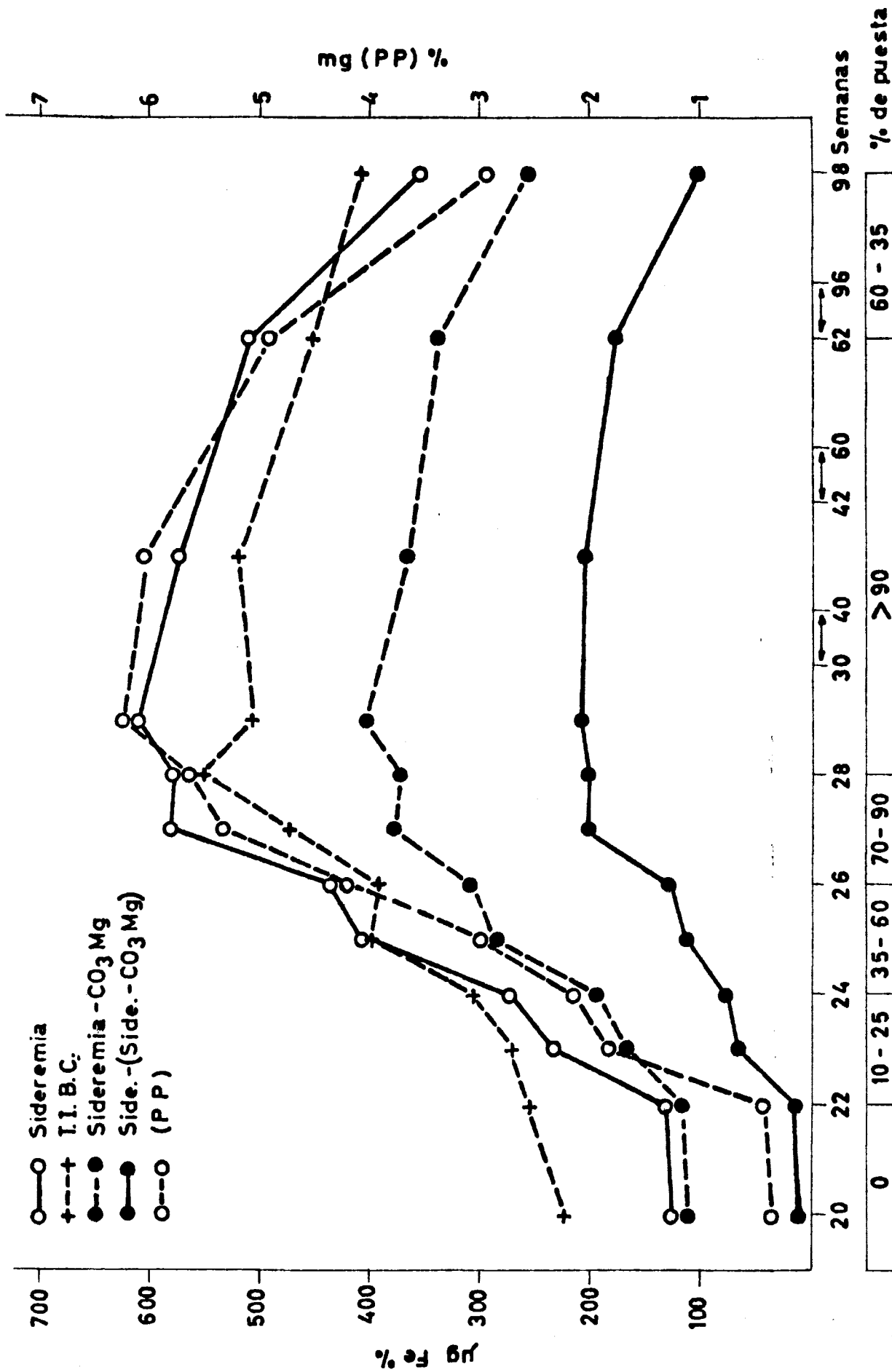


Fig. 3

3.1.2. Mecanismo del transporte del hierro sérico (2º transportador), durante el paso de pollitas inmaduras a gallinas maduras. Fraccionamiento proteico de los sueros marcados con Fe-59, en columnas de Sephadex-G-200.. Las figuras 4, 5, 6, y 7, son la representación gráfica de dicha experiencia; la fig. 8 representa el conjunto de todas ellas.

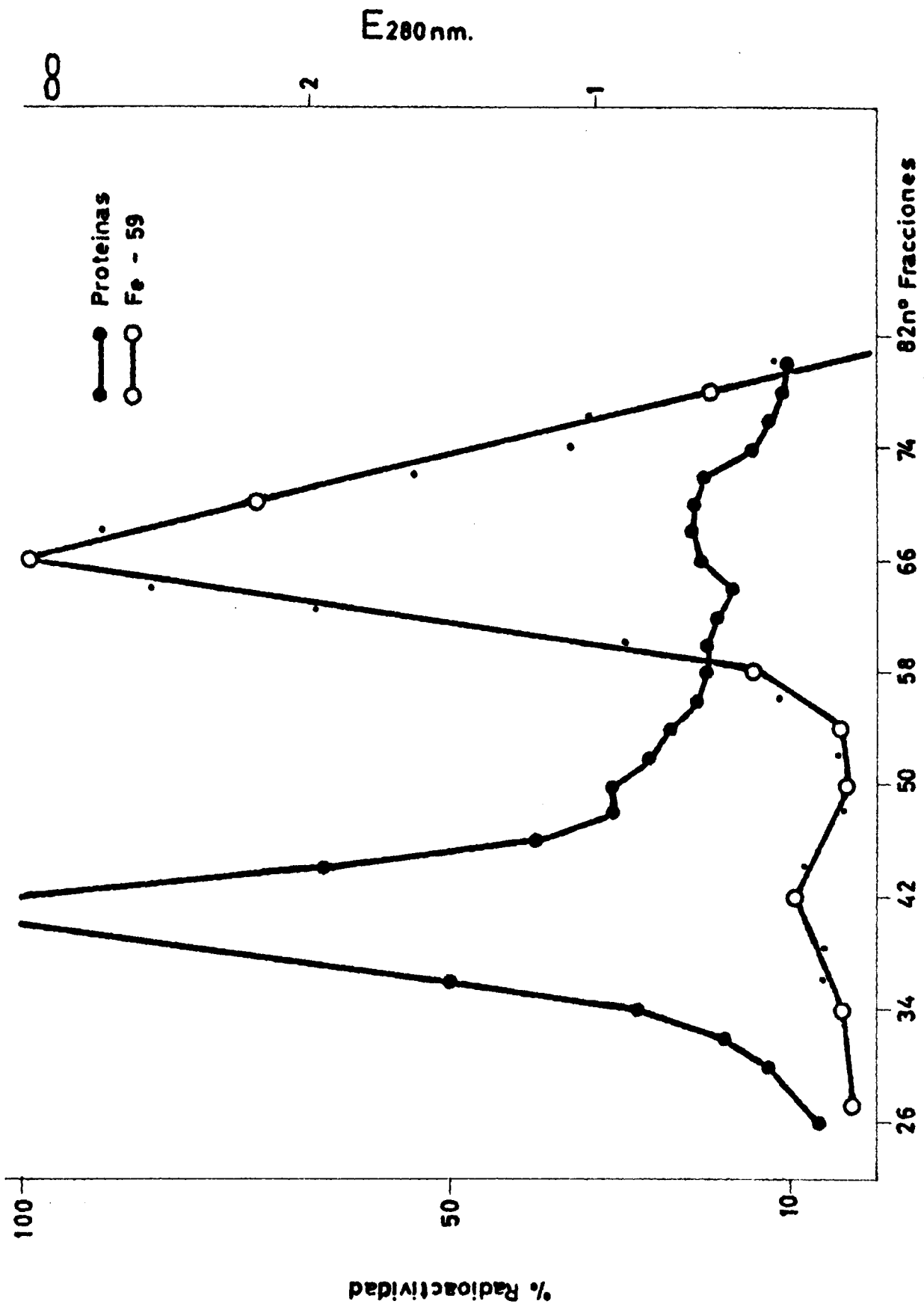


Fig.4 Gallinas con una puesta del 0-10%

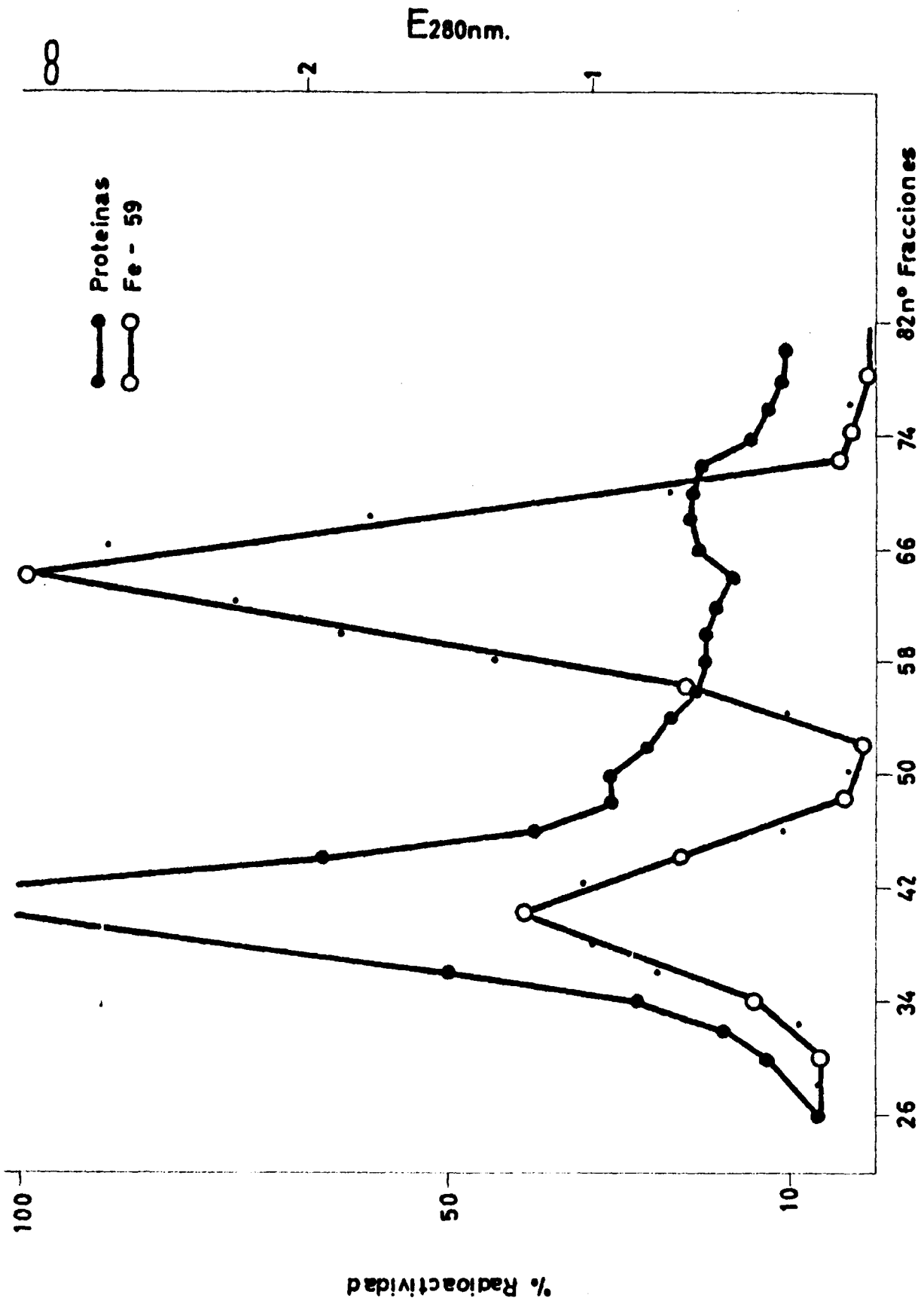


Fig.5 Gallinas con una puesta del 35-40%

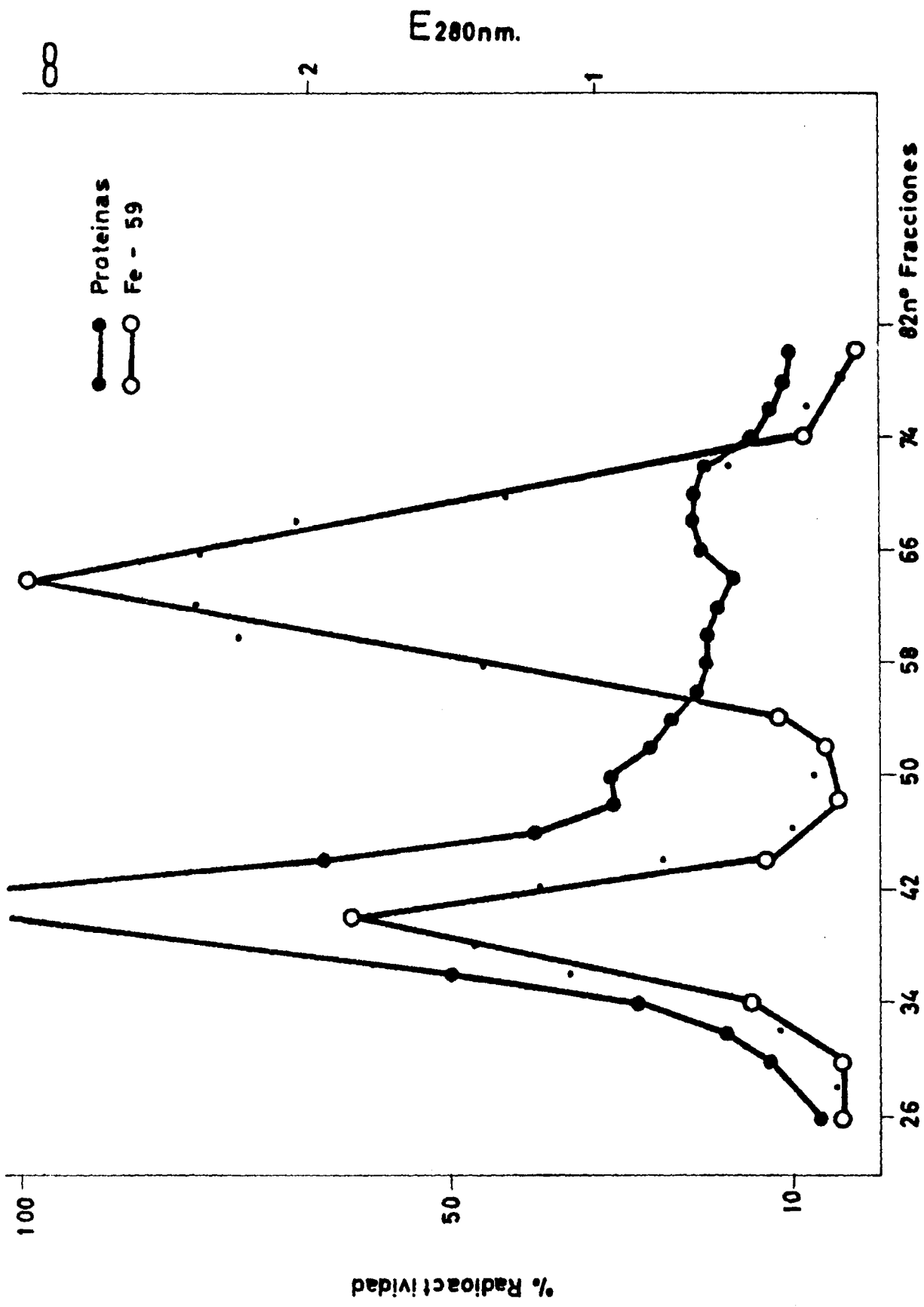


Fig.6 Gallinas con una puesta del 50-60%.

