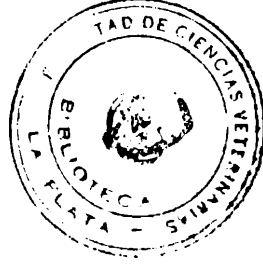


UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



AUTORIDADES:

RECTOR:

Profesor Dr. GUILLERMO G. GALLO

SECRETARIO GENERAL:

Odont. TOMAS FUCINI

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS:

Dr. JORGE BOLZAN

SECRETARIO DE SUPERVISION ADMINISTRATIVA:

Cdor. JUAN A. AREVALO

SECRETARIO DE EXTENSION CULTURAL Y DIFUSION:

Arq. JOSE MARIA MARQUINEZ

GUARDA SELLOS:

Dr. FEDERICO ENRIQUE CHISTMANN

///

TESORIERO Catalina	Física t Quím.Aplic,	Reemp.(1/s/s)
TORRES Jorge F.	Int.a la Bioquímica	Interino

- PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION TIEMPO PARCIAL" -

BRANDESEI Eugenio	Anat.y Fisiol.Pat.	Interino
CHAMPREDONDE Hugo H.	Patología General	Interino
DURANTE Eduardo J.	Patolog.Quirúrg.y Pod.	Interino(1/c/
ERRECALDE Jorge C. (h.)	Farmacol.Farm.y Terap.	Inter. (1/c/s
FERNANDEZ Enrique J.	Microbiología	Interino
GOÑEZ Carlos M.	Inmunología II	Interino
MACCI Hilda E.	Serv.Central de Cirug.	Reemplazante
MAROTTA Eduardo G.	Zotec.Especial I Pte.	Inter.(1/c/s)
MARTINO Juan J.	Microbiología	Titular
MERLINI José C.	Patol.Reprod.y Obst.	Interino
NOIA Miguel A.	Introd.a la Biofísica	Interino
ORTEGA César F.	Semiología y Propedeút.	Interino
PENNIMPEDE María T.del A.	Tecnolog.y Sanid,Alim.	Interino
PIOVANO Nicolas M.	Introd.a la Bioquímica	Interino
REINOSO ENSO M.	Micol.Médica e Indust.	Reemplazante
RUAGER Jorge	Anat.y Fisiol.Patólog.	Interino

- PROFESOR TITULAR "DEDICACION SIMPRE" -

QUIRRE Walter G.	Microbiol.Aplicada	Titular
LIBERDI Cecilio	Tecnol.y Sanid.Aliment.	Interino
CARROZA Jesus S.W.	Introd.a la Biofísica	Titular
ERRECALDE Jorge E.	Enfermedades Infecciosas-	Interino
GIMENO Emilio J.	Higiene Epid.y S.Púb.	Titular
HARISPE Carlos M.	Enfermedades Infec.	EMERITO
ISEAS Fortunato B.	Patología Médica	Interino
NALIANDI Florestán S.	Parasitología Comparad.	Interino
MANZULLO Alfredo	Inmunología I	EMERITO
MANZULLO Alfredo	Inmunología II	EMERITO
MARTINO Olindo A.L.	Salud Pública	Interino
OSTROWSKI Jorge E.B.	Patol.Reprod.y Obst.	Interino
PANZONI Ericó E.	Economía Agraria	Titular

