

# **FERRO SERÓS EN ELS MAMÍFERS I EN ELS OCELLS \***

Comunicació presentada el dia 20 de març de 1969 per

**JOSEP PLANAS**

Professor de la Càtedra de Fisiologia Animal a la Facultat de Ciències  
de la Universitat de Barcelona

\* Treball realitzat amb la cooperació econòmica del «Fomento de la Investigación en la Universidad» (Ministerio de Educación y Ciencia).

## INTRODUCCIÓ

Hom pot escometre l'estudi del metabolisme del ferro en tots els animals a partir de les variacions que experimenta la concentració de ferro en el sèrum. Aquest és un fet general, observat i utilitzat per a l'anàlisi de diferents compostos d'interès biològic. En la figura 1 hom pot veure la distribució del ferro en diferents compartiments de l'organisme humà.

El ferro és unit a una proteïna denominada transferrina (Tf), la qual correspon al grup de les  $\beta$ -1-globulines. La siderèmia mitjana en l'home és d'uns  $120 \mu\text{g Fe}/100 \text{ ml}$  de plasma, i satura solament d'una forma parcial (30-40 %) la transferrina, la qual presenta una concentració màxima que correspon a uns  $330 \mu\text{g Fe}/100 \text{ ml}$  \*; aquest valor és la denominada capacitat total de fixació del ferro. Considerem, doncs: capacitat total de fixació (CTF) = siderèmia (S) + capacitat latent de fixació (CLF).

En l'home han estat estudiades àmpliament les variacions fisiològiques i patològiques del contingut en ferro serós i en transferrina, les quals, en molts casos, constitueixen una dada d'interès per al clínic.

En els animals les dades referents al ferro serós no eren gaire abundants quan començarem a enfrontar-nos amb aquest problema, ara fa uns deu anys. És per això que ens proposarem d'estudiar d'una forma comparada el contingut del ferro en el sèrum i la seva capacitat total de fixació en diferents mamífers i ocells, a fi de poder tenir una idea més global del problema.

Sembla que, en els vertebrats, el metabolisme del ferro ha de tenir uns aspectes comuns, a causa d'un mateix plantejament bàsic (síntesi d'hemoglobina, transport serós per la transferrina, etc.), bé que necessàriament han de presentar-se algunes particularitats de grup, d'acord amb les seves peculiars característiques fisiològiques.

En aquest treball aportem valors experimentals obtinguts per nosaltres amb anterioritat, juntament amb d'altres d'inèdits. Hem seguit sempre un mateix mètode per a la determinació del ferro i de la capacitat total de fixació, a fi que resultin més comparables les determinacions en diferents mamífers i ocells.

\* 1 mg de Tf és capaç de fixar  $1,25 \mu\text{g Fe}$ .