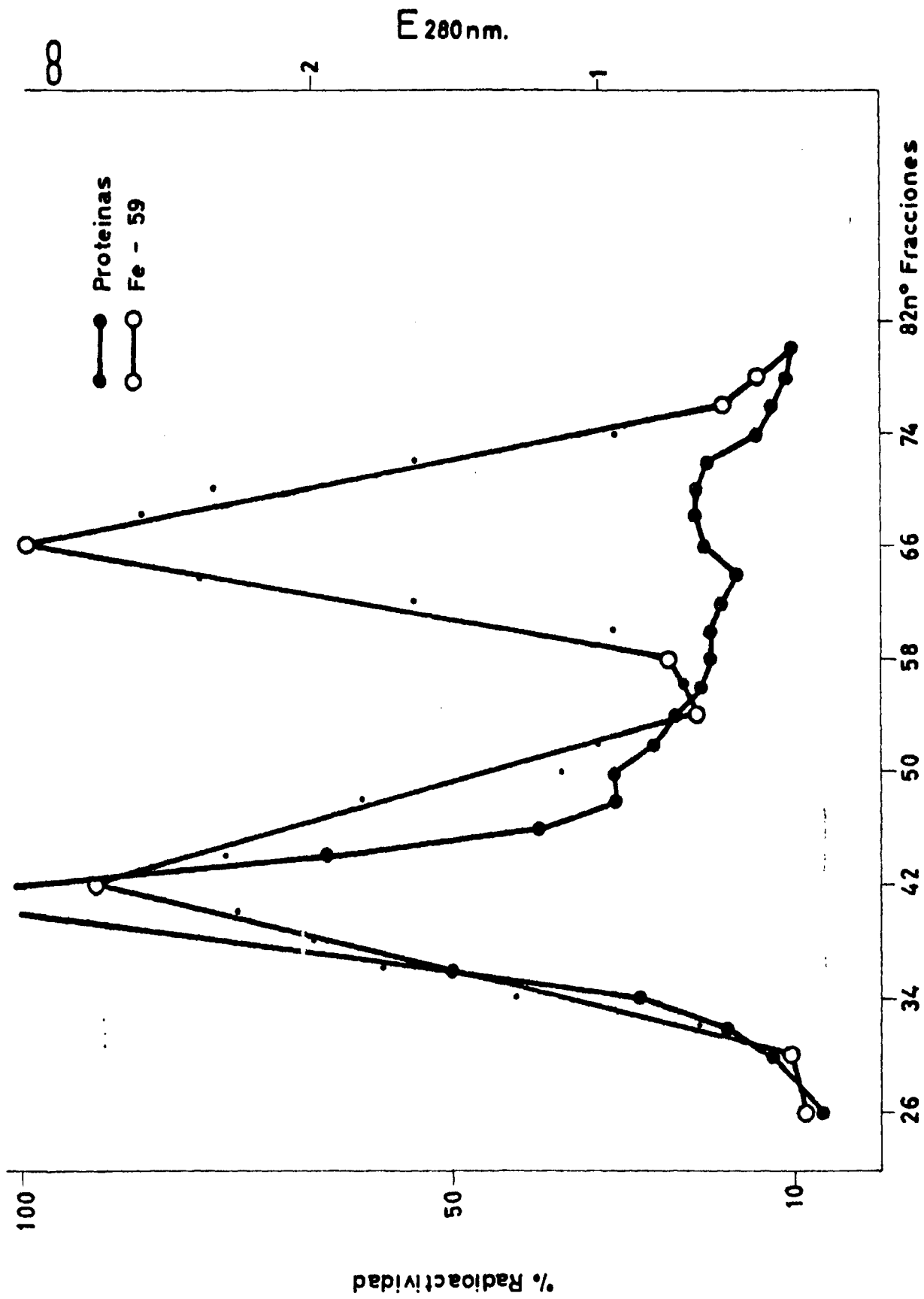


Fig. 7 Gallinas con una puesta del 85-90 %

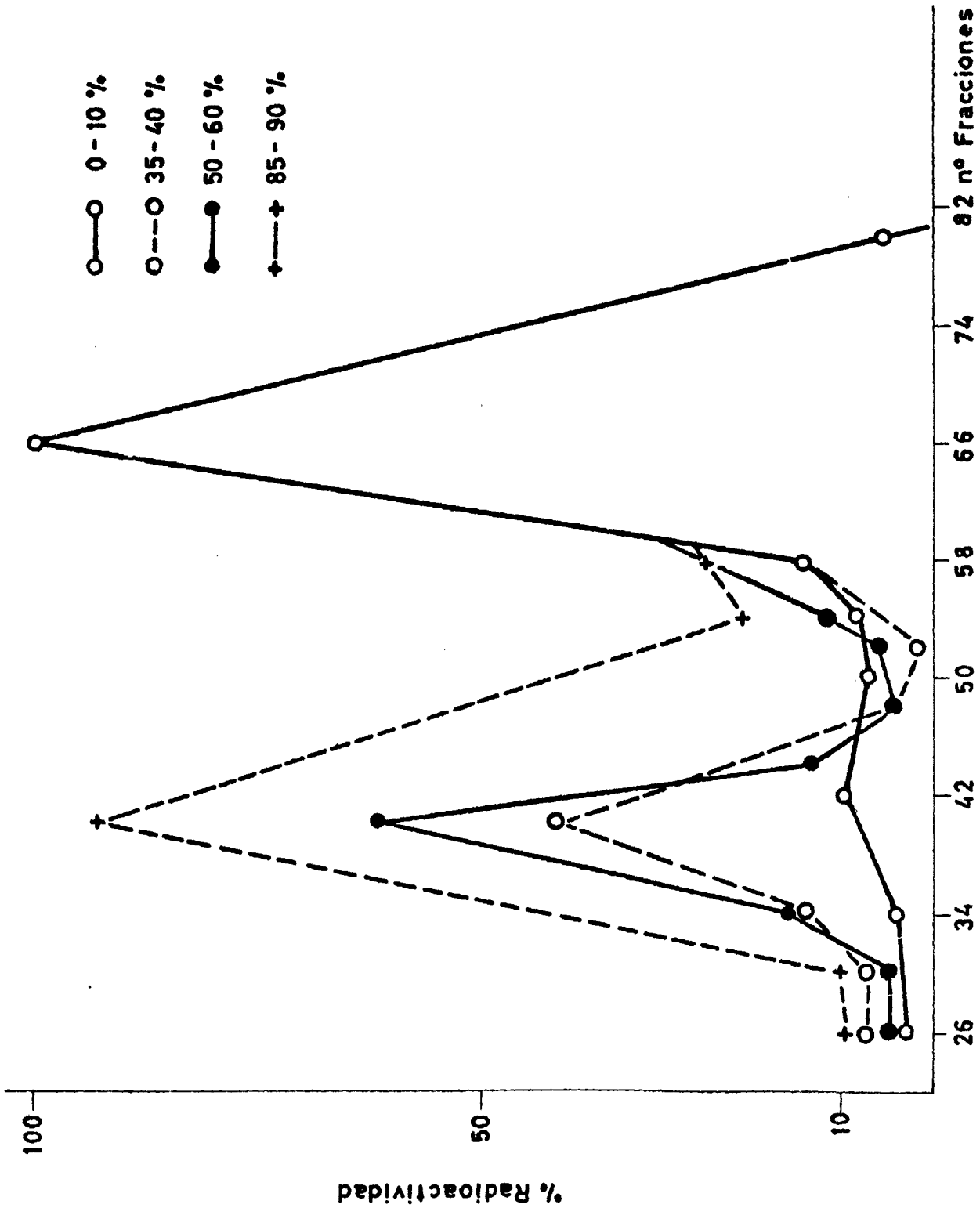


Fig. 8

3.1.3. Mecanismo del transporte del hierro sérico (2º transportador), durante el paso de pollitas inmaduras a gallinas maduras. Determinación directa del hierro en las fracciones ,
Tabla Nº XLIV.

T A B L A N° XLIV

VALORES DE LAS CANTIDADES DE HIERRO, OBTENIDOS POR DETERMINACION DIRECTA EN LAS FRACCIONES DE FOSFOPROTEINA Y TRANSFERRINA, Y COMPARADOS CON LOS VALORES OBTENIDOS POR LAS TECNICAS DE CARBONATO DE MAGNESIO; EN EL PASO DE GALLINAS INMADURAS (0% DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS (MAS DEL 90 % DE PUESTA).

Puesta %	Contenido $\mu\text{gFe}\%$ 1ªFra.	Sid.-Sid. $\mu\text{gFe}\%$ Mg	Contenido $\mu\text{gFe}\%$ 2ªFra.	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$ Mg	Contenido $\mu\text{gFe}\%$ 1+2 Frac.	Sideremia $\mu\text{gFe}\%$
0- 10	39	22	148	131	187	153
30-40	174	149	304	265	478	414
50-65	196	264	380	372	576	536
80-90	250	217	440	421	690	638

(Nº de ejemplares en cada caso, 10)

3.2.1. Mecanismo del transporte del hierro sérico (2º transportador) en gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos. Valoración de la sideremia, sideremia-CO₃Mg, TIBC y fósforo de la fosfoproteína. Los valores hallados quedan reflejados en la Tabla XLV a XL; la Tabla LI y la Fig. 9 son el resumen de dicha experiencia.

T A B L A N º XLV

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA-(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLOS, ANTES DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS.

Ejem.	Sideremia	Sid. Mg	Sid.-Sid. Mg	TIBC	C.U.Trans	(PP)
Nº	µg% Fe	µgFe%	µgFe%	µgFe%	%	mg.%
1	151	124	27	290	52,07	0,47
2	155	136	19	261	59,39	0,37
3	140	122	18	216	64,81	0,43
4	146	121	25	289	50,52	0,38
5	118	101	17	243	48,56	0,31
6	108	99	9	209	51,67	0,29
M.	136,33	117,17	19,17	251,33	54,50	0,38
D.St.	±19,02	±14,36	±6,40	±34,08	±6,25	±0,07
E.St.	±7,70	±5,86	±2,61	±14,28	±2,55	±0,03

T A B L A N° XLVI

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA EN GALLOS, A LAS 24-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS. DESPUES DE LA TOMA DE SANGRE, SE INYECTA UNA SEGUNDA DOSIS DE ESTROGENOS (5 mg./Kg.).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. Mg µgFe%	Sid.-Sid. Mg µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.Trans. %	(PP) mg.%
1	179	148	31	316	56,65	0,45
2	193	167	26	254	75,98	0,48
3	173	137	36	201	86,07	0,42
4	153	103	50	278	55,04	0,46
5	230	147	83	251	91,63	0,39
6	231	155	76	272	84,93	0,34
M.	193,17	142,83	50,33	262,00	75,05	0,42
D.St.	±31,65	±21,89	±24,07	±37,89	±15,71	±0,05
E.St.	±12,92	±8,94	±9,83	±15,47	±6,41	±0,02

T A B L A N° XLVII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA - CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA EN GALLOS, A LAS 48-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/kg).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. Mg µgFe%	Sid.-Sid. Mg µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.Trans. %	(PP) mg.%
1	239	170	69	248	97,37	2,80
2	240	165	75	348	68,97	2,75
3	271	202	69	316	85,76	2,65
4	232	191	41	263	88,21	2,54
5	264	202	62	269	98,51	2,76
6	275	188	87	285	96,49	2,84
M.	253,50	186,33	67,17	288,00	89,05	2,72
D.St.	±18,62	±15,73	±15,32	±37,46	±11,08	±0,11
E.St.	±7,60	±6,42	±6,25	±15,29	±4,52	±0,04

T A B L A Nº XLVIII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA--(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLOS, A LAS 72-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (mg/Kg.).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. Mg µgFe%	Sid.-Sid. Mg µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.Trans. %	(PP) mg.%
1	618	451	167	536	115,30	5,97
2	609	381	248	496	122,78	5,58
3	595	356	279	405	146,91	5,25
4	479	373	266	381	125,72	5,19
5	548	355	233	440	124,55	5,42
6	504	340	264	462	109,09	5,29
M.	558,83	362,67	196,17	453,33	124,06	5,45
D.St.	±58,00	±46,67	±38,28	±57,40	±12,87	±0,29
E.St.	±23,67	±19,05	±15,62	±23,43	±5,25	±0,12

T A B L A N° XLIX

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLOS, A LAS 96-HORAS DE LA PRIME - RA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/kg).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid.Mg µgFe%	Sid.-Sid.Mg µgFe%	TIBC µgFe%	C.U. Trans. %	(PP) mg.%
1	516	379	137	392	135,63	4,56
2	448	293	253	406	110,34	4,85
3	557	356	201	415	134,22	4,32
4	433	258	275	379	114,25	4,91
5	477	256	281	407	117,20	4,42
6	499	356	143	425	117,41	4,61
M.	488,33	323,00	165,33	404,00	120,84	4,61
D.St.	±45,63	±47,26	±24,57	±16,40	±9,74	±0,23
E.St.	±18,26	±19,29	±10,03	±6,69	±3,97	±0,09

T A B L A N º L

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLOS, A LAS 168-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/Kg.).

Ejem. Nº	Sideremia µgFe%	Sid. Mg µgFe%	Sid.-Sid. Mg µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.Trans. %	(PP) mg.%
1	108	96	12	182	59,34	0,62
2	89	79	10	216	41,20	0,37
3	141	124	17	295	47,80	0,48
4	140	113	27	211	66,35	0,33
5	108	80	28	235	45,96	0,73
6	118	91	27	228	51,75	0,40
M.	117,33	97,17	20,17	227,83	52,07	0,49
D.St.	±20,20	±18,08	±8,18	±37,65	±9,28	±0,16
E.St.	±8,24	±7,38	±3,34	±15,37	±3,79	±0,06

T A B L A N º L I

VALORES MEDIOS Y DESVIACIONES STANDARD DE SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA—
(SIDEREMIA-CO₃Mg), TIBC Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLOS, DESDE LAS
0-HORAS A LAS 168-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/Kg.).

Horas	Sideremia µgFe%	Sideremia _{Mg} µgFe%	Sid.-Sid. _{Mg} µgFe%	TIBC µgFe%	C.U.T _r ansfer. %	(PP) mg.%
0-Horas	136,33 ± 19,02	117,17 ± 14,36	19,17 ± 6,40	251,33 ± 34,98	54,50 ± 6,25	0,38 ± 0,07
24-Horas	193,17 ± 31,65	142,83 ± 21,89	50,33 ± 24,07	262,00 ± 37,89	75,05 ± 15,71	0,42 ± 0,05
48-Horas	253,50 ± 18,62	186,33 ± 15,73	67,17 ± 15,32	288,00 ± 37,47	89,05 ± 11,08	2,72 ± 0,11
72-Horas	558,83 ± 58,00	362,67 ± 47,26	196,17 ± 38,28	453,33 ± 57,40	124,06 ± 12,87	5,45 ± 0,29
96-Horas	488,33 ± 45,63	323,00 ± 47,26	165,33 ± 24,57	404,00 ± 16,40	120,84 ± 9,74	4,61 ± 0,23
168-Horas	117,33 ± 20,20	97,17 ± 18,02	20,17 ± 8,18	227,83 ± 37,65	52,07 ± 9,28	0,49 ± 0,16

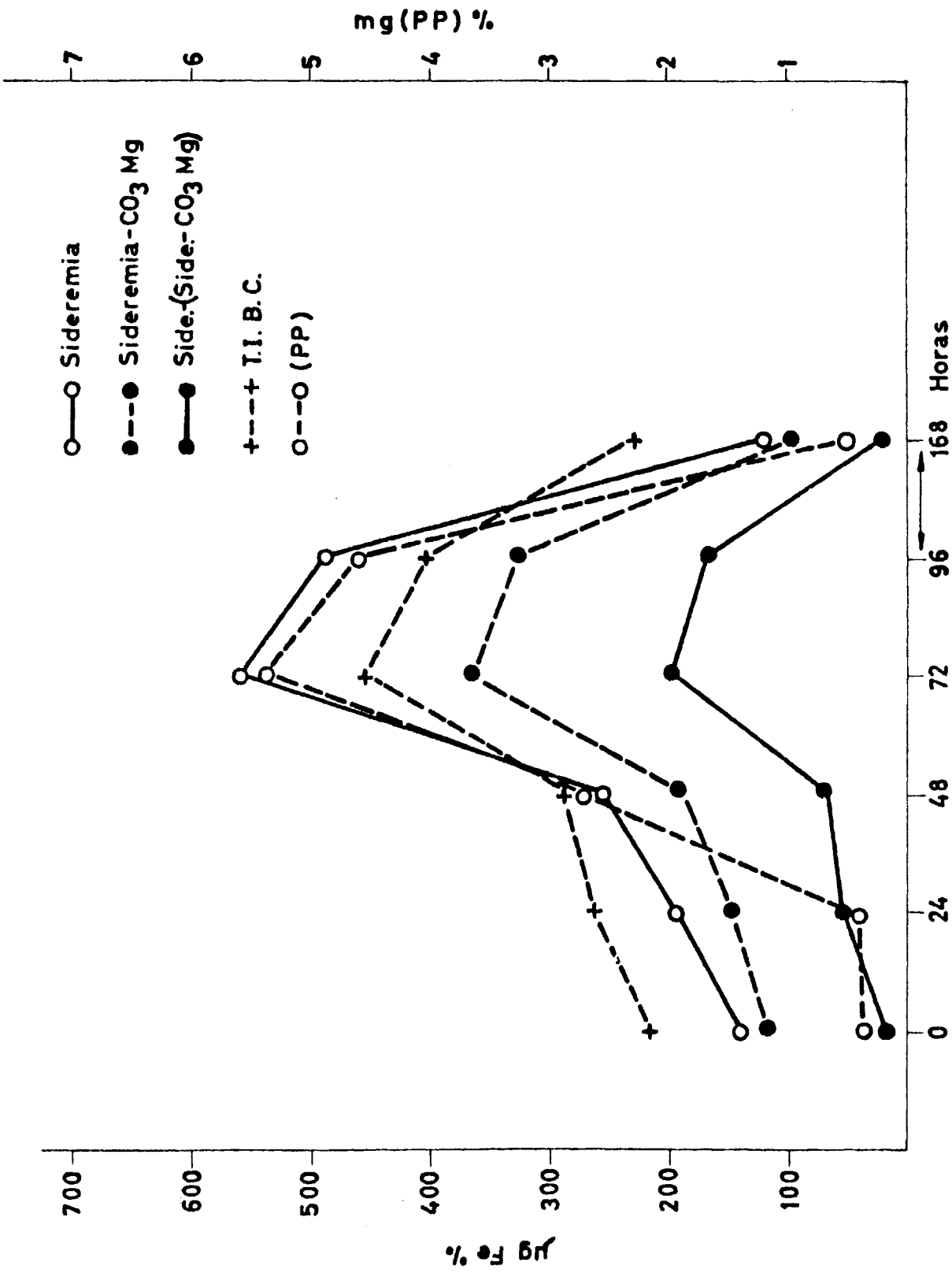


Fig. 9

3.2.2. Mecanismo del transporte del hierro sérico (2º transportador) en gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrogénos. Fraccionamiento proteico de los sueros marcados con Fe-59, en columnas de Sephadex G-200. Las figuras 10 a la 15 son la representación gráfica de esta experiencia; y la figura 16 corresponde al conjunto de las seis.