///

///

BUELER Eduardo A.	Patolog. Quirúrg. y Pod.	Interino
CALONGE Carlos A.	Clín. Grandes Animales	Interino
CASTAÑEDA Alberto C.	Clín. Pequeños Animales	Interino
CESAR Norberto	Patología Médica	Reemplaz.
CATALA Gustavo G.	Patolog. Reprod. y Obst.	Reemplaz.
CONTRERAS Ricardo R.	Zotec. Espec. IPte.	Reemplaz.
CHIARAVALLI Juan C.	Zotec. Gral. y Agrost.	Interino
CHILLON Diana Z.	Microbiología Aplic.	Interino
DELGADO CAFFE Osvaldo L.	Higiene Epid. y S. Páb.	Interino
GALAN Jorge E.	Enfermedades Infec.	Interino
GALLO Guillermo F.	Fisiología	Interino
GALIGNA Tomás F.	Taller de Educación	Interino
GIMENEZ Mabel A.	Zotec. Especial I Pte.	Interino
HERNANDEZ Zulma H.	Salud Pública	Interino
INCHAUSTI Agustín S.	Patología Médica	Inter-L/s/s.
LACCHINI Raúl A.	Zotec. Gral. y Agrost.	Interino
LOJO María E.	Genética Microbiana	Interino
MELANI Gustavo H.	Patología Médica	Interino
MILLAN Roberto E.	Histología Normal	Interino
MORRIS Marta Rita	Micolog. Méd. e Indust.	Reemplaz.
NICODEMO María del C.	Zotec. Especial III Pte	Interino
NOBETTO Edgardo O.	Patología Médica	Interino
OLIBERO Jesús M.P.	Introd. a la Biofísica	Interino
PALACIO Laura I.	Zotec. Espec. I Pte.	Inter-L/s/s.
PRIO LOPEUDO Graciela E.	Zotec. Espec. III Pte.	Interino
ROHSINO Roberto O.	Fisiología	Interino
SALAS Laura V.	Semiología y Propedeútica	Reemplaz.
SANCHO José J.I.	Medicina Operatoria	Interino
SIMPSON María I.	Introd. a la Biofísica	Interino
TOBIA Marta B.	Microbiol. Aplicada	Interino
TREBUCQ Rubén A.	Inmunología I	Interino
TUNES María del L.	Microbiología	Interino
VARELA Juan A.H.	Microbiología	Interino
WALKER Alberto E.	Medicina Operatoria	Interino
WARD Miguel V.	Farmac. Farm. y Terapéut.	Interino

///

///

YANNARELLA Francisco G. Parasit.y Enf.Parasit. Interino

- AYUDANTE DIPLOMADO "DEDICACION EXCLUSIVA" -

AVILA Silvia M.	Histología Normal	Interino
CASTELLANO María C.	Clín. Pequeños Anim.	Interino
CATALANO Vicente A.	Histología Normal	Interino
CERRUTTI Augusto S.	Sección Radioisótopos	Interino

- AYUDANTE DIPLOMADO "DEDICACION TIEMPO PARCIAL" -

BERISSO Marcela M.	Enferm. Infecciosas	Interino
CABRAL Marta S.	Tecnolog. y Sanid. Alim.	Interino
CAMINO Ricardo A.	Microbiología Especial	Reemplaz.
CARRERA Oscar M.	Introd. a la Bioquímica	Interino
GONZALEZ Esther T.	Virología	Interino
GONZALEZ Silvia M.	Farmac. Parc. y Terap.	Interino
GUADARRAMA María del C.	Histología Normal	Interino
HUERTA Alicia N.	Introd. a la Bioquímica	Interino
MARCANTONI Hugo A.	Histología Normal	Interino
MARENGO Alejandro G.	Higiene Epid. y S. Páb.	Interino
MURO Adriana A.	Clín. Grandes Animales	Reemplaz.
PETRUCCELLI Miguel A.	Anat. y Fisiol. Patolog.	Interino
RAMIREZ Luis E.	Clín. Pequeños Animales	Reemplaz.
REYNARD Jorge L.	Tecnolog. y Sanid. Alim.	Interino
SABESSI Enrique	Fisiología	Interino
TABORCIA Juan A.	Patología General	Interino
ZOHUAR Edith	Clín. Pequeños Animales	Interino

- AYUDANTE DIPLOMADO "DEDICACION SIMPLE" -

ALONSO Juan C.	Genética Microbiana	Interino
ALT Celia M.	Microbiol. Especial	Interino
BALDOR Orlando A.	Clín. Grandes Animales	Reemplaz.
BUSCAGLIA Celina	Zotec. Espec. III Pte.	Interino
CALVO Carlos J.	Anatom. y Fisiolog. Pat.	Interino
CAMINO Ricardo A.	Animales de Laboratorio	Interino
CARDOSO Luisa del R.	Zotec. Gral. y Agrset.	Interino
CATALANO Vicente A.	Sección Audiovisuales	Interino