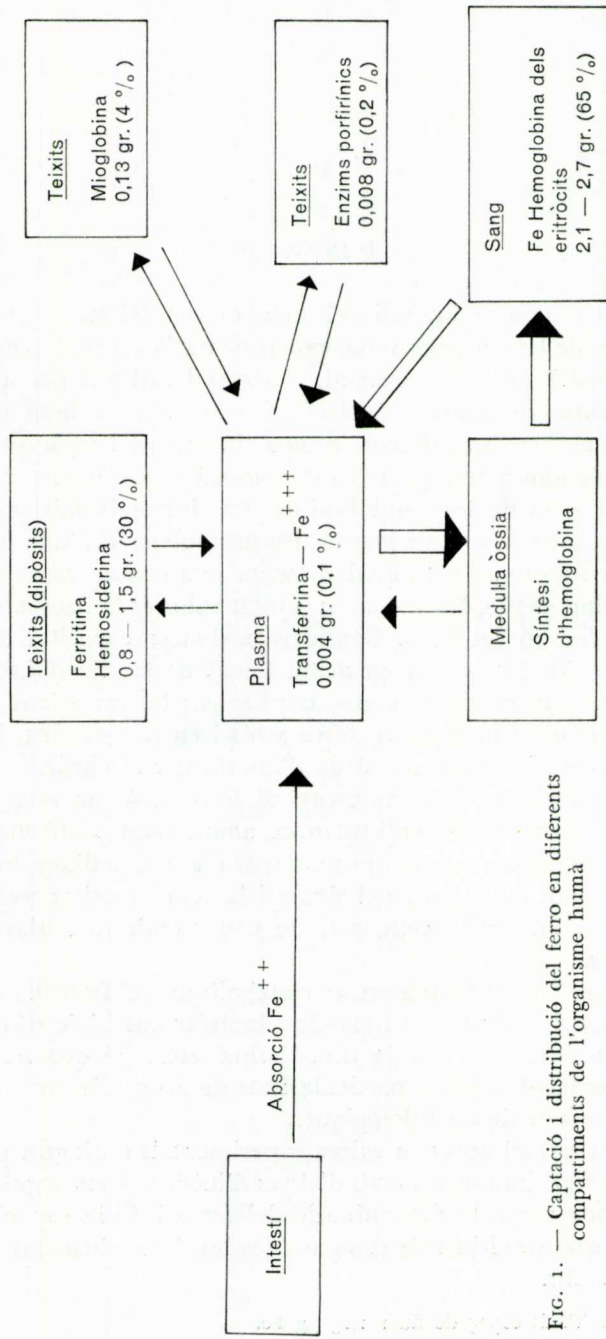


Fig. 1. — Captació i distribució del ferro en diferents compartiments de l'organisme humà

## MATERIAL I MÈTODES

Les mostres de sang analitzades procedeixen dels escorxadors de Barcelona. En els ocells hom extreu sang heparinitzada de la vena radial de l'ala, i hom realitza les determinacions en el plasma; les mostres també poden ésser obtingudes de sagnies totals.

TAULA I

Valors mitjans de siderèmia (S), capacitat total de fixació (CTF), i percentatges de saturació, amb les desviacions estàndard, en diferents mamífers

Espècie	Mascles				Femelles				Referències
	N.º	S µg Fe %	CTF µg Fe %	% Sat.	N.º	S µg Fe %	CTF µg Fe %	% Sat.	
Cavall	5	110 ± 22	328 ± 41	34	5	104 ± 22	331 ± 40	32	PLANAS I CASTRO, 1960 PLANAS, 1963
	15	99 ± 28	317 ± 51	31					
Mula	7	108 ± 23	294 ± 44	37	7	105 ± 16	275 ± 48	39	PLANAS I CASTRO, 1960 Treball present
	15*	76 ± 31	363 ± 61	21					
Ase	5	86 ± 9	253 ± 7	34	5	85 ± 28	272 ± 39	31	PLANAS I CASTRO, 1960 PLANAS, 1963
	20	84 ± 29	253 ± 36	33					
Porc	6	104 ± 11	496 ± 58	21	5	113 ± 24	453 ± 101	25	PLANAS I CASTRO, 1960 PLANAS, 1963
	8	96 ± 28	432 ± 55	22					
	15*	104 ± 36	722 ± 48	28	20	94 ± 24	491 ± 97	19	Treball present " "
	15*	107 ± 15	817 ± 83	13					
Bou	5	142 ± 44	377 ± 68	38	8	117 ± 31	336 ± 88	32	PLANAS I CASTRO, 1960 PLANAS, 1963
	20	102 ± 28	368 ± 54	28					
Ovella	6	114 ± 10	283 ± 91	44	5	136 ± 16	291 ± 33	47	PLANAS I CASTRO, 1960 PLANAS, 1963 Treball present
	20	131 ± 31	328 ± 85	40					
	15*	194 ± 64	437 ± 92	44					
Cabra					5	102 ± 17	233 ± 48	44	PLANAS I CASTRO, 1960
Conill	33	199 ± 37			15	160 ± 44			Treball present
	15*	207 ± 21	449 ± 45	46			" "		
Home	5	101 ± 22	355 ± 25	29	5	119 ± 26	352 ± 28	34	PLANAS I CASTRO, 1960 CASTRO i cols., 1966
	198	94 ± 30							

\* Sense diferenciació sexual.

Les determinacions de ferro serós i de la capacitat total de fixació del sèrum són obtingudes seguint els mètodes descrits per RAMSAY<sup>30, 31</sup>, en els quals cal emprar el  $\alpha$ - $\alpha'$ -dipiridil com a element cromogen.

## RESULTATS

En la taula I hom exposa els resultats obtinguts en la determinació del ferro serós i de la capacitat total de fixació del sèrum en 8 espècies de mamífers, enfront de dos lots d'homes. Els resultats referents als ocells queden ressenyats en la taula II.