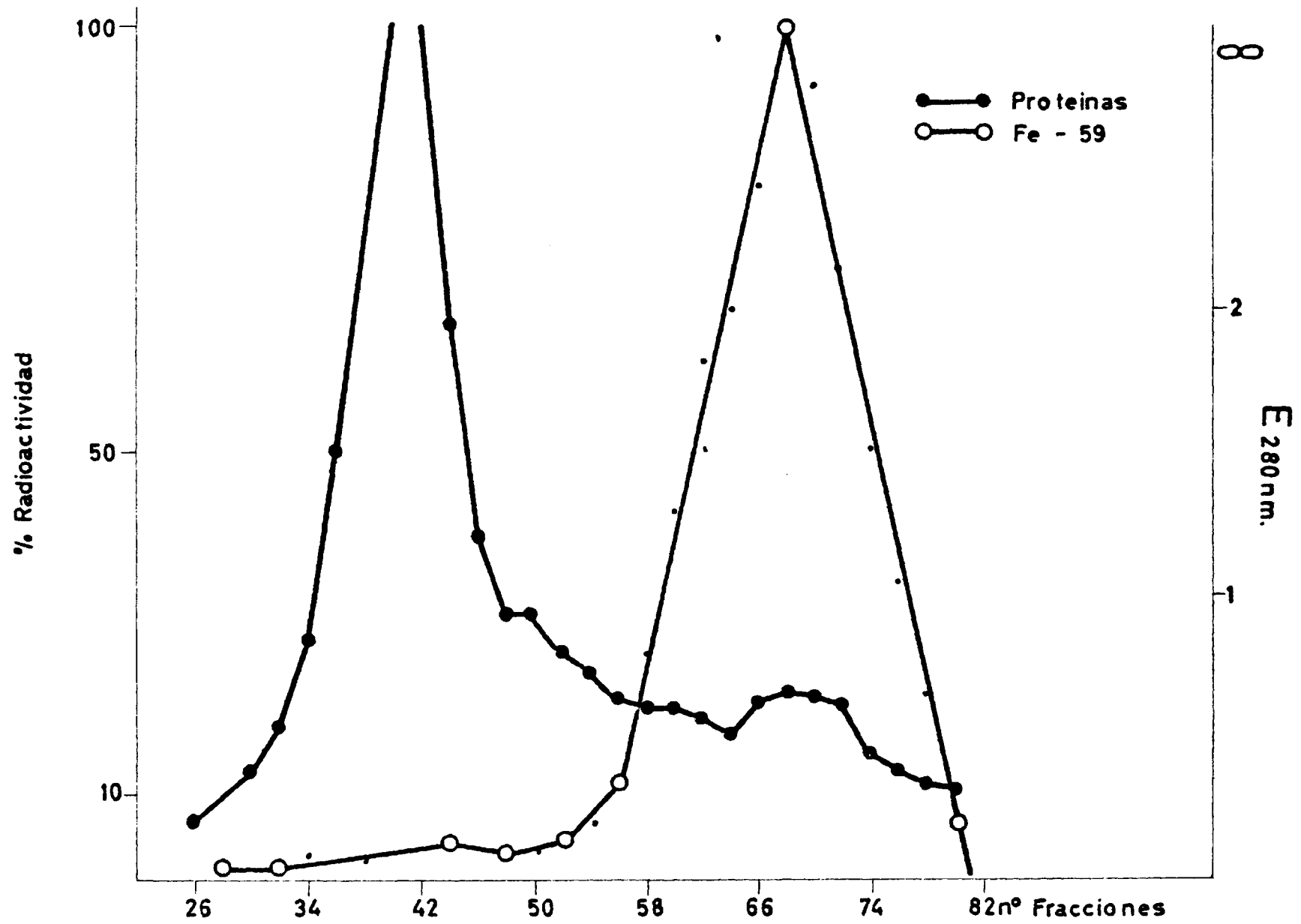


Fig.10 Gallos a las 0 horas de la primera inyección de estrógeno

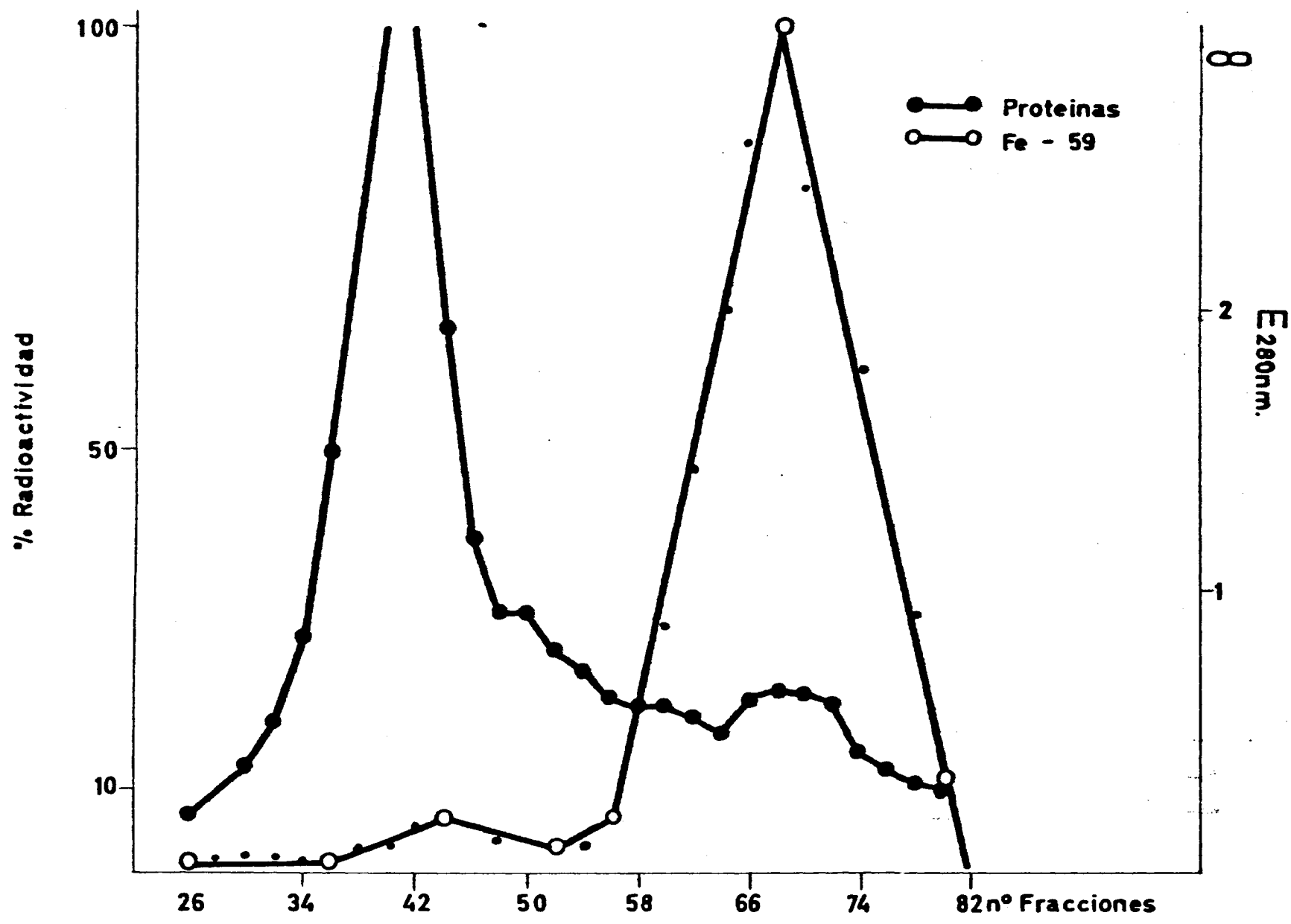


Fig. 11 Gallos a las 24 horas de la primera inyección de estrógenos

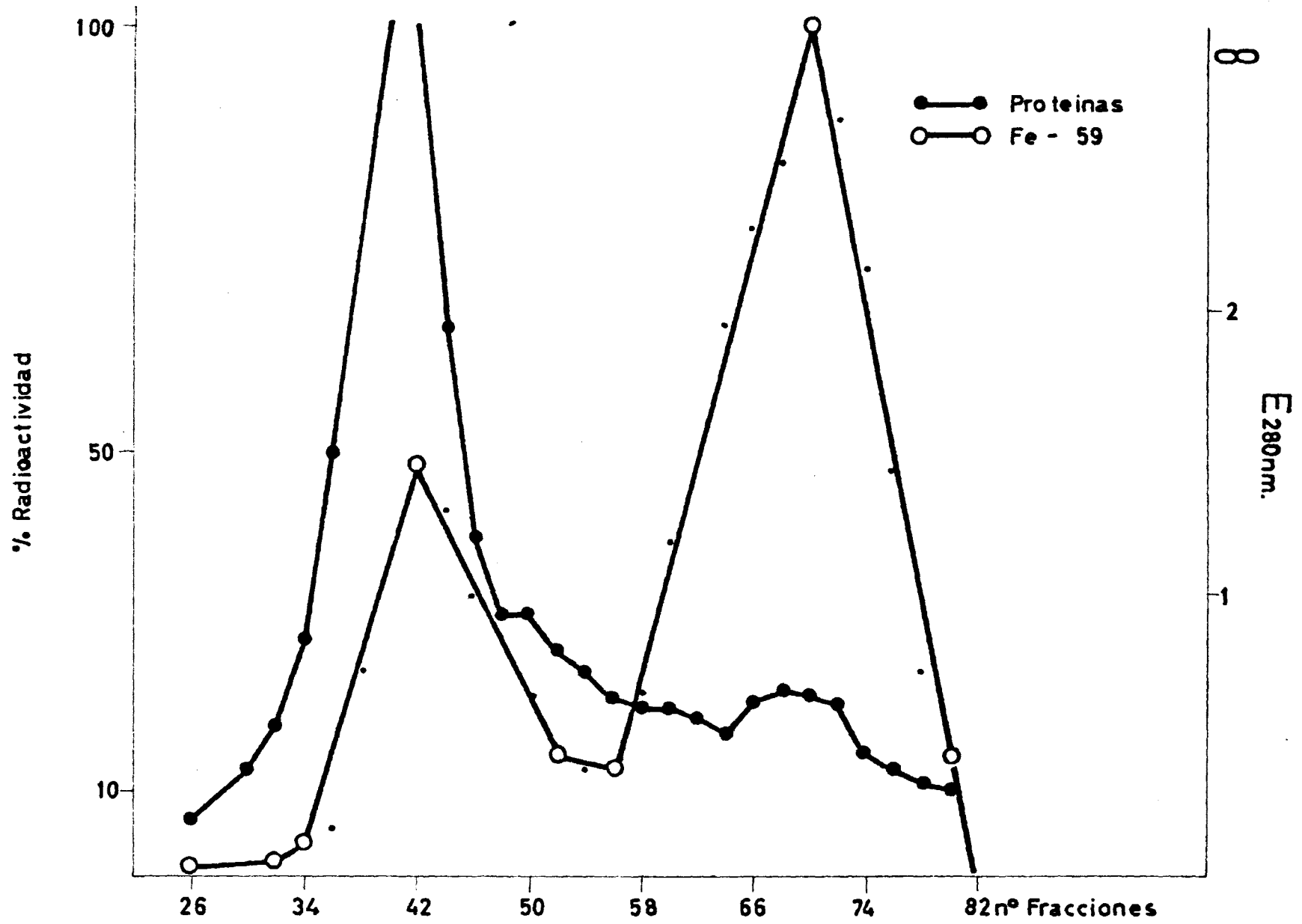


Fig. 12 Gallos a las 48 horas de la primera inyección de estrógenos

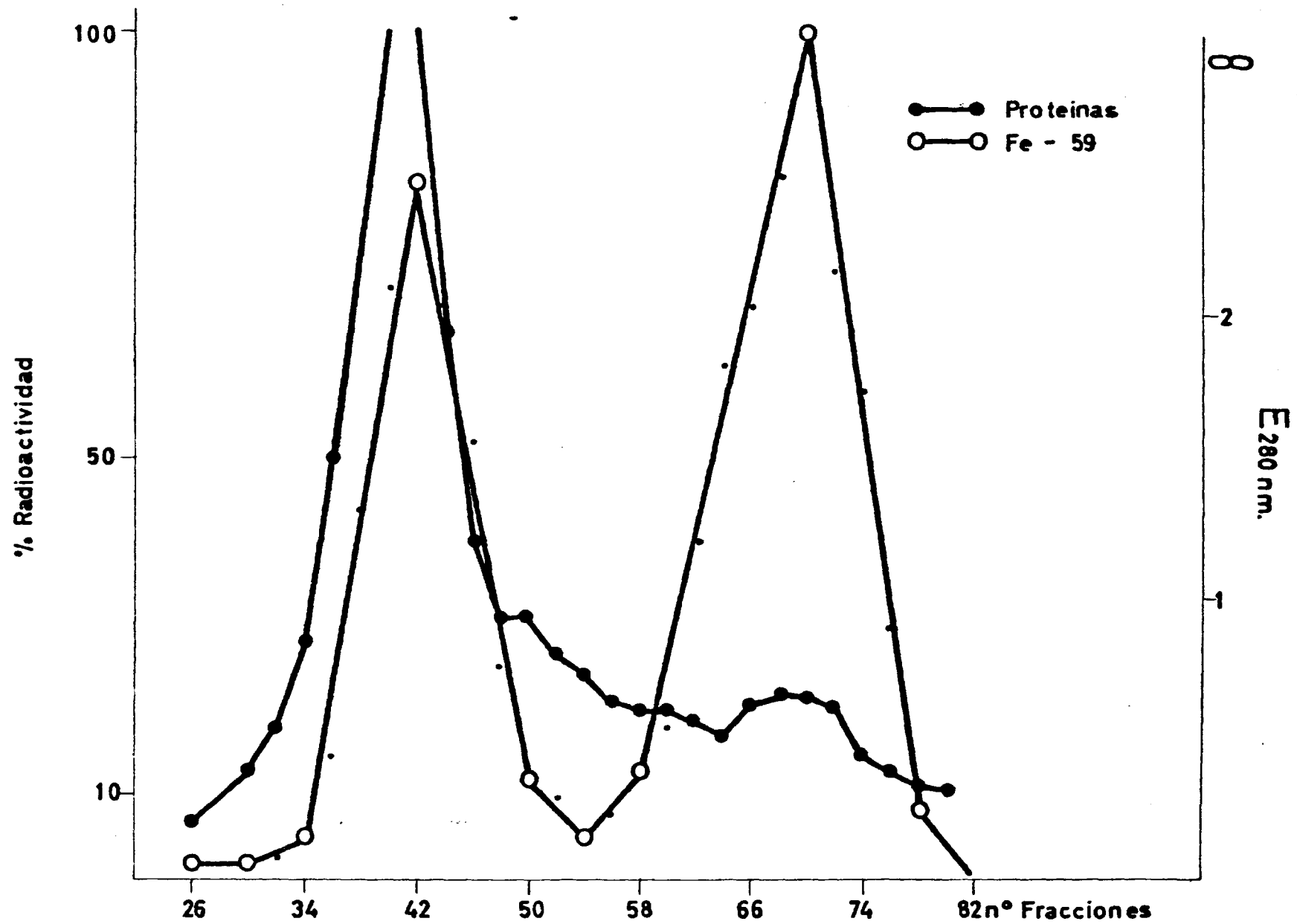


Fig. 13 Gallos a las 72 horas de la primera inyección de estrógenos

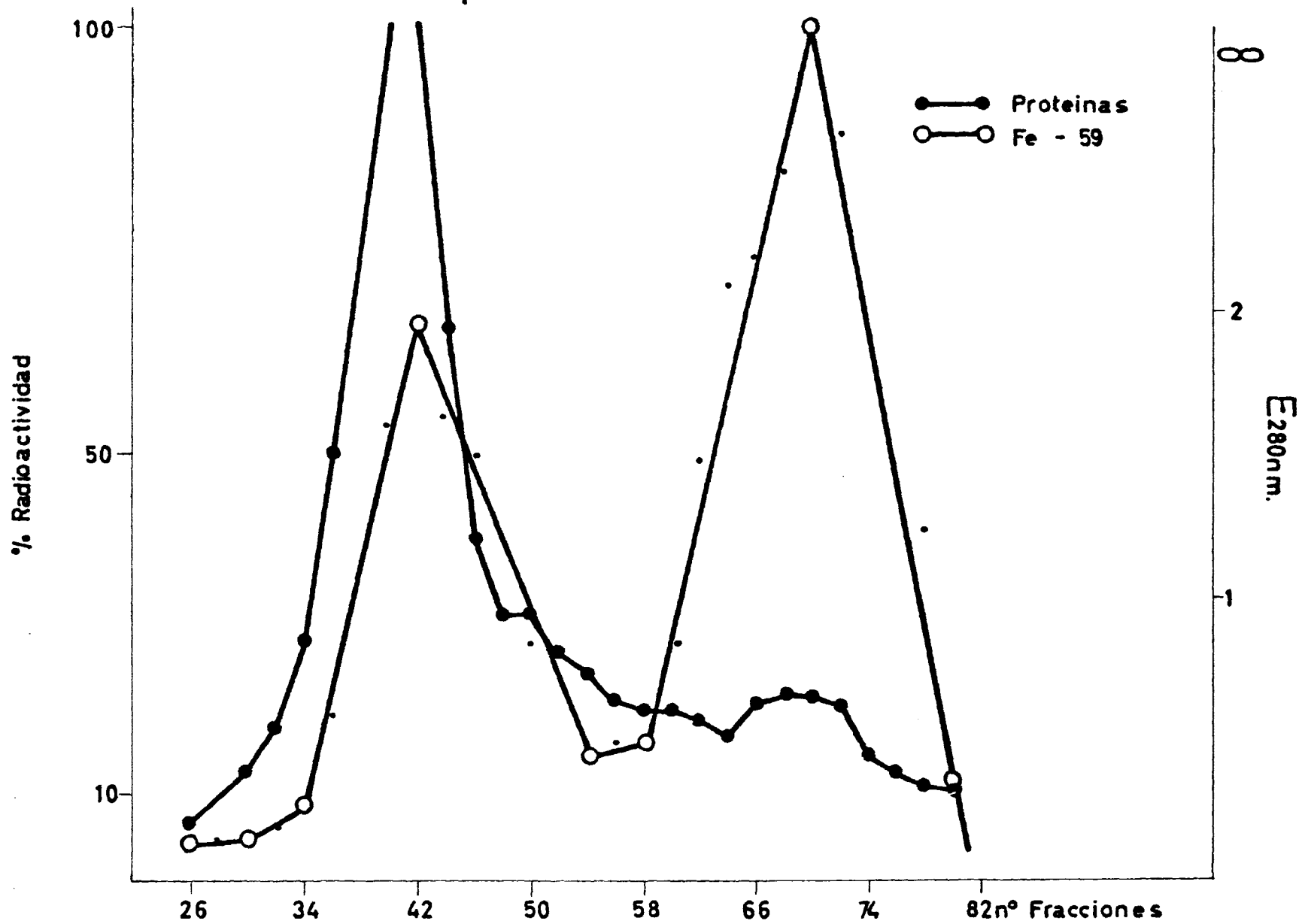


Fig. 14 Gallos a las 96 horas de la primera inyección de estrógenos

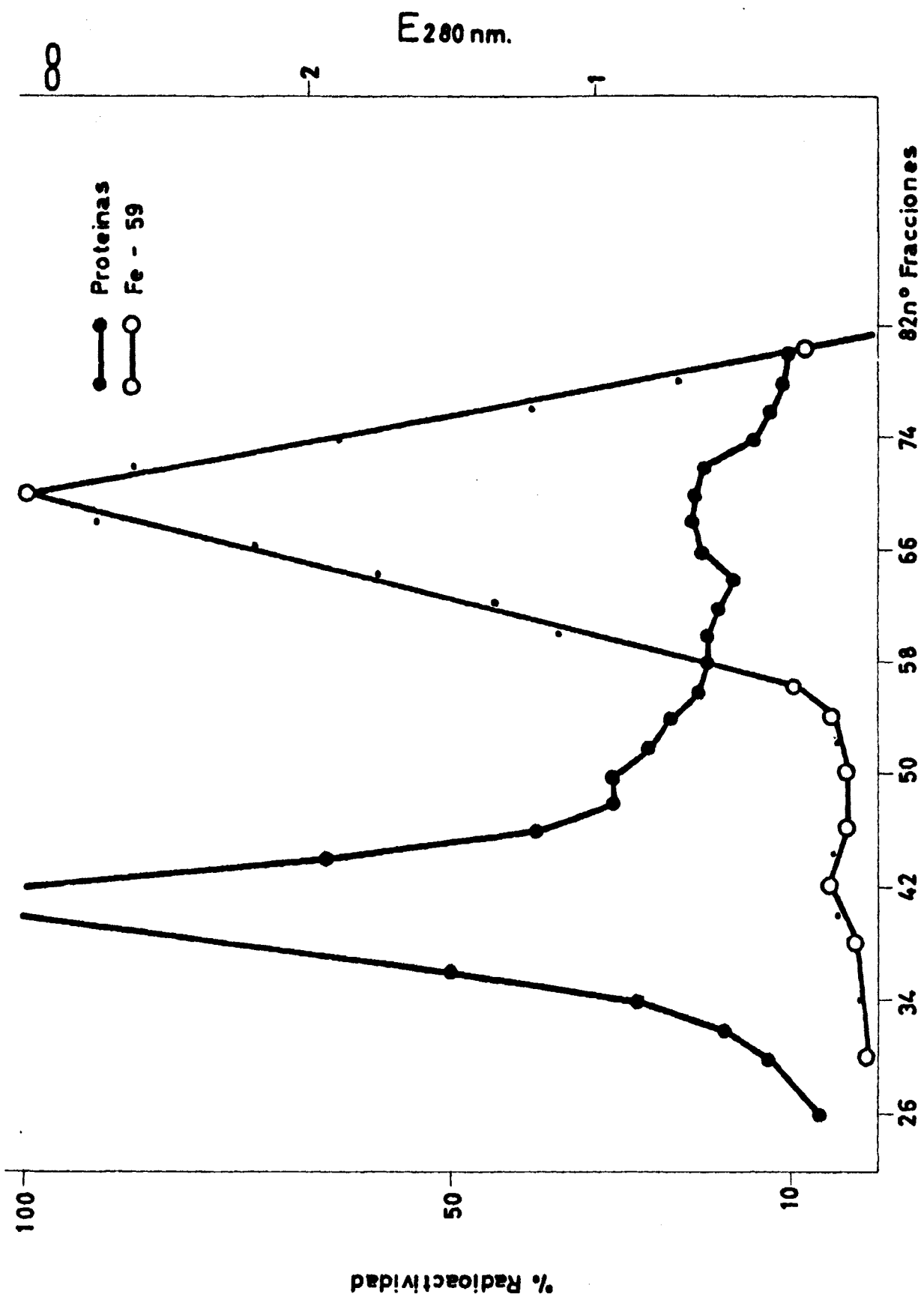


Fig.15 Gallos a las 168 horas de la primera inyección de estrógenos

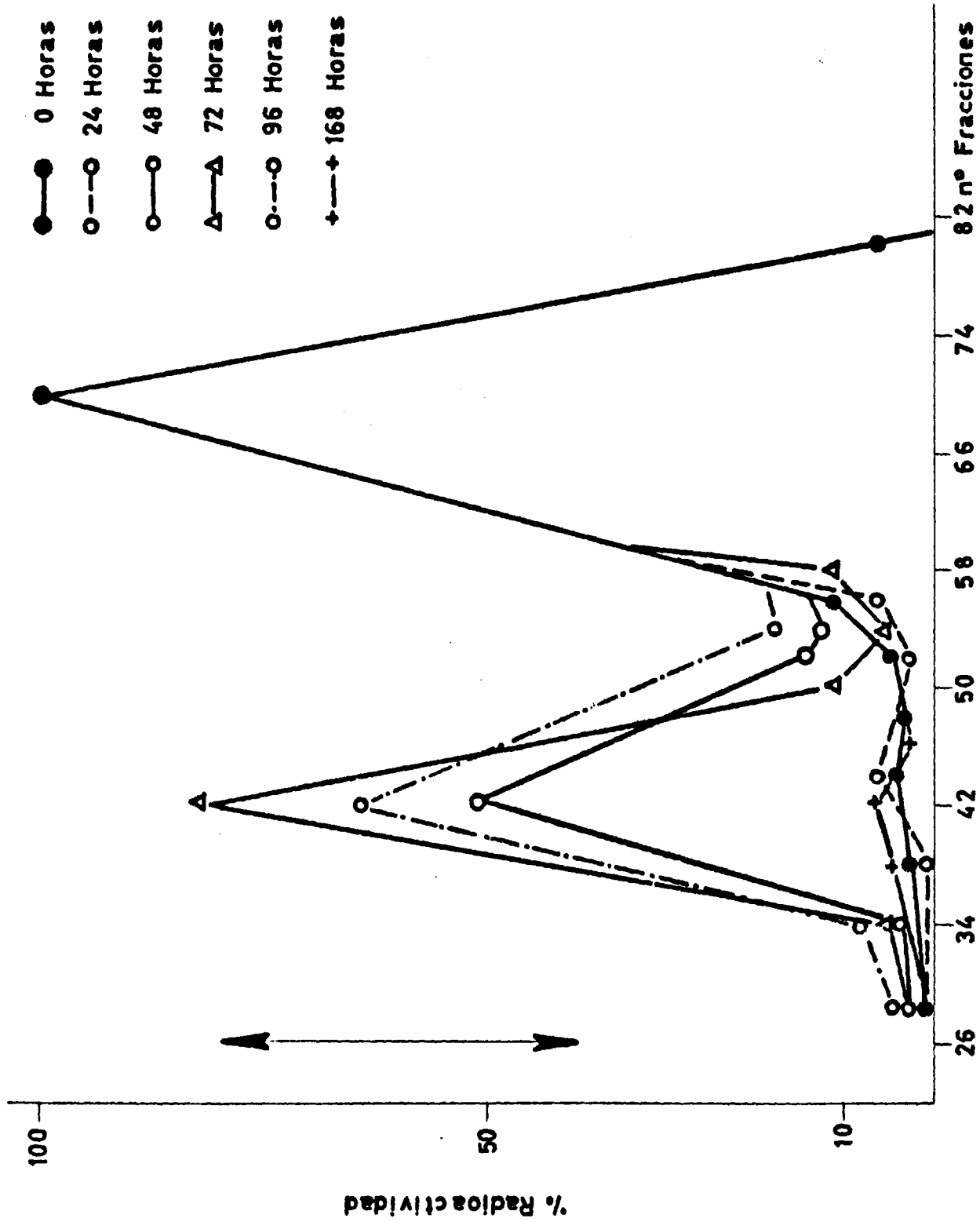


Fig. 16

3.2.3. Mecanismo del transporte del hierro sérico (2º transportador) en gallos estragenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos. Determinación directa del hierro en las fracciones. Tabla LII.

T A B L A N º L I I

VALORES DE LAS CANTIDADES DE HIERRO, OBTENIDOS POR DETERMINACION DIRECTA EN LAS FRACCIONES DE FOSFOPROTEINA Y TRANSFERRINA Y COMPARADOS CON LOS VALORES OBTENIDOS POR LAS TECNICAS DE CARBONATO DE MAGNESIO; TODO ELLO PARA GALLOS ESTROGENIZADOS, DESDE LAS 0-HORAS A LAS 168-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/Kg.).

Horas de la 1ª inyec.	Contenido 1ª Frac. µgFe%	Sid.-Sid. Mg µgFe%	Contenido 2ª Frac. µgFe%	Sideremia Mg µgFe%	Contenido 1+2 Frac. µgFe%	Sideremia µgFe%
0	30	20	133	110	163	130
24	42	35	148	120	290	155
48	91	79	205	184	296	263
72	187	179	398	369	585	548
96	167	149	291	271	458	420
168	36	28	138	119	174	147

4. CORRELACIONES ENTRE PORCENTAJE DE PUESTA, SIDEREMIA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA - (SIDEREMIA-CO₃-Mg) Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA.

Los valores obtenidos cuando se trataba de comprobar si existía, o no, correlación entre los porcentajes de puesta, y los valores de sideremia, sideremia-CO₃Mg, sideremia - (sideremia-CO₃Mg) y (PP), nos indican que existe una buena correlación entre todos ellos; nos dieron siempre valores de r entre 0,98 y 1,0, los cuales proporcionaban valores de p inferiores a 0,001.

En las tablas LIII - LXI, quedan reflejados los valores que se hallaron correlacionando binariamente los parámetros.

Los valores obtenidos son $r=0,99$ y $p < 0,001$ en la