///

CERRUTTI Augusto S.	Fisiología	Interino
COLOCCHIA PAYRA Lilian G.	Anat.y Fisiol.Pat.	Interino
CORTEZ Guillermo F.	Higiene Epid.y S.Púb.	Interino
CORREGGES Marta M.	Anat.y Fisiol.Pat.	Interino
CREDARO Cristina N.	Análisis Clín,II Pte.	Interino
D'AGOSTINO Liliana E.	Introd.a la Bioquímica	Interino
DE LUCA Mirta G.	Zotec.Especial I Pte.	Interino
DELGADO CAFFE Osvaldo L.	Bioestadística	Interino
DOMINELLI Heraldó A.	Patolog.Quirúrg.y Pod.	Interino
ELSO Liliana E.	Patolog.Reprod.y Obst.	Interino
BARINA Carlos M.	Enfermedades Infeccios.	Interino
ORIENTI Liliana E.	Microbiolog.Aplicada	Interino
FRIGOLI Alicia E.	Introd.a la Biofísica	Interino
GARCIA FRONTINI María V.	Parasit.y Enf.Parasit.	Reemplaz.
GONZALEZ Ester T.	Microbiología Aplicada.	Interino
GONZILLO Carlos E.	Farmac.Farm.y Terap.	Interino
GUILLEN Griselda	Análisis Clín. Ipat.	Interino
IRIGOYEN Isabel A.	Introd.a la Bioquímica	Interino
KNÄVERHASE Federico L.	Patolog.Reprod.y Obst.	Interino
LASTA Gregorio	Semiología y Propedeútic.	Reemplaz.
MEZERA Ana María	Clín.Pequeños Animales	Interino
SENSA Daniel A.	Micol.Méd. e Industrial	Interino
OMERO Jorge E.	Parasit.y Enf.Parasit.	Interino
SANGUINETTI Héctor R.	Anat.y Fisiolog.Pat.	Interino
SEILLANT Carlos A.	Patología Médica	Reemplaz.

DIRECCION DE ENSEÑANZA -- 3 de febrero de 1981.--

ghc.-

HIPOCUPREMIA EXPERIMENTAL EN BOVINOS:  
EFECTO DEL TRATAMIENTO CON SULFATOS  
Y MOLIBDENO SOBRE ALGUNOS PARAME-  
TROS SANGUINEOS, HEPATICOS Y  
GANANCIA DE PESO



por

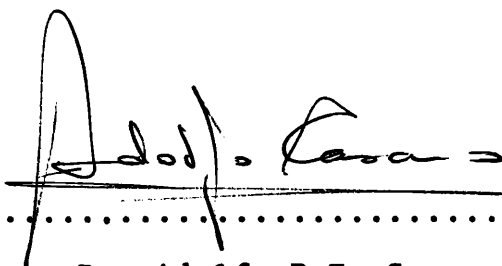
MIGUEL ANGEL QUIROGA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

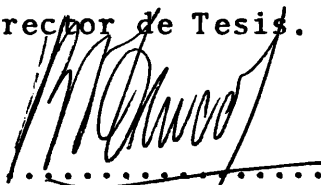
MARZO, 1981

HIPOCUPREMIA EXPERIMENTAL EN BOVINOS:  
EFECTO DEL TRATAMIENTO CON SULFATOS  
Y MOLIBDENO SOBRE ALGUNOS PARAME-  
TROS SANGUINEOS, HEPATICOS Y  
GANANCIA DE PESO.

Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar  
al grado académico de Doctor en Ciencias Veterinarias  
de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Univer-  
sidad Nacional de La Plata, llevado a cabo en la Uni-  
dad de Investigaciones en Patología Animal de la  
EERA-INTA-Balcarce.



.....  
Dr. Adolfo P.E. Casaro  
Director de Tesis.



.....  
Dr. Raúl Esteban Trucco  
Asesor de Tesis.

## INDICE

- I) INTRODUCCION E IMPORTANCIA DE LA ENFERMEDAD.
- II) CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS DEL COBRE.
- III) FUENTES DE COBRE.
- IV) METABOLISMO DEL COBRE:
  - A) Absorción
  - B) Transporte y Utilización
  - C) Excreción
- V) DEFICIENCIA DE COBRE:
  - A) Introducción
  - B) Sinonimia
  - C) Antecedentes históricos
  - D) Mecanismos de producción de la deficiencia.
  - E) Manifestaciones clínicas de la deficiencia.
- VI) TRABAJO EXPERIMENTAL
  - A) Efecto del agua de bebida con tres niveles de sulfatos sobre las concentraciones de Cu en sangre e hígado en bovinos,
    - 1) Introducción
    - 2) Materiales y Métodos
    - 3) Resultados
    - 4) Discusión
    - 5) Conclusiones
  - B) Efecto del tratamiento con  $\text{Mo}^{\text{=}}$  y  $\text{SO}_4^{\text{=}}$  sobre los niveles de Cu sérico, de Cu hepático y sobre la ganancia de peso en bovinos.
    - 1) Introducción
    - 2) Materiales y Métodos