TAULA II

Valors mitjans de siderèmia (S), capacitat total de fixació (CTF), i percentatges de saturació, i les seves respectives desviacions estàndard, en diferents ocells (P = posta) (J = joves, 2 mesos) (V = vells)

Espècie	Mascles				Femelles				Referències
	N.º	S µg Fe %	CTF µg Fe %	% Sat.	N.º	S µg Fe %	CTF µg Fe %	Sat. %	
Gall dindi	10	70 ± 48	302 ± 36	25	11	105 ± 45	315 ± 46	33	PLANAS i col., 1961 Treball present
	18	152 ± 41	356 ± 129	42	22	174 ± 50	291 ± 90	59	
Ànec	6	159 ± 110	634 ± 120	25	6	132 ± 40	472 ± 108	28	PLANAS i cols., 1961 " "
					19P	1065 ± 286	504 ± 131	227	
Oca	7	163 ± 38	547 ± 60	29	6	160 ± 23	561 ± 80	28	PLANAS i col., 1961 " "
					1P	1260	705	178	
Colom	10	254 ± 53	288 ± 53	88	10	225 ± 41	288 ± 39	78	PLANAS I CACHO, 1962
Gallina	23J	102 ± 22	165 ± 65	67	23J	129 ± 47	262 ± 69	51	PLANAS i col., 1961 Treball present
					24	143 ± 53	246 ± 70	58	
					21	196 ± 65	221 ± 99	89	" "
					16P	500 ± 165	272 ± 85	198	PLANAS i col., 1961
					17P	674 ± 136	360 ± 87	187	Treball present
									" "

## DISCUSSIÓ

*Mamífers*

Han estat HENRÍQUEZ i ROCHE<sup>9</sup> els primers a estudiar comparativa-ment el ferro serós en els mamífers. Les citacions posteriors que hem trobat a la bibliografia són més aviat esporàdiques i fan referència a una o dues espècies solament: rata<sup>10</sup>, ovella i porc<sup>13</sup>, ovella<sup>20</sup>, bou<sup>5</sup>.

El ferro serós en l'espècie humana, segons BOTHWELL i FINCH<sup>4</sup> i DREYFUS i SCHAPIRA<sup>8</sup>, presenta uns valors mitjans compresos entre 125 i 135 µg Fe/100 ml de sèrum, en els homes; en les dones els valors són més baixos, amb una mitjana de 110 a 120 µg Fe/100 ml. Les diferències sexuals en l'espècie humana resulten significatives. Semblantment, l'edat és un altre factor a tenir en compte, ja que existeixen variacions molt notables. Aquests factors han estat també analitzats en els animals<sup>5, 19</sup>.

L'estudi comparatiu d'uns 544 valors de ferro serós en nou espècies de mamífers (taula I), palesa com són de similars aquests valors; solament el conill presenta diferències interespecífiques estadísticament significatives.

No resulten tampoc significatives les diferències sexuals en les espècies considerades. En la humana, no l'hem apreciada, per tal com treballàrem amb dues sèries, una de les quals era molt petita, i l'altra era formada per donadors professionals de sang, la ferropènia dels quals era evident<sup>6</sup>.

En els valors de la capacitat total de fixació del sèrum en les espècies analitzades hom no troba, tampoc, cap diferència sexual. Les comparacions entre les espècies permeten de diferenciar clarament els valors extrems dels porcs respecte als valors dels altres animals, els quals valors són més pròxims als 330 µg Fe %, valor característic de l'espècie humana<sup>4</sup>. La proporció de transferrina que porta ferro fixat oscil·la entre 30 i 40 %, cosa també corrent en l'home.

La comparació entre els animals normals i els castrats, feta per tal de poder apreciar la influència que les hormones sexuals poden tenir sobre el transport del ferro serós ha palesat que no apareixen diferències significatives en el ferro serós ni en la capacitat total de fixació<sup>25</sup>. Altrament, si analitzem la bibliografia trobem que PRADER i SCHWEIZER<sup>28</sup>, en l'estudi en 5 cavalls trobaren que el ferro serós disminueix en un 37 %; MEDURI i PETRONIO<sup>14</sup> indiquen que, en el conill, la castració fa augmentar en un 18 % la siderèmia dels mascles, i disminuir en un 10 % la de les femelles, mentre que en les rates les diferències són d'un 28 % i un 8 % respectivament. A més, KALDOR<sup>11</sup> trobà, en la castració també de rates, un descens del ferro serós en les femelles, més que no pas en els mascles.

Les dades de la bibliografia no són gaire concordants. Els nostres resultats<sup>25</sup>, obtinguts amb sèries més nombroses, ens suggereixen que la influència hormonal en el ferro serós no està ni de bon tros aclarida, i que és prematur de generalitzar als mamífers l'efecte hormonal sobre el metabolisme del ferro.