correlación entre porcentajes de puesta y sideremia- CO_3Mg ; $r=0,98$ y $p < 0,001$ en la correlación entre tanto por ciento de puesta y sideremia - (sideremia- CO_3Mg); $r=0,99$ y $p < 0,001$ en la relación entre porcentaje de puesta y (PP); $r=1,00$ y una $p < 0,001$ en la correlación entre sideremia y sideremia- CO_3Mg ; una $r=1,00$ y $p < 0,001$ en la correlación entre sideremia y sideremia- (sideremia- CO_3Mg); $r=0,99$ y $p < 0,001$ en la correlación sideremia y (PP); una $r=1,00$ y $p < 0,001$ en la correlación entre sideremia- CO_3Mg y sideremia - (sideremia- CO_3Mg); y una $r=0,98$ y $p < 0,001$ en la correlación entre sideremia - (sideremia- CO_3Mg) y (PP).

Las correlaciones entre el porcentaje de puesta y la sideremia, la sideremia y la TIBC, y la TIBC y el porcentaje de puesta no fueron calculadas, ya que se trataba de una serie de gallinas tomadas del conjunto de las 20 utilizadas para la experiencia anterior.

T A B L A N^o LIII

CORRELACION ENTRE VALORES DEL PORCENTAJE DE PUESTA Y LOS DE LA SIDEREMIA DE CO₃Mg PARA GALLINAS; EN EL PASO DE INMADURAS (0% DE PUESTA) A MADURAS, CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90 %.

<u>% de PUESTA</u>	<u>SIER.-CO₃Mg μgFe%</u>
0	116
10	166
20	194
35	290
50	310
70	380
80	379
90	401

r= 0,99

t=17,32500

p < 0,001

(N^o de ejemplares en cada caso, 6)

T A B L A N° LIV

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE PUESTA Y LOS DE SIDEREMIA-(SIDEREMIA-CO₃Mg PARA GALLINAS; EN EL PASO DE INMADURAS (0 % DE PUESTA, A MADURAS, CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90 %.

<u>% DE PUESTA</u>	<u>SID.-SID. Mg</u> <u>µgFe%</u>
0	10
10	66
20	79
35	112
50	126
70	202
80	201
90	210

$r = 0,98$

$t = 12,00500$

$p < 0,001$

N° de ejemplares en cada caso (6)

T A B L A N º L V

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE PUESTA Y LOS DE FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA (PP) EN GALLINAS; EN EL PASO DE INMADURAS (0% DE PUESTA) A MADURAS, CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90 %.

<u>% DE PUESTA</u>	<u>(PP) mg%</u>
0	0,4
10	1,8
20	2,2
35	2,9
50	4,2
70	5,3
80	5,6
90	6,2

$r = 0,99$

$t = 17,32500$

$p < 0,001$

Nº de ejemplares en cada caso (6)

T A B L A N° LVI

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE SIDEREMIA Y SIDEREMIA-CO₃Mg EN GALLINAS; EN EL PASO DE INMADURAS(0% DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS, CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90%.