- 3) Resultados
- 4) Discusión
- 5) Conclusiones

VII) RESUMEN

VIII) AGRADECIMIENTOS

IX) BIBLIOGRAFIA

## I) INTRODUCCION E IMPORTANCIA DE LA ENFERMEDAD

La deficiencia de Cu es una enfermedad nutricional, causada por una alteración del metabolismo del Cu, afectando su absorción, transporte y utilización del elemento por el organismo animal.

Esta deficiencia es considerada como una de las más importantes que afectan a vacunos con aptitud carnífera en Argentina, por su efecto sobre la producción. El ganado lechero, generalmente alimentado con granos y/o suplementos protéicos, que aportan cantidades adicionales de Cu a la dieta, no padece esta deficiencia.

La presentación clínica o subclínica de la enfermedad afecta la producción a distintos niveles, alterando el desarrollo corporal, la eficiencia en la ganancia de peso, y la terminación del animal; a nivel reproductivo, puede traducirse en bajos porcentajes de preñez y de parición.

En nuestro país, la enfermedad ha sido detectada en la provincia de Buenos Aires, principalmente en la depresión del Río Salado; en la provincia de Córdoba, en su región SO, y en la zona aledaña de la provincia de Santa Fé, ambas incluídas dentro de los "bajos submeridionales".

La casuística registrada por la Unidad de Patología Animal del INTA Balcarce indica que la mayor cantidad de casos se diagnosticó en la provincia de Buenos Aires, en las localidades de Adrogué, Ayacucho, Azul, Balcarce, Benito Juárez, Bolívar, Bonifacio, Camet, Carlos Casares, Castelli, Coronel Pringles, Chascomús, Dufaur, Dolores, Gonzalez Chaves, General Pirán, Guaminí, Huanguelén, Lamadrid, Labardén, Madariaga, Maipú, Pehuajó, Piedritas, Rauch, Saladillo, San Cayetano, Tandil, Tapalquén, Treinta de Agosto, Trenque Lauquen, Tres Arroyos, Vela y Viborata.

El resto, en las provincias de La Pampa, localidades de Capital, Nahuel Rucá y Pehuel Calel; Corrientes, localidad de Mercedes; Córdoba, en Villa María y Santa Fe.

Si bien el área citada es la considerada problema, es probable que la distribución geográfica abarque otras regiones del país, que escapan a la influencia de esta Estación Experimental.

La mayoría de esos diagnósticos corresponden a deficiencia secundaria ó condicionada por otros elementos; el Mo es el inhibidor más comunmente hallado.

La causa de la predominancia de este tipo de deficiencia puede fundamentarse realizando estudios geoquímicos del Cu y del Mo.

La determinación de las concentraciones de Cu en el suelo revela que, en general, los suelos del área problema no son deficitarios. Lo que sucede es que el factor PH del suelo juega un rol muy importante, ya que a PH elevados, el Cu del suelo es adsorbido a la fracción coloidal del suelo, o precipitado en sales insolubles, quedando limitada la cantidad de Cu absorbible. La consecuencia, es que se pueden detectar concentraciones de Cu menores en el forraje que crece en esas zonas.

Sin embargo, esa situación no es la causante de los cuadros deficitarios.