### Ocells

Han estat estudiades 5 espècies d'ocells i han estat trobades certes diferències interespecífiques, com hom pot apreciar en la taula II, on es recullen dades ja publicades amb d'altres d'inèdites.

Hom ha pogut apreciar, també, un increment del ferro serós amb l'edat, i com les diferències entre el sexe són inexistent, si hom estableix les comparances fora del període de posta.

El fet més destacat és l'augment que experimenta el ferro serós amb la posta, el qual ja fou observat per primera vegada per RAMSAY i CAMPBELL<sup>29</sup> en la gallina, i després confirmat per nosaltres en la mateixa espècie<sup>21</sup>, i apreciat també en altres ocells<sup>23</sup>.

La posta representa una exaltació del metabolisme del ferro, ja que per a la gallina representa una pèrdua de 0,5 mg de ferro per dia<sup>29</sup>. D'aquesta manera augmenten les necessitats d'aquest element, i s'incrementa l'absorció intestinal; el ferro plàsmic puja de 5 a 6 vegades sobre els nivells normals. Però hem pogut observar que els increments de la transferrina determinada segons la capacitat total de fixació del sèrum segons RAMSAY<sup>31</sup>, no són proporcionats, i existeix una inversió paradoxal dels valors del ferro serós i de la capacitat total de fixació (CTF); així, els percentatges de saturació de la transferrina, que són normalment del 20 al 70 %, sobrepassen el 100 % en les femelles en posta<sup>23</sup>.

A la vista d'aquests resultats hem suposat com a hipòtesi de treball que en els ocells han de coexistir dos mecanismes de transport: la transferrina i una altra fracció proteica que ha d'actuar de mecanisme auxiliar. Les raons i les proves experimentals que sostenen aquesta hipòtesi són les següents:

1.<sup>r</sup> La inversió paradoxal dels valors del ferro serós i de la capacitat total de fixació ens suggereix que, un cop saturada la transferrina, el ferro restant ha d'estar fixat a una altra fracció proteica, la capacitat de fixació de la qual no seria determinable pel mètode utilitzat<sup>31</sup>. El ferro serós en forma iònica no pot superar l'1 % sense produir una greu toxicitat.

2.<sup>n</sup> La determinació del ferro serós en femelles de diverses espècies, en posta, dóna uns valors que són aproximadament iguals a la capacitat de transferrina si hom col·loca els sèrums en contacte previ amb carbonat magnèsic, com és el cas del mètode de valoració de CTF segons RAMSAY<sup>31</sup>; els experiments amb sèrums de mascles o de femelles no en posta dóna valors iguals abans i després del tractament amb el carbonat<sup>23</sup>.

3.<sup>r</sup> La transferrina continguda en el sèrum dels ocells en posta està totalment saturada, i les determinacions de la capacitat latent de saturació, realitzades per diferents mètodes directes i indirectes, surten sempre nul·les<sup>32</sup>.

4.<sup>t</sup> Els experiments *in vitro* amb addicions de sobrecàrregues de ferro<sup>27</sup> palesen que el sèrum dels ocells sempre fixa més ferro del que teòricament pot transportar d'acord amb la seva capacitat latent de fixació.

Sembla evident, doncs, l'existència d'una fracció proteica, auxiliar de la transferrina, i hem pensat en la conalbúmina com la més probable.

Aquesta proteïna, típica de la clara d'ou, ha estat identificada en el sèrum de la gallina per MARSCHALL i DEUTSCH<sup>17</sup> i per KAMINSKI i DURIEUX<sup>12</sup>. Presenta unes propietats quelants, respecte als metalls, que són molt similars a les de la transferrina<sup>36</sup>.

Per seguir amb aquesta hipòtesi, nosaltres valorarem mitjançant un mètode immunològic, la quantitat de conalbúmina existent en el sèrum de les espècies d'ocells ja estudiades abans, i a la vegada determinarem químicament el contingut de ferro serós i de transferrina<sup>15, 26</sup>. Comprovarem que la concentració de conalbúmina augmenta amb l'edat, i és més gran en les femelles que en els mascles; en les femelles, a més, augmenta considerablement amb la posta. El contingut en conalbúmina ha de permetre de fixar plenament el ferro que ja no pot transportar la transferrina.

Aquests resultats, que poden semblar a primera vista definitius, es veuen afectats pels treballs que han estat fets en comparar la conalbúmina i la transferrina. La semblança immunològica és molt estreta, i nosaltres mateixos hem pogut comprovar-la amb tècniques de doble difusió i immunolectroforesi<sup>16</sup>.