<u>SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$</u>	<u>SIDE.-CO₃Mg $\mu\text{gFe}\%$(transferrina)</u>
125	115
233	166
274	194
402	290
437	310
582	380
580	379
610	401

$r = 1,00$

$t = \infty$

$p < 0,001$

Nº de ejemplares en cada caso (6)

T A B L A N° LVII

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE SIDEREMIA Y LOS DE SIDEREMIA— (SIDEREMIA-CO₃Mg) EN GALLINAS; EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0% DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS, CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90%.

<u>SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$</u>	<u>SID.-SID. $\mu\text{gFe}\%$ (fosfoproteina)</u>
126	10
233	66
274	79
402	112
437	126
582	202
580	201
610	210

$r = 1,00$

$t = \infty$

$p < 0,001$

N° de ejemplares en cada caso (6)

T A B L A N º L V I I I

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE SIDEREMIA Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA EN GALLINAS; EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0 % DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS, CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90 %.

<u>SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$</u>	<u>(PP) mg %</u>
125	0,4
233	1,8
274	2,2
402	2,9
437	4,2
582	5,3
580	5,6
610	6,2

$$r = 0,99$$

$$t = 17,32500$$

$$p < 0,001$$

Nº de ejemplares en cada caso (6)

T A B L A N° LIX

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE SIDEREMIA-CO₃Mg Y SIDEREMIA-(SIDEREMIA-CO₃Mg) EN GALLINAS; EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0% DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS, CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90 %.

<u>SIDEREMIA</u> _{Mg} <u>µgFe%</u>	<u>SID.-SID.</u> _{Mg} (fosfoproteina)
116	10
166	66
194	79
290	112
310	126
380	202
379	201
401	210

$r = 1,00$

$t = \infty$

$p < 0,001$

N° de ejemplares en cada caso (6)

T A B L A N° LX

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE SIDEREMIA—(SIDEREMIA-CO₃Mg) Y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA EN GALLINAS; EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0% DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS, CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90 %.

<u>SID.-SID. Mg μgFe%</u>	<u>(PP) mg.%</u>
10	0,4
66	1,8
79	2,2
112	2,9
126	4,2
202	5,3
201	5,6
210	6,2

$r = 0,98$

$t = 12,00500$

$p < 0,001$

N° de ejemplares en cada caso (6)

T A B L A N° LXI

CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE SIDEREMIA, PORCENTAJE DE PUESTA, SIDEREMIA-CO₃Mg, SIDEREMIA- (SIDEREMIA-CO₃Mg) y FOSFORO DE LA FOSFOPROTEINA; PARA GALLINAS EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0% DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS, CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90%.

0 a 90% de PUESTA --- SIDEREMIA _{Mg} $\mu\text{gFe}\%$	r = 0,99 t = 17,325 p < 0,001
0 a 90% de PUESTA --- SID.-SID. _{Mg} $\mu\text{gFe}\%$	r = 0,98 t = 12,005 p < 0,001
0 a 90% de PUESTA. --- (PP) mg.%	r = 0,99 t = 17,325 p < 0,001
SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$ --- SIDEREMIA _{Mg} $\mu\text{gFe}\%$	r = 1,00 t = ∞ p < 0,001
SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$ --- SID.-SID. _{Mg} $\mu\text{gFe}\%$	r = 1,00 t = ∞ p < 0,001
SIDEREMIA $\mu\text{gFe}\%$ --- (PP) mg.%	r = 0,99 t = 17,325 p < 0,001
SIDEREMIA _{Mg} $\mu\text{gFe}\%$ -- SID.-SID. _{Mg} $\mu\text{gFe}\%$	r = 1,00 t = ∞ p < 0,001
SID.-SID. _{Mg} ----- (PP) mg.%	r = 0,98 t = 12,005 p < 0,001

5. RENOVACION DEL HIERRO PLASMATICO . ("TURNOVER").

- 5.1. En gallinas, en su paso de pollitas inmaduras (0% de puesta) a gallinas maduras.
- 5.2. En gallos estrogenizados, desde las 0-horas hasta las 168-horas de la primera inyección de estrógenos.

Un aspecto complementario de nuestro trabajo fue calcular el índice de renovación del hierro plasmático ("Turnover") en relación con el desencadenamiento de la puesta y su progresiva ascensión. Ya otros autores (6) (30) (37) (46), habían realizado estudios de "turnover" en gallinas en puesta, pero nunca se había hecho este estudio partiendo de pollitas inmaduras, y siguiéndolas durante el desencadenamiento de la puesta hasta que alcanzaban la ma

durez.

Para realizar este trabajo, nos trasladamos a la granja situada en Villamayor. El control, mantenimiento y extracción de muestras fue realizado según se indica en el apartado (13) de material y métodos. El nº de ejemplares utilizados fue de 36.- Para la obtención de los datos experimentales, se tomaron 6 ejemplares distintos cada vez; no podía hacerse siempre sobre los mismos pues conservaban algo de radioactividad de una vez para otra, y esto hacía que nuestros datos no fueran reales.

Los resultados obtenidos quedan reflejados en las tablas LXII a LXVII. Se ve como los valores del tiempo medio ($T_{1/2}$) de renovación del hierro plasmático varían desde 28 min. para las pollitas inmaduras (0% de puesta) hasta 108 min. para las gallinas con más del 90% de puesta; los valores de PIT varían desde 2,330 ugFe/día, para pollitas inmaduras, a 5.130 μ gFe/día para gallinas con una puesta superior al 90%.

Para calcular los datos de $T_{1/2}$ y PIT, era necesario conocer el volumen plasmático, la sideremia y el hematocrito. Con estos datos, se pudo comprobar, nuevamente, cómo aumenta la sideremia cuanto más acusado es el régimen de la puesta; sienti

do los valores hallados: 274 $\mu\text{g Fe}\%$, para el 0% de puesta y 625 $\mu\text{g Fe}\%$. cuando la puesta alcanzaba los valores más altos. Para el volumen plasmático, los valores, en los distintos porcentajes de puesta, fueron aumentando según iba creciendo ésta, y el hemato - crito se mantuvo, más o menos, constante. Como complemento se calculó la TIBC, y se volvieron a obtener valores ascendentes, al aumentar los porcentajes de puesta: variando desde 274 $\mu\text{g Fe}\%$ a 575 $\mu\text{g Fe}\%$.

La figura 18 corresponde a la representación gráfica de los valores del tanto por ciento de radioactividad frente a distintos tiempos: 15, 30, 60, y 120 minutos. Como puede observarse, se obtiene un haz de rectas cuyas pendientes (negativas) decrececen, en valor absoluto, al aumentar el porcentaje de puesta; va apareciendo una representación en abanico.

Fue realizado el mismo estudio en gallos estrogenizados con benzoato de estradiol (5 mg.kg de peso) durante dos días consecutivos. En este caso, se obtuvieron valores de ascendentes y decrecientes.

Los resultados para gallos quedan reflejados en

las tablas LXIX a LXXV. La representación gráfica (figura 20) muestra que las dos experiencias fueron prácticamente iguales obteniéndose igualmente un haz de rectas en abanico.

- - -

5.1. RENOVACION DEL HIERRO PLASMATICO, "TURNOVER",
EN GALLINAS, EN SU PASO DE POLLITAS INMADURAS A
GALLINAS MADURAS. LOS RESULTADOS SE MUESTRAN
EN LAS TABLAS LXII A LA LXVII; LA TABLA LXVII, Y
LAS FIG. 17 Y 18 SON EL RESUMEN DE LAS TABLAS AN
TERIORES.

T A B L A N° LXII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLINAS INMADURAS, 0% DE PUESTA (20 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema tocri to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1,320	106	298	28	2.560	67,63	98,01	31	70,12	50,08	22,18	5,52
2	1,030	103	269	25	2.670	64,94	94,12	31	74,36	45,34	18,85	4,24
3	1,140	89	248	27	2.120	64,32	94,59	32	70,47	48,74	24,31	5,30
4	1,270	104	259	35	1.940	65,36	94,72	31	74,97	47,64	25,54	6,84
5	1,060	100	300	27	2.270	61,43	89,03	31	70,49	46,85	19,34	5,16
6	1,102	102	274	26	2.480	63,24	91,65	31	71,80	48,54	22,01	5,41
M.		100,67	274,67	28,00	2.330	64,49	93,69	31,17	72,04	47,87	22,04	5,41
D.St.		±6,06	±20,86	±3,58	±0,28	±2,09	±3,05	±0,41	±2,13	±1,65	±2,64	±0,84
E.St.		±2,47	±8,51	±1,46	±0,11	±0,85	±1,25	±0,17	±0,87	±0,67	±1,08	±0,34

T A B L A N° LXIII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T1/2, PIT, VOLUMEN PLASMÁTICO Y SANGUÍNEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 10-20% (23 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. N°	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- tocri- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.093	205	409	38	3.270	60,72	89,29	32	70,79	46,40	26,00	12,00
2	1.102	201	331	32	3.840	61,24	91,40	33	70,98	49,63	27,51	8,11
3	1.204	259	378	40	3.970	61,47	94,57	35	75,34	61,33	36,88	12,84
4	1.113	230	393	35	3.950	60,23	87,29	31	72,29	55,00	33,62	10,24
5	1.034	228	340	36	3.820	60,39	88,81	32	71,18	52,36	30,26	9,42
6	1.214	241	280	37	3.980	61,24	91,40	33	72,92	58,00	34,15	11,48
M.		227,33	355,17	36,33	3.810	60,88	90,46	32,67	72,26	53,79	31,40	10,68
D.St.		±21,86	±47,57	±2,73	±0,27	±0,51	±2,56	±1,37	±1,73	±5,48	±4,19	±1,76
E.St.		±8,92	±19,42	±1,12	±0,11	±0,21	±1,05	±0,56	±0,71	±2,24	±1,71	±0,72

T A B L A N° LXIV

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 25-40 % (25 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- tocri- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.027	370	470	50	6.660	90,16	130,67	31	77,22	59,31	42,04	20,39
2	1.136	359	400	76	4.620	97,98	139,97	30	86,58	71,85	55,34	24,65
3	1.050	387	458	60	3.060	47,50	71,97	34	86,79	67,52	51,86	27,91
4	1.132	350	430	63	3.590	64,72	95,18	32	85,34	72,84	52,61	28,50
5	1.084	392	486	61	4.130	64,32	96,00	33	85,21	75,04	52,12	29,46
6	1.202	316	489	75	3.670	87,18	128,21	32	85,19	70,18	55,15	26,28
M.		362,33	455,50	64,17	4.290	75,31	110,33	32,00	84,38	69,46	51,52	26,20
D.St.		±27,78	±34,64	±9,87	±1,28	±19,40	±26,53	±1,41	±3,58	±5,58	±4,88	±3,32
E.St.		±11,34	±14,14	±4,03	±0,52	±7,92	±10,83	±0,58	±1,46	±2,28	±11,95	±1,36

T A B L A N º L X V

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 45-60 % (26 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- tocri- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.102	400	450	51	5.040	64,33	96,01	33	87,78	67,01	50,18	37,72
2	1.350	463	478	78	3.990	67,30	103,54	35	86,85	67,24	60,01	44,28
3	1.103	480	498	81	4.850	82,03	118,88	31	90,55	77,19	60,99	37,47
4	1.024	454	580	78	3.710	63,91	93,99	32	92,75	79,27	59,82	35,41
5	1.084	491	502	77	4.710	73,97	108,78	32	87,67	72,70	57,01	35,13
6	1.224	485	595	82	5.100	86,45	127,13	32	90,32	72,24	51,21	41,03
M.		462,17	517,17	74,50	4.570	73,00	108,06	32,50	89,30	72,61	56,54	38,50
D.St.		±33,47	±57,70	±11,67	±0,58	±9,53	±13,00	±1,38	±2,27	±5,06	±4,73	±3,53
E.St.		±13,06	±23,55	±4,77	±0,24	±3,89	±5,31	±0,56	±0,93	±2,04	±1,93	±1,44

T A B L A N° LXVI

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLINAS CON UNA PUESTA DEL 60-80% (27 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- tocri- to.	Aclaramiento (% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	940	554	596	104	4.900	92,22	133,65	31	96,06	84,06	65,04	44,98
2	1.132	594	584	96	4.760	77,04	111,65	31	91,88	81,98	68,62	43,43
3	1.320	595	605	97	4.850	79,26	116,56	32	93,12	81,47	66,66	43,80
4	1.075	595	524	95	5.030	80,45	118,31	32	90,77	84,82	65,00	43,04
5	1.136	589	500	95	4.510	72,91	108,82	33	97,08	81,42	65,49	48,22
6	1.042	520	636	95	4.540	83,17	120,54	31	90,26	81,35	67,86	42,94
M.		574,50	574,17	97,00	4.770	80,84	118,25	31,67	93,26	82,52	66,44	44,40
D.St.		±31,05	±51,71	±3,52	±0,20	±6,56	±8,69	±0,82	±2,71	±1,53	±1,53	±2,01
E.St.		±12,67	±21,30	±1,44	±0,08	±2,68	±3,55	±0,33	±1,11	±0,62	±0,62	±0,82

T A B L A N º L X V I I

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLINAS CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90% (29 SEMANAS DE EDAD).

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24 h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- tocri- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.239	650	590	127	4.660	91,13	132,07	31	95,84	81,20	72,17	52,90
2	1.089	600	559	95	5.070	80,45	118,31	32	94,75	85,84	67,80	51,10
3	1.125	667	525	100	5.340	80,19	116,22	31	93,78	83,68	66,05	46,55
4	1.324	620	648	112	5.090	92,08	133,45	31	98,02	80,42	68,02	50,40
5	1.202	618	593	105	5.300	90,24	134,69	33	97,23	81,02	66,40	49,32
6	1.167	634	536	109	5.330	91,83	135,04	32	96,57	82,24	69,30	50,02
M.		631,50	575,17	108,00	5.130	87,65	128,30	31,67	96,03	82,40	68,29	50,04
D.St.		±24,15	±45,07	±11,14	±0,26	±5,72	±18,63	±0,82	±1,57	±2,03	±2,23	±2,10
E.St.		±9,86	±18,40	±4,55	±0,11	±2,33	±3,52	±0,33	±0,64	±0,83	±0,91	±0,86

T A B L A N° LXVIII

VALORES MEDIOS Y DESVIACIONES STANDARD DE SIDEREMIA, TIBC, T1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLINAS; EN EL PASO DE POLLITAS INMADURAS (0 % DE PUESTA) A GALLINAS MADURAS CON UNA PUESTA SUPERIOR AL 90%.