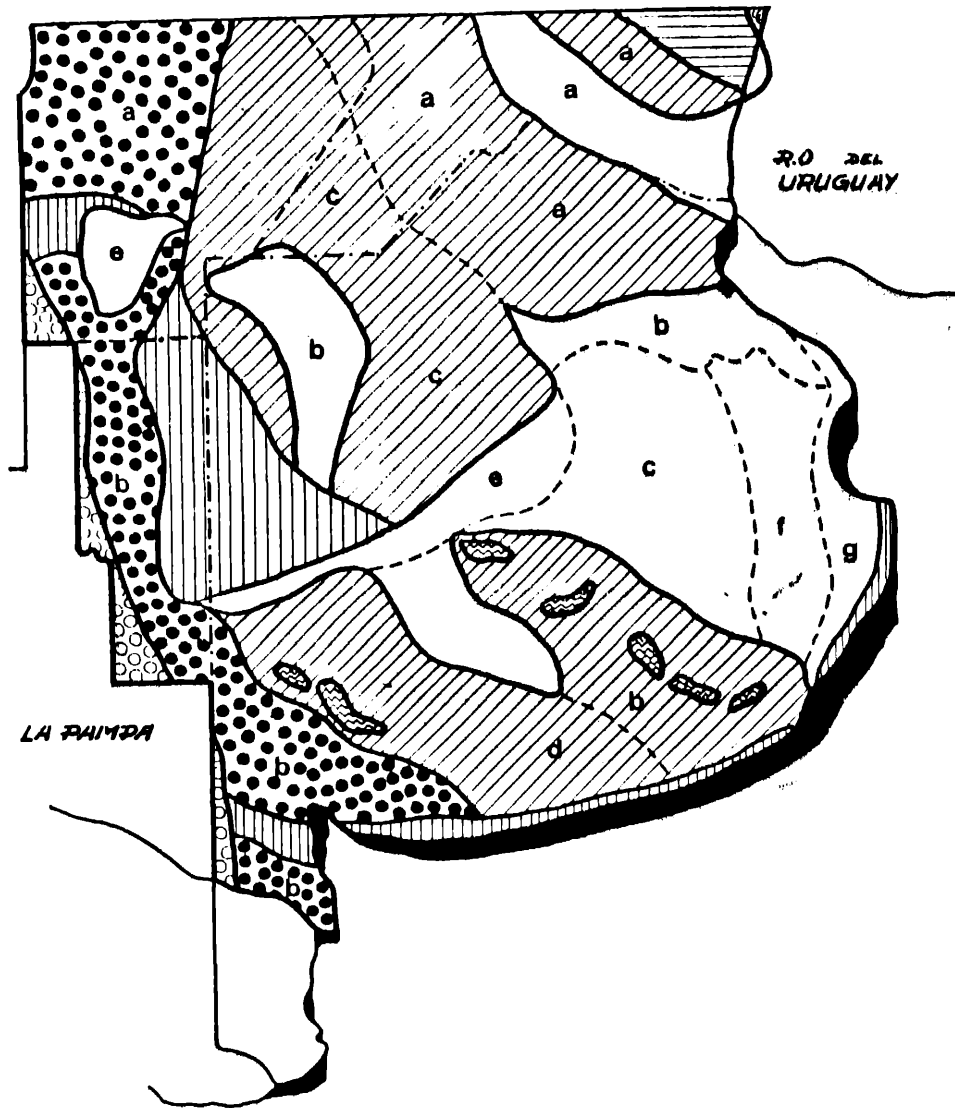
El elevado PH, a su vez permite la presencia de mayor concentración de aniones  $\text{MoO}_4^{=}$  en solución, los que son absorbidos por los vegetales, en cantidades superiores a las normales.

Esa mayor concentración de Mo en el forraje da como resultado una mayor ingestión del ión por los animales, que es el desencadenante de los cuadros de hipocuprosis diagnosticados.

La gravedad de esta enfermedad varía con la cantidad de Mo ingerida y con el tiempo de exposición al mismo.

Así, pueden observarse cuadros deficitarios, que cursan con hipocupremia, acromotroquia, anemia, fragilidad ósea, desmielinización, pobre ganancia de peso, subfertilidad, diarreas; otras veces sólo alguno ó algunos de los signos y síntomas citados están presentes.

Para graficar lo que antecede, se esquematizan los principales tipos de suelos de la zona descripta, con las características de cada uno. (Bonfils - 1966).