La conalbúmina i la transferrina de la gallina són glucoproteïnes que es diferencien solament per la composició del glúcid del grup prostètic i en la seqüència dels aminoàcids de la cadena polipeptídica<sup>37, 38</sup>. Hom les considera, per tant, com un cas d'allomerisme prostètic<sup>33</sup>. Un mateix gen controla en la gallina la síntesi de la transferrina en el fetge i de la conalbúmina en l'oviducte, i per tant és possible de trobar formes polimòrfiques simultànies, no solament en la gallina<sup>7, 18, 34</sup>, sinó també en l'oca, en l'ànec i en el faisà<sup>1, 35</sup>. Per tots aquests fets, WILLIAMS<sup>38</sup> suggereix de denominar la conalbúmina, «ovotransferrina», la qual cosa és acceptada per altres autors.

A la llum d'aquests resultats cal interpretar de bell nou les nostres dades de valoració immunològica de la conalbúmina en el sèrum dels ocells<sup>15, 26</sup>, per tal com és molt probable que incloquem en les dades els continguts de conalbúmina i de transferrina conjuntament. De tota manera, si fos així, com sospitem, aquest valor de conjunt presenta encara una capacitat de fixació de ferro que sobrepassa el doble dels continguts de ferro serós més elevats.

D'altra banda, el diferent comportament d'ambdues proteïnes enfront del carbonat magnèsic, suposat per nosaltres, ha estat analitzat directament en solucions pures<sup>2</sup>. Hem observat que aquest compost pren parcialment el ferro del complex conalbúmina-ferro, i, en menys intensitat, del complex transferrina-ferro; altrament, la resina (amberlita IRA-401) recomanada per BOTHWELL i col.<sup>3</sup>, no té cap efecte.

Aquests resultats podrien posar en dubte l'eficàcia del mètode de Ram-



say<sup>31</sup>, però la confrontació repetida amb altres tècniques, inclosa la de Bothwell<sup>3</sup>, fan descartar aquesta possibilitat.

Hem de continuar considerant, doncs, com a possible la coexistència de dos sistemes de transport del ferro en el sèrum dels ocells, i també que les dites proteïnes mostren diferències enfront de l'efecte del carbonat magnèsic sobre els seus respectius complexos amb el ferro.

Signi o no sigui certa la nostra hipòtesi de treball, no hi ha dubte, d'altra banda, que nous estudis amb diferents espècies confirmen plenament els resultats amb sèrum de gallina i de pollastre, enfront del d'ovella i del de bou<sup>27</sup>, ja que els sèrums dels mamífers solament fixen *in vitro* el ferro que els correspon teòricament d'acord amb llur capacitat latent, mentre que els ocells sempre fixen una més gran quantitat de la prevista.

El mecanisme de transport del ferro serós dels mamífers i dels ocells ha d'ésser necessàriament diferent, i nosaltres creiem aportar arguments suficients per a considerar l'existència d'una nova fracció proteica que complementi la tasca de la transferrina en els ocells, on el metabolisme del ferro és molt més actiu que en els mamífers, cosa que també demostren els nostres estudis *in vivo*, actualment en curs.