% Puesta	Sidere. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24 h.	Volumen Plasma sangre ml.		Hema- tocri- to	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
								15	30	60	120
0%	100,67 ±6,06	274,67 ±20,86	28,00 ±3,58	2.330 ±0,28	64,49 ±2,09	93,69 ±3,05	31,17 ±0,41	72,04 ±2,13	47,87 ±1,65	22,04 ±2,64	5,41 ±0,84
10 - 20%	227,33 ±21,86	355,17 ±47,57	36,33 ±2,73	3.810 ±0,27	60,88 ±0,51	90,46 ±2,56	32,67 ±1,37	72,26 ±1,73	53,79 ±5,48	31,40 ±4,19	10,68 ±1,76
25 - 40%	362,33 ±27,78	455,50 ±34,64	64,17 ±9,87	4.290 ±1,28	75,31 ±19,40	110,33 ±26,35	32,00 ±1,41	84,38 ±3,58	69,46 ±5,58	51,52 ±4,88	26,20 ±3,32
45 - 60%	462,17 ±33,47	517,17 ±57,70	74,50 ±11,67	4.570 ±0,58	73,00 ±9,53	108,06 ±13,00	32,50 ±1,38	89,30 ±2,27	72,61 ±5,01	56,54 ±4,73	38,50 ±3,53
60 - 80%	574,50 ±31,05	574,17 ±51,71	97,00 ±3,52	4.770 ±0,20	80,84 ±6,56	118,25 ±8,69	31,67 ±0,82	93,26 ±2,71	82,52 ±1,53	66,44 ±1,53	44,40 ±2,01
90%	631,50 ±24,15	575,17 ±45,07	108,00 ±11,14	5.130 ±0,26	87,65 ±5,72	128,30 ±8,63	31,67 ±0,82	96,03 ±1,57	82,40 ±2,03	68,29 ±2,23	50,04 ±2,10

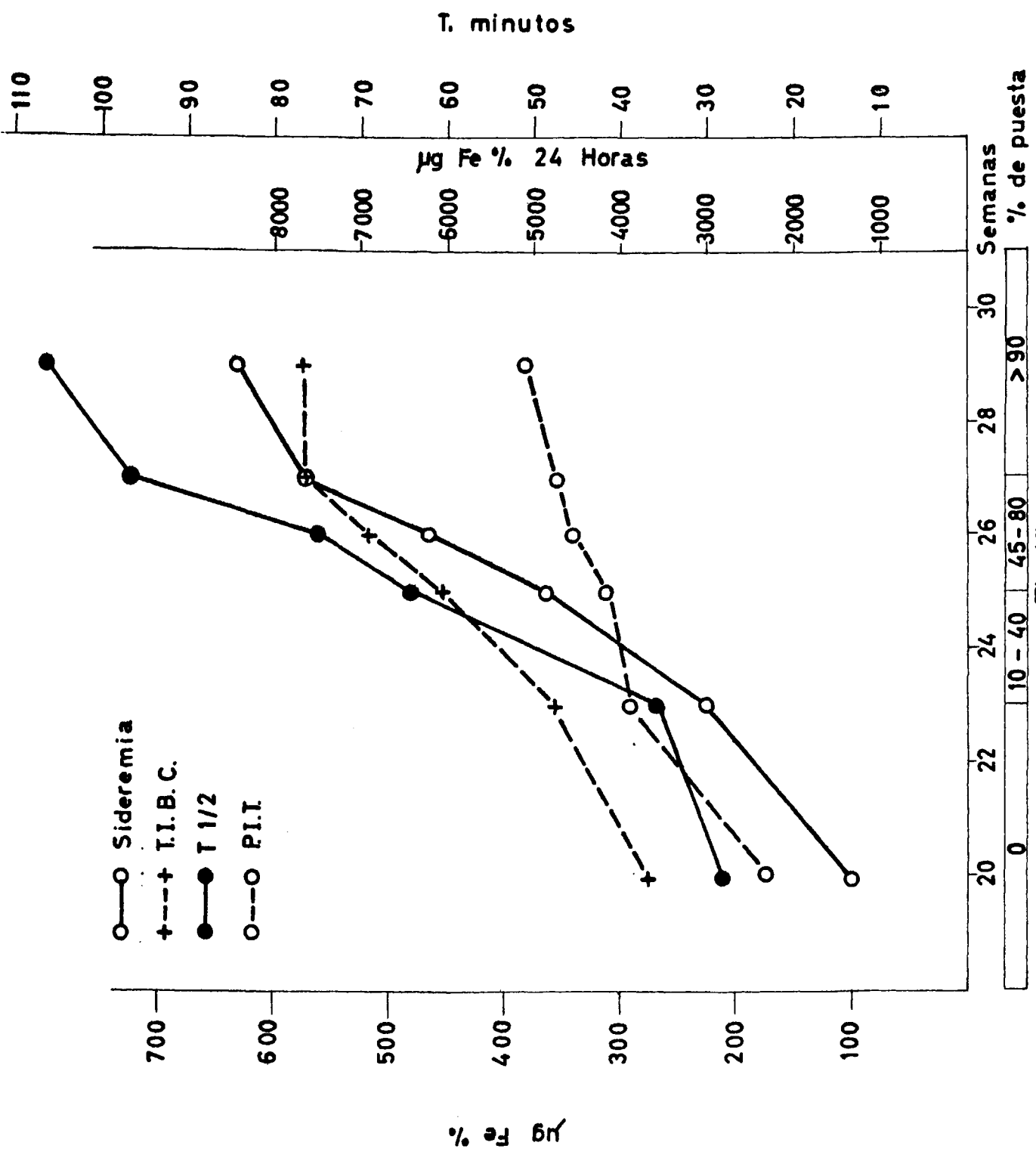


Fig.17

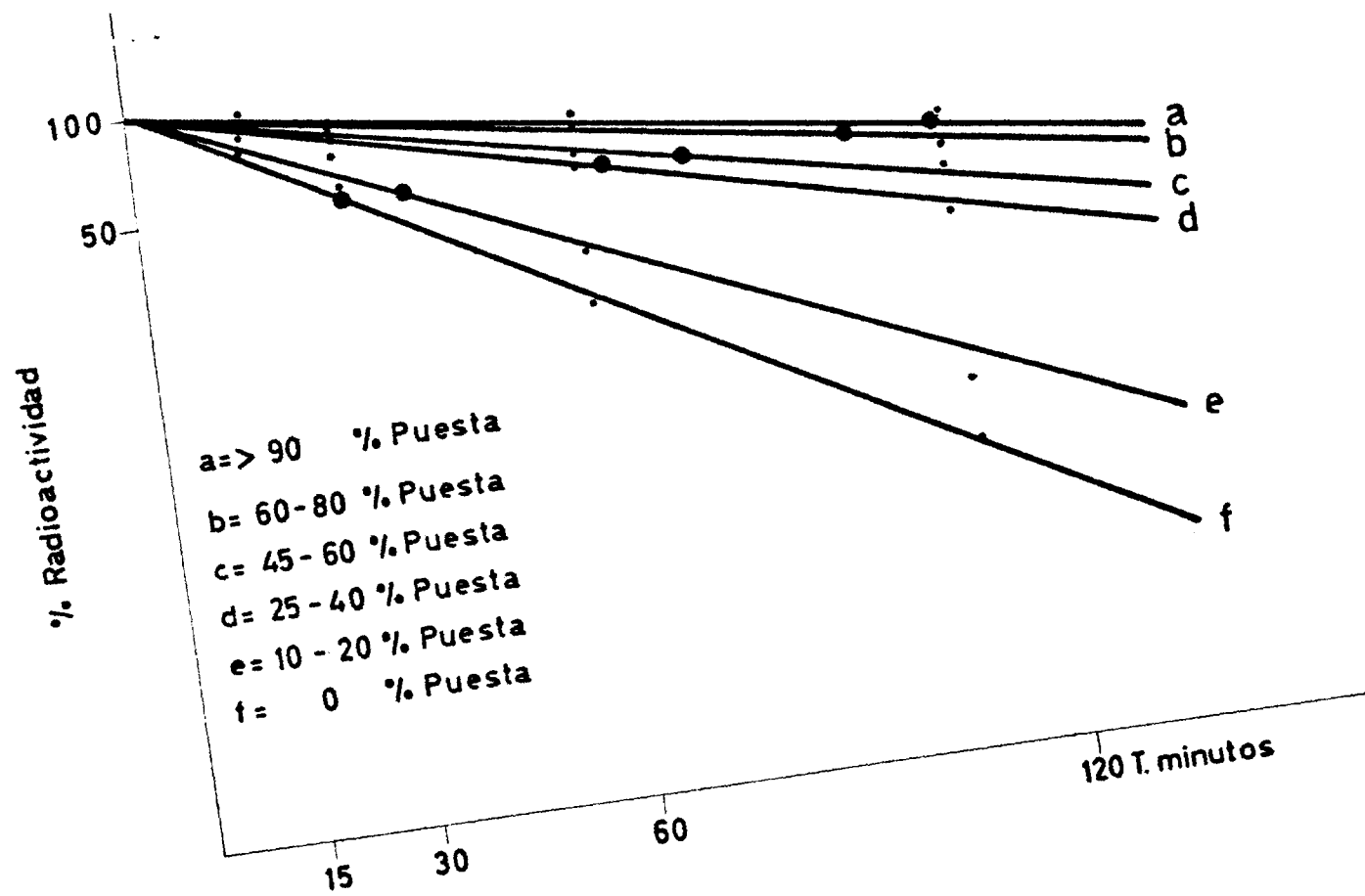


Fig. 18

5.2. RENOVACION DEL HIERRO PLASMATICO "TURNOVER" EN GALLOS ESTROGENIZADOS; DESDE LAS 0-HORAS HAS - TA LAS 168 -HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS. LOS RESULTADOS OBTENIDOS QUEDAN REFLEJADOS EN LAS TABLAS LXIX A LXXIV, Y LA TABLA LXXV Y LAS FIG. 19 Y 20 REPRESENTAN EL RESUMEN DE LAS TABLAS ANTERIORES.

T A B L A N º L X I X

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T 1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLOS, A LAS 0-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/Kg.).

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe ⁻⁵ 24 h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- tocri- to.	Aclaramiento(% radioac,) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.180	122	204	29	2.310	55,10	81,03	32	72,42	46,33	21,60	4,78
2	980	115	245	27	2.440	57,32	83,07	31	70,90	49,90	29,94	6,14
3	1.050	110	250	28	2.210	56,24	81,51	31	71,23	48,02	25,34	5,32
4	1.132	117	238	26	2.530	56,22	81,48	31	73,24	47,32	24,49	4,96
5	1.281	113	276	27	2.350	56,34	82,85	32	71,64	48,39	23,60	5,02
6	1.121	119	264	29	2.350	57,28	83,01	31	72,56	47,22	25,28	5,24
M.		116,00	246,17	27,67	2.360	56,42	82,16	31,33	71,99	47,86	25,04	5,24
D.St.		± 4,29	±24,77	±1,21	±0,11	±0,82	±0,912	±0,52	±0,89	±1,22	±2,77	±0,48
E.St.		±1,71	±10,11	±0,49	±0,04	±0,33	±0,37	±0,21	±0,36	±0,50	±1,13	±0,20

T A B L A N^o L X X

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T_{1/2}, PIT, VOLUMEN PLASMÁTICO Y SANGUÍNEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLOS, A LAS 24-HORAS DE LA PRIMERA INYECCIÓN DE ESTROGENOS. DESPUÉS DE LA TOMA DE SANGRE, SE INYECTABA UNA NUEVA DOSIS DE ESTROGENOS (5 mg./Kg.).

Ejem. N ^o	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T _{1/2} min.	PIT µgFe% 24 h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- tocri- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.150	175	277	39	2.930	65,50	90,32	32	75,03	51,94	34,19	10,55
2	1.100	138	226	37	2.550	68,51	97,87	30	70,56	54,70	35,97	10,89
3	1.465	150	258	36	2.890	69,57	103,84	33	69,23	52,90	33,94	9,07
4	1.136	154	294	37	2.820	67,86	98,35	31	71,67	53,20	34,43	10,17
5	1.210	160	312	38	2.870	68,21	100,31	32	73,04	54,37	35,02	10,62
6	1.149	167	287	36	3.070	66,38	97,62	32	72,31	54,02	33,87	9,24
M.		157,33	275,67	37,17	2.860	67,67	98,05	31,67	71,97	53,52	34,57	10,09
D.St.		±13,05	±30,22	±1,17	±0,17	±1,48	±4,44	±1,03	±2,01	±1,03	±0,80	±0,76
E.St.		±5,33	±12,33	±0,48	±0,07	±0,60	±1,81	±0,42	±0,82	±0,42	±0,33	±0,31

T A B L A N° LXXI

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T 1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLOS, A LAS 48-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENO (5 mg./Kg.):

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24 h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- toci- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.197	370	422	65	5.600	98,61	145,01	32	83,04	66,22	48,12	25,64
2	1.050	244	334	67	3.160	87,06	124,37	30	87,29	71,86	58,12	19,83
3	910	337	456	64	5.340	101,62	147,28	31	87,07	74,69	56,87	20,12
4	1.237	299	340	65	4.400	95,80	138,84	31	85,80	70,92	52,78	21,86
5	1.168	283	416	64	4.080	92,34	135,79	32	87,39	74,31	58,42	24,27
6	1.143	320	370	66	4.660	96,22	139,45	31	82,93	66,13	50,24	19,72
M.		308,83	389,67	65,17	4.540	95,28	138,46	31,17	85,58	70,69	54,09	21,91
D.St.		±43,88	±47,18	±1,17	±0,88	±5,07	±8,09	±0,75	±2,09	±3,78	±4,36	±2,52
E.St.		±17,91	±20,07	±0,48	±0,36	±2,07	±3,30	±0,31	±0,85	±1,54	±1,78	±1,03

T A B L A N° LXXII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T 1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLOS, A LAS 72-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg./Kg.).

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24 h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- tocri- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.100	660	600	98	6.530	97,12	140,76	31	90,22	79,04	64,87	51,22
2	1.180	665	605	95	7.430	106,29	156,31	32	93,37	80,00	68,85	49,74
3	1.050	633	638	99	6.150	96,39	139,70	31	91,02	79,00	65,42	48,29
4	1.134	527	480	97	5.420	99,93	144,83	31	95,64	79,57	68,16	50,47
5	1.248	618	573	99	6.500	104,36	153,47	32	94,54	79,35	66,37	49,75
6	1.169	681	573	96	6.830	96,52	141,94	32	93,32	80,24	64,82	48,97
M.		630,67	578,17	97,33	6.480	100,10	146,17	31,50	93,02	79,53	66,41	49,74
D.St.		±55,65	±53,79	±1,63	±0,67	±4,29	±7,03	±0,55	±2,06	±0,50	±1,72	±1,04
E.St.		±22,71	±21,96	±0,67	±0,27	±1,75	±2,87	±0,22	±0,84	±0,20	±0,70	±0,42

T A B L A N° LXXIII

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T 1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLOS, A LAS 96-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg./Kg.).

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24 h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- toci- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.320	543	516	85	5.490	86,11	124,80	31	91,20	81,34	66,98	40,28
2	1.048	515	551	82	5.200	83,02	118,60	30	89,34	75,42	56,38	32,56
3	1.124	537	501	78	5.800	84,43	122,36	31	90,45	80,52	61,24	39,76
4	1.243	540	445	84	5.360	83,55	122,87	32	91,94	82,21	65,31	41,31
5	1.129	578	458	81	6.020	84,52	122,49	31	90,33	79,04	61,53	37,53
6	1.230	556	483	79	5.840	83,12	120,46	31	89,43	76,42	57,93	33,68
M.		544,83	475,67	81,50	5.620	84,12	121,93	31,00	90,44	79,15	61,56	37,52
D.St.		±20,99	±28,93	±2,74	±0,33	±1,16	±2,14	±0,63	±1,00	±2,73	±4,08	±3,64
E.St.		±8,57	±11,81	±1,12	±0,13	±0,47	±0,87	±0,26	±0,41	±1,11	±1,66	±1,48

T A B L A N° LXXIV

VALORES INDIVIDUALES DE SIDEREMIA, TIBC, T 1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLOS, A LAS 168-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg_i/Kg.).

Ejem. Nº	Peso gr.	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24 h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- toci- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
									15	30	60	120
1	1.082	148	240	29	3.680	72,23	107,81	33	81,24	52,07	30,71	7,03
2	1.206	136	255	32	3.020	71,12	103,07	31	75,04	43,25	21,84	6,99
3	1.102	145	219	31	3.240	69,43	100,62	31	80,32	49,81	25,32	6,55
4	1.103	141	225	31	3.240	71,41	105,01	32	81,35	52,58	29,49	7,24
5	1.008	161	219	30	3.800	70,93	102,80	31	78,86	46,38	25,90	6,86
6	1.321	125	240	29	2.970	69,13	100,19	31	75,42	44,51	21,74	6,67
M.		142,67	235,00	30,33	3.330	70,70	103,25	31,50	78,70	48,43	25,83	6,89
D.St.		±12,08	±14,41	±1,21	±0,34	±1,19	±2,84	±0,84	±2,83	±3,86	±3,74	±0,25
E.St.		±4,93	±5,88	±0,49	±0,14	±0,48	±2,84	±0,34	±1,15	±1,57	±1,52	±0,11

T A B L A N º L X X V

VALORES MEDIOS Y DESVIACIONES STANDARD DE SIDEREMIA, TIBC, T 1/2, PIT, VOLUMEN PLASMATICO Y SANGUINEO, HEMATOCRITO Y ACLARAMIENTO PARA GALLOS ESTROGENIZADOS; DESDE LAS 0-HORAS HASTA LAS 168-HORAS DE LA PRIMERA INYECCION DE ESTROGENOS (5 mg/Kg.).