### SUELOS DE LA REGION PAMPEANA

- SUELOS BRUNIZEM.**  
 a: CON HORIZONTE B TEXTURAL. SIN R. (TODA CALCAREA)  
 b: CON Bt. SOBRE R.  
 c: SIN Bt. Y SIN R.  
 d: SIN Bt. SOBRE R.
- SUELOS CASTAÑOS.**  
 a: SIN R.  
 b: SOBRE R.
- SUELOS PARDOS, SOBRE R.**
- SUELOS ROSOS AMARILLO DORSOLICOS**
- COMUNIDADES HIDRO-HALOPEDICAS ASOCIADAS**  
 a: SEMIPANTANOSOS Y ALUVIABLES GLEISOLICOS  
 b: PLANOSILES Y SUELOS HALO HIDROMORFICOS  
 c: SUELOS HIDRO-HALOMORFICOS  
 d: " HIDRO-HALOMORFICOS SOBRE R.  
 e: " HALO-HIDROMORFICOS  
 f: GLEYSUBHUMICOS Y SUELOS HALO-HIDROMORF.  
 g: COMPLEJO MISCELANEO SOBRESSEDIMENTOS MARINOS
- SUELOS GRUMOSOLICOS**
- REGOSILES**
- LITOSILES**

### Suelos Brunizems:

Suelos de praderas, corresponden a un grupo de horizonte superficial oscuro negro y rico en materia orgánica, de horizontes superficiales pardos y de materiales originarios más claros, desarrollados bajo una vegetación de pastos altos, en clima templado y relativamente húmedo y en condiciones de drenaje satisfactorias.

Debido a excesos intermitentes y estacionales de las precipitaciones sobre la evapotranspiración, el solum está decarbonatado; la lixiviación no ha sido suficiente como para eliminar los cationes intercambiables del complejo coloidal, saturado por cationes alcalinotérreos.

El PH, levemente ácido en superficie, aumenta en profundidad, hasta llegar a la neutralidad en el sedimento.

#### a) Con horizonte B textural

Distribución geográfica: N.E. de Buenos Aires, centro sur de Santa Fe, E. de Córdoba, S.O. de Entre Ríos, área de las sierras de Tandil, Balcarce, incluyendo Necochea y zonas aledañas.

Drenaje: superficial lento a rápido y drenaje interno lento a moderado.

Variaciones: existencia o no de roca subyacente (tosca calcárea), signos de gleización y evidencias de lixiviación mecánica de arcilla.

Productividad: aptitud agrícola-ganadera (Tambo, cría e invernada).

b) Sin horizonte B textural

Distribución geográfica: Venado Tuerto, General Villagas, Guaminí, Adolfo Alsina, Bolívar, Bragado, General Viamonte.

Drenaje: Desagüe superficial medio y drenaje interno moderado a rápido.

Variaciones: presencia o no de roca subyacente, variación en el espesor de horizontes del contenido de materia orgánica.

Productividad: tierras muy productivas, zona principal de invernada a base de alfalfa. La agricultura produce excelentes rindes.

Suelos Castaños:

Con horizonte superficial pardo oscuro, que pasa a otro de transición más claro y finalmente a uno inferior de carbonato de calcio.

Se desarrollan bajo vegetación de bosques caducifolios y tapiz de pastos medianos.

No hay lixiviación de coloides minerales, con descarbonatación incompleta, con moderada capacidad de intercambio, los horizontes tienen límites graduales a difusos.

El horizonte A tiene reacción neutra, con PH de 6.8 a 7, aumentando en profundidad hasta 8.7 en horizonte C.

Distribución geográfica: O. de Buenos Aires, F. de La Pampa y centro de Córdoba.

Drenaje: Escurrimiento superficial lento a moderado, drenaje interno moderado a rápido.

Variaciones: diferencias texturales, presencia de nódulos calcáreos, mayor o menor profundidad del suelo debido al manto de tosca.

Productividad: aptitud agrícola ganadera, menor productividad que los brunizems. Se pueden cultivar cereales y oleaginosas. Tierras óptimas para cría e invernada.

Suelos Pardos:

Originados a partir de sedimentos arenosos y sus características provienen de la influencia de la vegetación xerófila y a la acción del clima en lugares donde el potencial de evapotranspiración es mayor que las precipitaciones.

No presentan lixiviación de coloides; con complejo de adsorción intacto y saturado en todo el perfil; con baja capacidad de intercambio, límites de horizontes de graduales a difusos.

Distribución geográfica: Límite S.O. de la región pampeana.

Drenaje: Esguerrimiento superficial medio y drenaje interno rápido.

Productividad: Solo con implantación de praderas se puede adaptar ganadería.

Suelos rojos amarillos podsólicos:

Desarrollados a partir de aluviones antiguos, la erosión hídrica participa en la evolución del suelo.

El horizonte A es arenoso, con muy poco conteni-



do de materia orgánica; el B es arcillo-arenoso, mezclado con rodados.