#### BIBLIOGRAFIA

1. BAKER, C. M. A. — «Comp. Biochem. and Physiol.», 20: 949 (1967).
2. BALASCH, J., i PLANAS, J. — «Rev. Esp. Fisiol.», 24: 169 (1968).
3. BOTHWELL, T. H.; JACOBS, P., i KAMENER, R. — «South African J. Med. Sci.», 24: 93 (1959).
4. BOTHWELL, T. A., i FINCH, C. A. — *Iron metabolism*. Little, Brown and Co. Boston, 1962.
5. BREMMER, K. C. — «Australian J. Exp. Biol. Med. Sci.», 44: 259 (1966).
6. CASTRO, S.; ARRIBAS, J. M.; MARTÍN-MATEO, M. C.; VIÑAS, J., i PLANAS, J. — «Transfusión», 6: 600 (1966).
7. CROIZIER, G. — «Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.», 6: 379 (1966).
8. DREYFUS, J. C., i SCHAPIRA, G. — *Le Fer*. L'Expansion, París, 1958.
9. HENRIQUEZ, V. J., i ROCHE, A. — «Bull. Soc. Chim. Biol.», 9: 50 (1927).
10. ITZHAKI, R. F. — «Arch. Biochem. and Biophys.», 92: 69 (1961).
11. KALDOR, I. — «Australian J. Exp. Biol. Med. Sci.», 32: 437 (1954).
12. KAMINSKI, M., i DURIEUX, J. — «Exp. Cell Research», 10: 590 (1956).
13. KOLB, E., i SCHIMMEL, D. — «Naturwissenschaften», 17: 397 (1962).
14. MEDURI, D., i PETRONIO, L. — «Haematologica», 42: 911 (1957).
15. MARTÍN-MATEO, M. C., i PLANAS, J. — «R. Esp. Fisiol.», 21: 1 (1965).
16. MARTÍN-MATEO, M. C.; SEBASTIÁN, M. F., i PLANAS, J. — «R. Esp. Fisiol.», 21: 179 (1965).
17. MARSHALL, M. E., i DEUTSCH, H. F. — «J. Biol. Chem.», 189: 1 (1951).
18. ODGEN, A.; MORTON, J.; GILMOUR, D., i MC DERMID, E. — «Nature», 195: 1026 (1962).
19. PALMER, H. — «Scand. J. Clin. and Lab. Invest.», 4: 81 (1952).
20. PEGRAM, R. G. — «J. Zool.», 151: 483 (1967).
21. PLANAS, J., i CASTRO, S. — «R. Esp. Fisiol.», 16: 197 (1960).
22. PLANAS, J., i CASTRO, S. — «Nature», 187: 1126 (1960).

23. PLANAS, J.; CASTRO, S., i RECIO, J. M. — «Nature», 189: 668 (1961).
24. PLANAS, J., i COCHO, D. — «R. Esp. Fisiol.», 18: 115 (1962).
25. PLANAS, J. — «Nature», 197: 186 (1963).
26. PLANAS, J., i MARTÍN-MATEO, M. C. — «R. Esp. Fisiol.», 21: 9 (1965).
27. PLANAS, J. — «Nature», 215: 289 (1967).
28. PRADER, A., i SCHWEIZER, R. — «Experientia», 6: 351 (1950).
29. RAMSAY, W. N. M., i CAMPBELL, E. R. — «Biochem. J.», 58: 313 (1954).
30. RAMSAY, W. N. M. — «Clin. Chim. Acta», 2: 214 (1957).
31. RAMSAY, W. N. M. — «Clin. Chim. Acta», 2: 221 (1957).
32. RODRÍGUEZ, R., i PLANAS, J. — «R. Esp. Fisiol.», 20: 83 (1964).
33. SCHULTZE, H. E., i HEREMANS, J. E. — *Molecular Biology of Human Proteins with special reference to Plasma Proteins* (vol. I). Elsevier Pub. Co., Amsterdam, 1966.
34. STRATIL, A. — X<sup>e</sup> Cong. eup. groups sanguins et polymorphisme biochimique des animaux, 241. París, 1966.
35. STRATIL, A., i VALENTA, M. — «Folia biologica», 12: 307 (1966).
36. WARNER, R. C., i WEBER, I. — «J. Am. Chem. Soc.», 75: 5094 (1953).
37. WILLIAMS, J. — «Biochem. J.», 38: 355 (1962).
38. WILLIAMS, J. — «Biochem. J.», 108: 57 (1968).

## DISCUSSIÓ

### Dr. ALEMANY

Pregunta si el ferro pot unir-se amb alguna proteïna altra que la transferrina, i el complex així format produir fenòmens immunològics com ha estat vist a la clínica amb el níquel, responsable de reaccions al·lèrgiques a la pell.

### Dr. ORIOL i BOSCH

Pregunta si existeixen diferències entre els sexes en els nivells de transferrina humana que es puguin explicar per una acció hormonal.

### Sr. JORDI BABOT

S'interessa pels valors respectius de la transferrina i la siderofilina.

### Dr. PLANAS

Manifesta al doctor Alemany no tenir-ne coneixement de cap cas d'unió del ferro amb proteïnes diferents de la transferrina. El ferro va unit a la transferrina sense mai poder causar, doncs, fenòmens de tipus al·lèrgic.

Diu al doctor Oriol i Bosch que no han estat efectuats estudis en aquest sentit. La pregunta del doctor Oriol i Bosch pot ésser l'inici d'una nova línia de treball experimental en aquesta línia. Diu que ha estudiat, comparativament, unes sèries de mamífers castrats i normals, i no hi ha trobat diferències significatives.

Fa avinent al senyor Babot que el mot siderofilina, d'origen francès, és sinònim de transferrina.