Horas	Sid. µgFe%	TIBC µgFe%	T1/2 min.	PIT µgFe% 24 h.	Volumen plasma sangre ml.		Hema- toci- to.	Aclaramiento(% radioac.) (minutos)			
								15	30	60	120
0 -Horas	116,00	246,17	27,67	2.360	56,42	82,17	31,33	71,99	47,86	25,04	5,24
	±4,29	±24,77	±1,21	±0,11	±0,82	±0,92	±0,52	±0,89	±1,22	±2,77	±0,48
24-Horas	157,33	275,67	37,17	2.860	67,67	98,05	31,67	71,97	53,52	34,57	10,09
	±13,05	±30,22	±1,17	±0,17	±1,48	±4,44	±1,03	±2,01	±1,03	±0,80	±0,76
48-Horas	308,83	389,67	65,17	4.540	95,28	138,46	31,17	85,58	70,69	54,09	31,91
	±43,88	±49,18	±1,17	±0,88	±5,07	±8,09	±0,75	±2,09	±3,78	±4,36	±2,52
72-Horas	630,67	578,17	97,33	6.480	100,10	146,17	31,50	93,02	79,53	66,41	49,74
	±55,65	±53,79	±1,63	±0,67	±4,29	±7,03	±0,55	±2,06	±0,50	±1,72	±1,04
96-Horas	544,83	475,67	81,50	5.620	84,17	121,93	31,00	90,44	79,15	65,56	37,52
	±20,99	±28,93	±2,74	±0,32	±1,16	±2,14	±0,63	±1,00	±2,73	±4,08	±3,64
168-Horas	142,67	235,00	30,33	2.330	70,70	103,25	31,50	78,70	48,43	25,83	6,89
	±12,08	±14,41	±1,21	±0,34	±1,19	±2,84	±0,84	±2,83	±3,86	±3,74	±0,25

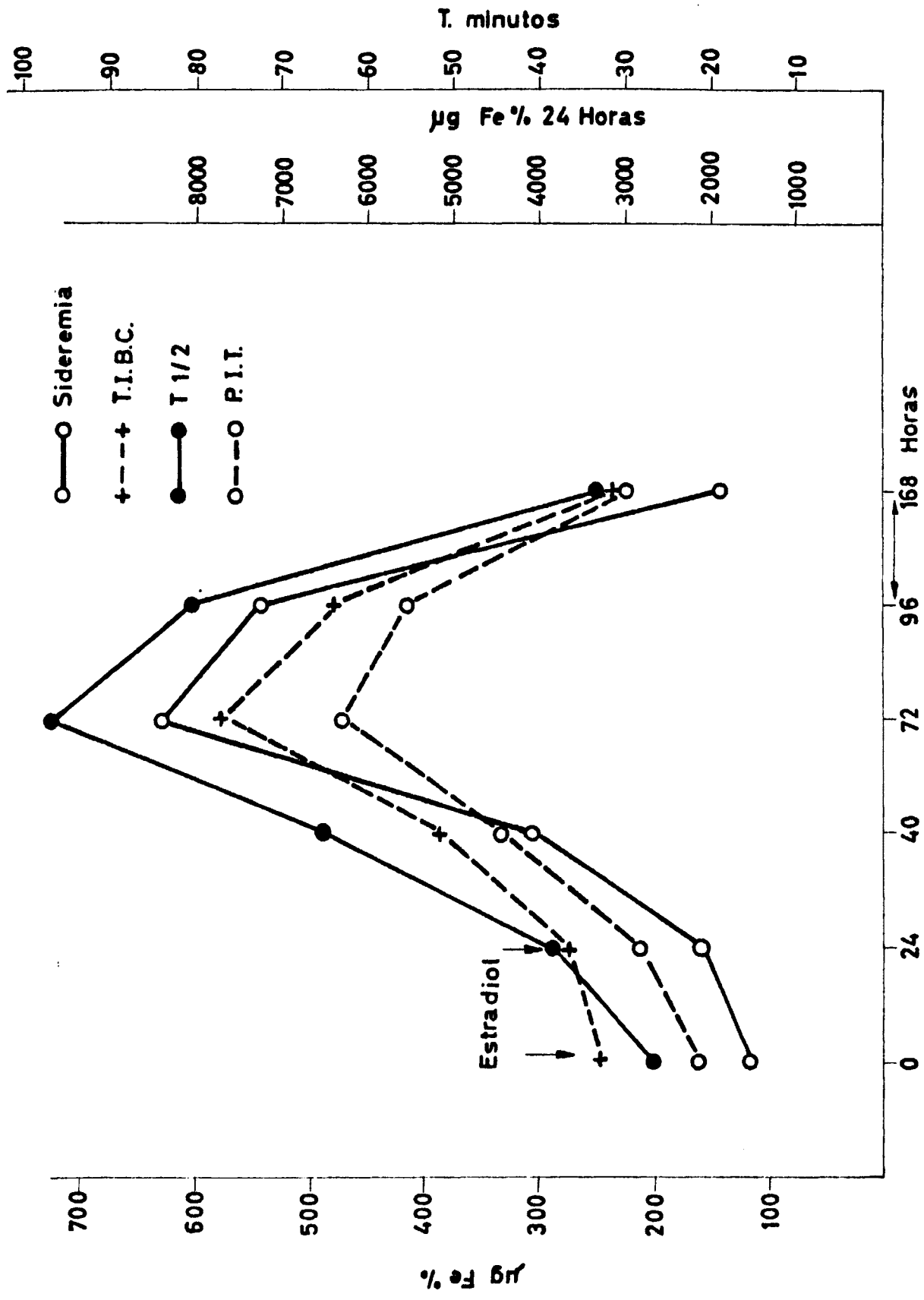


Fig.19

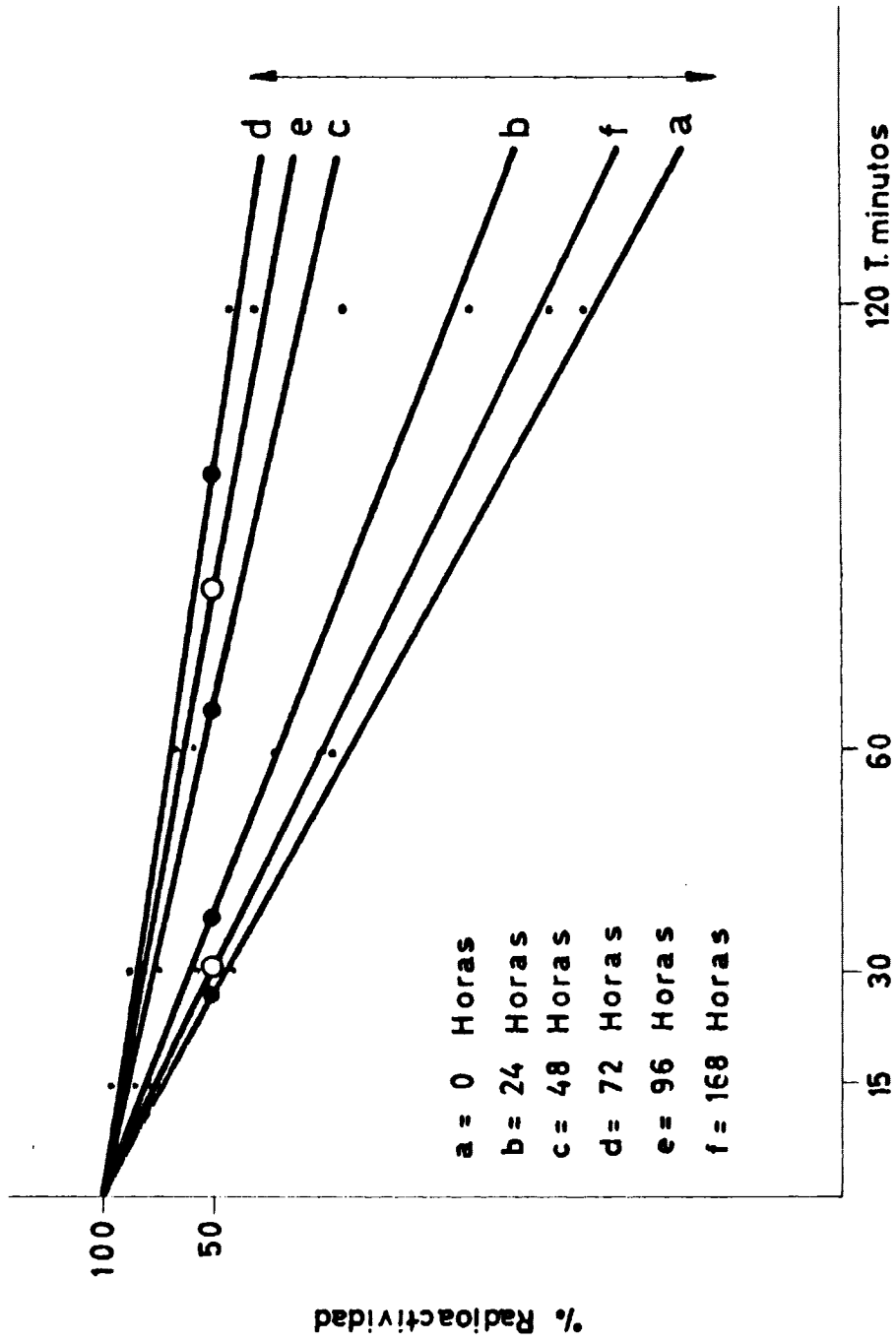


Fig. 20

DISCUSSION

RAMSAY y CAMPBELL (45) fueron los primeros en observar que el hierro sérico de las aves sufría grandes variaciones; oscilando sus sideremias entre 500-900 $\mu\text{gFe}\%$ y 100-250 $\mu\text{gFe}\%$, según estuvieran, o no, en puesta. Posteriormente, se sucedieron una serie de investigaciones para tratar de explicar este fenómeno. Nosotros, con nuestro estudio, pretendemos aportar una serie de datos que tratan de comprobar algunas hipótesis dadas para el mecanismo del transporte del hierro en las aves.

Primeramente, nos fijamos en los datos que relacionaban las sideremias y las TIBC. PLANAS y CASTRO (38), ponen de manifiesto el hecho de que, en las aves en época de puesta, los valores de las sideremias son tan altos que la transferrina no es capaz de soportar este aumento y, por tanto, es incapaz de transportarlo. Una vez que comprobamos este hecho, nos pareció de inte

rés ver cómo evolucionaban estos dos parámetros, desde que la gallina era inmadura (no ponía) hasta que alcanzaba las puestas más elevadas. Se obtuvieron datos que confirmaban el hecho, señalado por PLANAS y CASTRO (38), de que en las aves, cuando están en puesta, los valores de la TIBC son inferiores a los de las sideremias; haciéndose imposible el transporte total del hierro por la transferrina. Sin embargo su diferencia no era tan grande como apuntaban estos autores; pues, cuando sube la sideremia, también lo hace la TIBC pero de un modo más paulatino.

Pudimos deducir también que el hecho de que algunos autores, como PLANAS y CASTRO (38), obtuvieran valores tan distintos como $400 \mu\text{gFe}\%$ o $700 \mu\text{gFe}\%$, para la sideremia de aves que estaban en puesta, era debido a que las tomas de sangre para las muestras correspondían a tantos por ciento de puesta distintos. Por último, según nuestros resultados, parece ser que la sideremia sobrepasa a la TIBC únicamente a partir de un tanto por ciento de puesta variable entre el 40-50 %.

Estos resultados comprueban la necesidad, ya apuntada por PLANAS y CASTRO (38) y PLANAS y RECIO (41), de un segundo transportador en vista de ello, nos decidimos por la lí-

nea de identificar este segundo transportador y ver su mecanismo de acción. En los trabajos de ALI y RAMSAY (1), (2), aparece una hipótesis sobre quién podría ser este segundo transportador; según ellos, sería una fosfoproteína: la fosvitina (proteína de la clara de huevo), y no la conalbúmina, descrita años antes por MARTIN-MATEO y PLANAS (28), que también presentaba propiedades de unión con el hierro. Su hipótesis se fundamenta en los resultados obtenidos al llevar a cabo un fraccionamiento proteico con sueros previamente marcados con Cl_3Fe-59 ; encontraron que parte de este hierro emigra con la transferrina y otra parte con la fosfoproteína.

Basándose en estos datos bibliográficos, decidimos seguir la línea de la fosfoproteína, y ver si existía relación entre el hierro no transferrínico y la fosfoproteína (fosvitina).

Respecto a esto, pudimos obtener datos en los que se pone de manifiesto que la cantidad de fosfoproteína aumenta cuando las aves están en puesta. En efecto, la buena correlación entre los valores de (PP) y los de la sideremia - (sideremia- CO_3Mg) indican una relación entre estos dos parámetros.

Este hecho queda, además, reforzado con los

datos del fraccionamiento proteico de sueros previamente marcados con Cl_3Fe-59 ; el hierro no ligado a la transferrina se colocaba, invariablemente, al nivel de la fosfoproteína.

Con ello, parece confirmarse la hipótesis de ALI y RAMSAY (1) (2): de que el hierro no ligado a la transferrina (hierro no-transferrínico) estaba íntimamente ligado a la fosfoproteína.

Una vez confirmada esta hipótesis, pasamos a estudiar cómo y cuándo actuaba este segundo transportador.

Para ello, medíamos el hierro no-transferrínico de un grupo de gallinas que tomamos cuando tenían pocas semanas y fuimos siguiendo hasta que la puesta comenzaba a manifestarse e iba ascendiendo progresivamente. Para determinar el hierro no-transferrínico, se restaba, del hierro total, el ligado a la transferrina que, a su vez, se determinaba en suero, previamente tratado con CO_3Mg . según la técnica de PLANAS y col (28) (38) (41), modificada por ALI y RAMSAY (1).

A pesar de que, quizás, lo lógico sería que, conforme aumenta, el hierro sérico circulante se fuera uniendo a

la transferrina hasta que ésta estuviera por completo saturada, y, una vez saturada, el hierro sobrante se uniera a la otra proteína (fosvitina), parece ser que no sucede así. Con los datos obtenidos se comprueba cómo se va repartiendo el hierro entre estas dos proteínas. Una vez que se desencadena la puesta, hace su aparición la fosvitina en el plasma, pues es necesaria para que, una vez transferida al ovario, intervenga en la formación del huevo, GRENGARD y col. (14). Una vez en el plasma, la fosvitina toma hierro de igual modo que lo hace la transferrina. Se establece una competencia entre ambas; teniendo siempre más cantidad de hierro la transferrina, por poseer un hierro inicial: el basal, característico de la gallina.

Si, como comprobaron PLANAS y CASTRO (38) ALI y RAMSAY (1) (2), el hierro ligado a la transferrina es el que se obtiene cuando los sueros son previamente tratados con CO_3^- Mg, la capacidad de transporte de la transferrina es siempre superior a la cantidad de hierro ligado a ella, no llegando nunca a saturarse. Por ello, pensamos que el coeficiente de utilización de la misma debería calcularse con los valores de la sideremia de los sueros tratados, y no con la de los sueros sin tratar; según esto,

la transferrina estaría saturada aproximadamente en un 50-60 %, y la capacidad latente (UIBC) daría siempre valores positivos.

Estos resultados no tendrían explicación si los valores de la TIBC hubiesen sido más o menos constantes; esto supondría que más de la mitad del hierro circulante debería estar unido a la proteína fosvitina, cosa que parece poco lógica.

En lo referente al marcaje "in vitro" de los sueros con Cl_3Fe-59 , su posterior paso por columnas de Sephadex G-200, así como la determinación directa del hierro existente en los dos picos donde se encontraba selectivamente la radioactividad, parece confirmarse lo expuesto anteriormente: es decir, que la fosvitina comienza a tomar hierro una vez desencadenada la puesta, y va teniendo un aumento progresivo cuanto más acusada es esta puesta.

Hierro, cobre y porcentaje de puesta se hallan íntimamente relacionados entre sí; comprobándose los resultados de PLANAS y col. (36) (23) que encontraron una correlación significativa entre los valores de sideremia y cupremia en el plasma de gallinas. Nosotros, por nuestra parte, hemos encontrado

que existe también una buena correlación, con valores altamente significativos, entre el porcentaje de puesta y la cupremia; resultado que, de igual modo que para la sideremia, cuanto más alto es el porcentaje de puesta mayores son los niveles de cobre sérico y, con ello, la cupremia.

Estos datos pueden explicarse por la intervención de un enzima oxidasa (Ferroxidasa I), FRIEDEN (12) PLANAS y BALASCH (36), que sería el punto de unión entre los metabolismos del hierro y del cobre. Ya anteriormente, MORSTON y ALLEN (27), demostraron que el cobre está relacionado con la liberación del hierro en sus diferentes estados. Los resultados hallados son concordantes con los de estos autores.

En el estudio de la renovación del hierro plasmático ("Turnover"), PLANAS y CASTRO (38) aportan el dato de que el "Turnover" en las aves en época de puesta es más rápido que en el hombre; en efecto, mientras en el último, a los 20 minutos de una inyección intravenosa de Fe-59, puede comprobarse aún la presencia de éste en el suero, en las aves en puesta, en el mismo intervalo tiempo, ya ha desaparecido del torrente circulatorio.

RECIO, la TORRE y PLANAS (46), trabajando sobre renovación del hierro plasmático en gallinas con distintos porcentajes de puesta, obtuvieron datos que confirman lo anterior; en efecto, vieron como el hierro radioactivo desaparece del plasma de una forma exponencial, y observaron, en la gallina en puesta, un aumento considerable de la velocidad de recambio ("Turnover"). Este aumento se hacía tanto mayor cuanto más alto fuese el tanto por ciento de puesta; de igual modo se ve afectado el $T_{1/2}$, siendo mayor a mayor tanto por ciento de puesta.

Nosotros, con nuestro trabajo sobre el "Turnover" en gallinas, pero tomándolas con 18 semanas (inmaduras), y siguiéndolas durante el tiempo necesario para que desencadenasen y desarrollasen la puesta, obtuvimos resultados más o menos similares a los hallados por estos autores.

Todos estos estudios fueron realizados también en gallos a los que se les administraban dos dosis sucesivas de benzoato de estradiol. Los resultados hallados son similares a los de las gallinas; siendo un dato más para confirmar los resultados experimentales, obtenidos por nosotros durante la maduración natural de las gallinas comerciales.

CONCLUSIONES

1.- Se ha comprobado, en un lote amplio de 20 gallinas, las grandes variaciones entre los valores de sideremia antes de la puesta y en puesta superior al 90% asimismo se ha comprobado la variación de la sideremia en gallos estrogenizados.

2.- Se han seguido las variaciones de la sideremia, durante un año, en un lote de 20 gallinas comerciales; desde la iniciación (0% de puesta) hasta que comienza el descenso de puesta por envejecimiento del organismo del ave.

3.- Se ha establecido una correlación entre el tanto por ciento de puesta y la sideremia. Así como las correlaciones: tanto por ciento de puesta-TIBC, tanto por ciento de puesta-cupremia, sideremia-TIBC y sideremia-cupremia; habiéndose ob -

tenido, en todos los casos, valores de r superiores a 0,97, y una significación inferior a 0,001.

4.- La dispersión de los valores de la sideremia de las distintas experiencias, correspondientes a cada tanto por ciento de puesta ha sido notablemente menor que la obtenida en otros trabajos que consideraban grupos de gallinas, sin precisar los porcentajes de puesta en que se encontraban.

5.- Se ha observado que la sideremia comienza a rebasar la capacidad de transporte, únicamente cuando el porcentaje de puesta es del 40-50%.

6.- Se ha estudiado el mecanismo de transporte de hierro por tres procedimientos: el primero, basado en la distinta afinidad de la transferrina y la fosfoproteína frente al hierro; el segundo, consiste en una separación cromatográfica, en columnas de Sephadex G-200, de suero marcado con Fe-59, y por último separando las distintas fracciones plasmáticas con Sephadex G-200, y determinando directamente el contenido de hierro de cada fracción. Esta técnica no se ha utilizado en ningún trabajo anterior, y ha sido, por tanto creada y desarrollada por nosotros.

7.- Según los resultados obtenidos con estas tres técnicas podemos concluir, que los altos niveles de hierro en suero, motivados por el mecanismo de reproducción, se incrementan al crecer los porcentajes de puesta; que el hierro en las gallinas se transporta por medio de dos fracciones proteícas del suero: transferrina y fosfoproteína; de forma competitiva, de tal manera que, desde que aparece la fosfoproteína en el suero, comienza a cargarse de hierro.

8.- La conclusión anterior ha sido ampliamente comprobada con ensayos paralelos en gallos a los que se les inyectó estrógenos.

9.- Se han calculado las correlaciones entre porcentajes de puesta, sideremia, sideremia- CO_3Mg , sideremia—(sideremia- CO_3Mg) y fósforo de la fosfoproteína; obteniendo valores de r superiores a 0,98, y una significación menor de 0,001. Con ello se ha comprobado cómo, al aumentar gradualmente la puesta, aumentan los contenidos en sideremia, hierro que transporta la transferrina, hierro que transporta la fosfoproteína y contenido en fósforo.

10.- Se han estudiado los cambios que sufre la renovación del hierro plasmático durante la maduración del ave hasta llegar a la puesta máxima; aumentando el "Turnover" conforme se incrementa la puesta.

BIBLIOGRAFIA

1. BIBLIOGRAFIA CITADA EN EL TEXTO.

1.- ALI, K.E. y RAMSAY, W.N.M.

Biochem. J., 110, 36, (1968).

2.- ALI, K.E. y RAMSAY, W.N.M.

Quart. J. Exp. Physiol; 159-165; (1974).

3.- ALDERTON, G., VARD, W, H., y FEVOLDH, L.

Arch. Biochem., 11, 9-13, (1946).

4.- ALLEN, R.J.L.

Biochem. J., 34, 858-865, (1940).

5.- BAIN, J.A., y DEUTSCH, H.F.

J. Biol. Chem., 172, 547, (1948).

- 6.- BALASCH, J. Y PLANAS, J.
XI Reunión Nacional de la Soc. Esp. de Ciencias Fisiológicas (1968).
- 7.- BARBER, A.A. y SHEELER, P.
Comp. Biochem. Physiol., 2, 233-240, (1961), *ibid* 8, 115, (1936).
- 8.- COOK, S.F. y HARMON, I.W.
Am. J. Physiol., 105-107 (1933).
- 9.- DELORY, G.E.
Biochem. J., 32, 1161-1162, (1938).
- 10.- DUKES, H.H. y SCHWART, L.H.
Am. J. Physiol., 96, 89, (1931).
- 11.- FISCHER, L.
Ed. Manual Moderno, Méjico (1975).
- 12.- FRIEDEN, E.
Sci. Am., 218, 102, (1968).
- 13.- FULLER, A. y BRIGGS, D.R.
J. Am. Chem. Soc., 78, 5253-5257, (1956).

- 14.- GREENGARD, O. , MENDELSONHN, N. y GORDON,M.
Sciencer, 147, 1571-1572, (1965).
- 15.- HAKETT, J.A.E. , PETERS, T. y ROOS, J.E.
J. Biol. Chem. , 231 , 187, (1958).
- 16.- HARMON, H.H. ,
Poult Sci. , 15, 53, (1936).
- 17.- HEALD, P. J. y MACLACHLAN, P.M.
Biochem. J. , 87, 571-176, (1936).
- 18.- HEALD, P.J. y MACHACHLAN, P.M.
Biochem. J. , 94, 32-39 , (1965).
- 19.- INTERNATIONAL COMMITTEE FOR STANDARDIZATION IN
HEMATOLOGY.
Brit. J. Haemat. , 20, 451-453, (1971).
- 20.- KAMINSKI, M. y DURIEUX, J.
Exp. cell Resarch, 10, 590-618, (1956).
- 21.- LASKOWKI, M.
Biochem. Zeitschrift. , 275, 293-300, (1935 a).

22.- LASJOWSKI, M.

Biochem. Zeitschrift, 278, 345-350, (1935 b).

23.- LA TORRE, J.L., RECIO, J.M^a. y PLANAS, J.

Rev. ^lEsp. Fisiol., 29, 65-69, (1972).

24.- LAURELL, C.B.

Acta Physiol. Scand., 14, suppl. 46, (1947).

25.- LAURELL, C.B.

Eosentoffwechsel 103. G., Thieme Verlag Stuttgart
(1959).

26.- MARSHAL, M.E. y DEUTSCH, H.F.

J. Biol. Chem., 189, 1-9, (1951).

27.- MORSTON, H.R. y ALLEN, S.H.

Nature, 215, 645, (1967).

28.- MARTIN-MATEO, M^aC. y PLANAS, J.

Rev. Esp. Fisiol., 21, nº 5, 1-8, (1965).

29.- MARTIN-MATEO, M^a C., SEBASTIAN, M^a. y PLANAS, J.

Rev. Esp. Fisiol., 21, nº 4, 179-185, (1965).

- 30.- MARTIN-MATEO, M^a C. , de CASTRO, S. , La TORRE, J.L.
y GARCIA, M^a T.
Rev. Esp. Fisiol. , 27, 195-198, (1971).
- 31.- MAUGHAN, G.H.
Am. J. Physiol. , 113, 96; (1935).
- 32.- PLANAS, J.
Rev. Esp. Fisiol. , 16, 33-38, (1960).
- 33.- PLANAS, J.
Nature, 215, 289, (1967).
- 34.- PLANAS, J.
Rev. Esp. Fisiol. , 26, 147-150, (1970).
- 35.- PLANAS, J. y BALASCH, J.
Rev. Esp. Fisiol. , 25 , nº 2, 157-160; (1969).
- 36.- PLANAS, J. y BALASCH, J.
Rev. Esp. Fisiol. , 26, 91-94, (1970).
- 37.- PLANAS, J. y BALASCH, J.
Rev. Esp. Fisiol. , 26 , 307-314, (1970).

38.- PLANAS, J. y de CASTRO, S.

Rev. Esp. Fisiol., 16, 197-205 (1960).

39.- PLANAS, J. de CASTRO, S.

Rev. Esp. Fisiol., 16, nº 4, 277-288, (1960).

40.- PLANAS, J. y COCHO, D.

Rev. Esp. Fisiol., 18, nº 3, 115-118, (1962).

41.- PLANAS, J. y RECIO, JM^a.

Rev. Esp. Fisiol., 16, nº 4, 265-276, (1960).

42.- PLANAS, J., de CASTRO, S. y RECIO, J.M^a.

Nature, 189, nº 4765, 668-669, (1961).

43.- RAMSAY, W.N.M.

Clin. Chim. Acta, 2, 214-220, (1957 a).

44.- RAMSAY, W.N.M.

Clin. Chim. Acta., 2, 221-226, (1957 b).

45.- RAMSAY, W.N.M. y CAMPBELL, E.A.

Biochem. J., 58, 313-317, (1945).

46.- RECIO, J. M^a. , La TORRE, J.L. y PLANAS, J.

Rev. Esp. Fisiol., 29, 65-68; (1973).

47.- RODRIGUEZ, R. y PLANAS, J.

Rev. Esp. Fisiol., 20, nº 3, 83-87, (1964).

48.- ROEPKE, R.R. y HUCHES, J.S.

J. Biol. Chem., 108, 79-83, (1935).

49.- SCHULTEE, H.E. , HEIDE, K. y MULLER, H.

Bchringwerk Mittel, 32, 25, (1957).

50.- SHADE, A.L. y CAROLINA, L.

Science, 110, 14-15, (1944).

51.- SCHMIDT, G. y THANNHAUSER, S.J.

J. Biol. Chem., 161, 83-89, (1945).

52.- SURGENOR, D.M. y Cols.

J. Clin. Invest., 28, 73, (1949).

53.- TABORSKY, G.

Biochem., 2, 266-271, (1963).

54.- WARBURG, O. y KREBS, H.E.

Biochem. 190, 147, (1927). Citado por Budd-en-brock
en Vergleichende Physiol. Tomo III p. 609 (1956).

55.- WARNER, R.O. y WEBER, I.

J.Am.Chem.Soc., 75, 5094-5101, (1953).

56.- WIDDAWSON, E.M. y Mc. CANCE, R.A.

Biochem. J., 42, 577, (1948).

57.- WIDWSON, E.M. y Mc. CANCE, R.A.

Biochem. J., 53, 173, (1953).

58.- WILLIAMS, J.

Biochem. J., 83, 355-364, (1962).

59.- WINTER, A.R.

Poult., Sci., 15, 252, (1936).

2. OTRA BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1.- AASA, R., MALMSTRON, B.G., SALIMAN, P. y VANNGARDT.
Biochem. and Biophys. Act., 75, 203-222 (1963).
- 2.- AISEN, P., LEIBMAN A. y RECHK A.
J. Biol. Chem., 241, 1666-1671, (1966).
- 3.- BALASCH, J. y PLANAS, J.
Traballs Soc. Catalana de Biol., 21, 28, (1969).
- 4.- BALASCH, J. y PLANAS, J.
Rev. Esp. Fisiol., 25, 195-200, (1969).
- 5.- BALASCH, J., BRASO, A. y PLANAS, J.
XII Reunión Nacional Soc. Esp. Cien. Fisiol., S. de
Compostela, 353-355, (1970).

- 6.- BALASCH, J. y PLANAS, J.
Rev. Esp. Fisiol., 28, 125 (1972).
- 7.- BEUVING, G. y GRAUBER, M.
Biochem. Biophys. Act., 232, 529-536, (1971).
- 8.- BOTHWELL, H. y FINCH, C.A.
Little, Brown and Co., Boston, (1962).
- 9.- BROZOVICH, B.
J. Clin. Path., 21, 183-188, (1968).
- 10.- BROZOVIC, B. y PURCELLI,
J. Clin. Path., 27, 227-225, (1974).
- 11.- CAMPBELL, E.A.
Poultry Sci., 39, 140-141, (1960).
- 12.- de CASTRO, S.
Ed. Paz Montalvo Méjico, (1971).
- 13.- CHARLTON, R.W., HARDIE, N. y BOTHWELL, T.H.
S. Afer. Med. Sci., 30, 71-75, (1965).

- 14.- CHARLWODR, P.A. y JARRIT, P.H.
Biochem. et biophys. Act., 342, 145-154, (1974).
- 15.- CLARK, R.C.
J. Biochem., vol. 5, 2, (1974).
- 16.- COOK, J.D.
J. Lab. Clin. Med., 76, 497-506, (1970).
- 17.- CROSBY, W.H.
Physiol. Pharma. a comprehensive treatise, vol. 5,
Blood (1975).
- 18.- DREYFUS, J.C. y SHAPIRAG,
Expans. Scientif. Française, París, (1958).
- 19.- EVANS, G.W. y WIEDERANDERS, R.E.
Am. J. Physiol., 213, 1183-1185, (1967).
- 20.- FARNER, D.S. y KING, R.J.
vol. 5, Ac. Press New York and London (1975).
- 21.- FINCH, C.A.
Eisenstoffwechsel, p. 141, G. Thime Verlag Stuttgart,
(1959).

22.- GIBLETT, E.R.

Physiol. Pharma. A. Comprehensive Tratise, vol. 5
Blood. (1975).

23.- GRAS, J.

Edid. Jims Barcelona, (1967).

24.- GRAS, J.

Rev. Esp. Fisiol. 7, 265, (1951).

25.- GRAS, J. y SALAZAR, M.

Rev. Esp. Fisiol., 6, 113, (1950).

26.- GUBLER, C.J., LEHEY, M.E., CARTNRIGHT, G.E. y

WINTROBE, M.M.

J. Clin. Inverst., 32, 405, (1953).

27.- HARRIS, D.C. y AISEN, P.

Biochem. vol. 14, nº 2, (1957).

28.- JACOBS, A. y WORNOOD, M.

Acad. Press London and New York.

29.- KING,

Biochem. J., 26, 229, (1932).

30.- LEGGATE, J. y CROOKS, A.E.

J. Clin. Path., 25, 905-906, (1972).

31.- MOK, C.C., MARTIN, W.G. y GOMMON, R.H.

Canadian J. Biochem., 39, 109-117, (1961).

32.- MORGAN, E.H.

Quarterly J. Exp. Physiol., vol. 60, 3, (1975),

33.- NIELSEN, N.I.

J. Clin. Chem., 6, 103-105, (1968).

34.- PETERS, J., GIOVANNIELLO, T.J., APT, L. y ROSS,

J.F. J.Lab.Clin.Med., 48, 274-279, (1956).

35.- PLANAS, J.

Rev. Esp. Fisiol., 17, nº 1, 39-44, (1961).

36.- PLANAS, J.

Rev. Esp. Fisiol., 18, nº 1, 1-6, (1972).

37.- PLANAS, J.

Rev. Esp. Fisiol., 293-300, (1973).

38.- PLANAS, J. y de CASTRO, S.

Rev. Esp. Fisiol., 16, Supl. III, 189, (1960).

- 39.- PLANAS, J. y de CASTRO, S.
Rev. Esp. Fisiol; 16, nº 2, 121-128, (1960).
- 40.- PLANAS, J. y FERRARI, L.
Rev. Esp. Fisiol., 22, nº 4, 165-172, (1966).
- 41.- PLANAS, J. y FRIEDEN, E.
Am. J. Physiol, 225, 423-428, (1973).
- 42.- PLANAS, J. y RECIO, J. M^º.
Rev. Esp. Fisiol., 17, nº 3, 95-106, (1961).
- 43.- PUTNAM, F.W.
Acad. Press New York London (1975).
- 44.- RAMSAY, W.N.M.
Biochem. J., 53, 227, (1953).
- 45.- RAMSAY, W.N.M.:
J. Clin. Path., 26, 691-696, (1973).
- 46.- RAMSAY, W.N.M. y CAMPBELL, E.A.
Quart. J. Esp. Physiol., 41, 271-273, (1946).
- 47.- RUUTU, R.
Clin. Chem. Acta, 65, nº 2, (1975).

- 48.- SHADE, A.L. y CAROLINE, L.
Science, 104, 340, (1946).
- 49.- OSAKI, S., RUSSELL, C., SEXTON, y FRIEDEN, E.
Biochem. J., 151, 519-521, (1975).
- 50.- STURKEI, P.D.
Bailliere Tendam and Cassell London (1975).
- 51.- VAN der HEUL, C., van ELJK, H.C., WILTINK, W.T. y
LEIJNSE, B.
Clin. Chim. Acta., 38, 347-353, (1972).
- 52.- WIDDAWSON, E.M. y Mc CANCE, R.A.
Lancet, 1, 588, (1942).
- 53.- WILLIAMS, J.
Biochem. J., 108, 57, (1968).
- 54.- WILLIAMS, y CONRAD, M.E.
Clin. Chim. Acta., 37, 131-140, (1972).
- 55.- ZILVERSTMIT, D.B., ENTERMAN, C. y FISHLER, M.
J. General Physiol., 26, 325-331, (1943).