Hay descalsificación en todos los horizontes con valores de PH muy ácidos.

Distribución geográfica: margen O del río Uruguay hasta en ancho de 15 km.

Drenaje: Esguerrimiento superficial rápido a medio y permeabilidad moderada a rápida.

Variaciones: Referidas a la profundidad de los horizontes superficiales.

Productividad: Suelos muy expuestos al deslave y de escasa fertilidad. Pueden cultivarse cítricos y oleaginosos, previa fertilización.

#### Comunidades hidrohalopódicas asociadas

##### 1) Suelos semipantanosos:

Suelos negros y anegados caracterizados por una cubierta orgánica-mineral poco descompuesta apoyada sobre un horizonte mineral gris-azulado. Se hallan en el área insular del Delta, donde el relieve cóncavo, la capa freática alta y las inundaciones permiten el encharcamiento hasta sobre la superficie del suelo.

Debido a la riqueza de materia orgánica, y a una insaturación muy marcada, el PH es alrededor de 5.

Se distribuyen en el Delta, sector insular, y en la pampa húmeda donde se forman esteros y bañados con aguas temporarias.

Productividad: Valor agropecuario prácticamente nulo.

2) Planosoles:

Se desarrollan en condiciones de drenaje imperfecto bajo vegetación de pastos higrófilos o árboles aislados.

El regimen hídrico del suelo está afectado por una capa freática permanente y por las aguas de lluvias que forman una capa suspendida sobre el horizonte argílico.

El PH aumenta desde la superficie, yendo de 5.5-7 a 7.8.

Distribución geográfica: Región N.E. de Buenos Aires adyacentes a los brunizems.

Drenaje: Esgurrimiento superficial y drenaje interno lento a muy lento.

Productividad: Ganadería extensiva (cría); en aquellos lugares donde la capa arable es más profunda, pueden realizarse cultivos anuales con producciones aceptables.

3) Suelos halomorficos-hidromorficos:

Suelos de drenaje defectuoso, con exceso de sales neutras y cantidades anormales de sodio intercambiable, o ambos casos a la vez.

Sus rasgos evolutivos adquieren los mas variados matices, yendo desde los suelos salinos, con PH inferiores a 8.6 a los alcalinos, con PH superior a 9.

Los suelos salinos no alcalinos presentan escaso contenido de humus, con migración ascendente y descendente de sales, con PH de 8,5 y menor del 15% de Na intercambiable.

Distribución geográfica: Bajos ribereños en el Delta, área de influencia del arroyo Villamanca, Norte de Santa Fe y zonas alcalinas a salinas y lagunas con agua salada en las provincias de Buenos Aires y La Pampa.

Drenaje: Escurrimiento superficial y lento y drenaje interno lento a muy lento.

Variaciones: Se refieren al contenido y calidad de las sales y a su acumulación en el perfil.

Productividad: Suelos de escasa fertilidad natural y estériles en los lugares denominados por los peladales.

La principal utilización es pastoreo natural, actividad cría.

Los suelos salino-alcalinos, presentan un horizonte superficial compacto y agrietable, con PH mayor de 8.5 y a continuación un horizonte sódico impermeable y salinizado con PH superior a 9.

Presentan elevado contenido de sales, con horizontes diferenciados. El escurrimiento en los lugares ocupados por manchones es muy lento a nulo.

Productividad: No apto para agricultura. Su valor pastoril es muy escaso; la implantación de especies forrajeras es dudosa.

Los suelos alcalinos (solonetz) se desarrollan en regiones sub-húmedas y semiáridas y bajo vegetación de pastos o matas en áreas con drenaje imperfecto.

Presentan un horizonte nítrico, con PH superior a 9 y cantidad de sodio intercambiable superior a 15.

Distribución geográfica: Areas bajas del N-centro de Santa Fe, depresión del río Salado, Las Flores, Tapalqué, General Alvear, lugares bajos de Olavarría, Carhué, Pirán, Loberfa, etc.

Drenaje: Escurrimiento lento a moderado, permeabilidad lenta.

Productividad: Restringida a pastoreo.

Suelos Gley subhúmicos:

Presentan un horizonte humífero de 15-60 cm espesor, color gris oscuro, muy rico en materia orgánica, con PH 5-6.8.

El horizonte intermedio con precipitados de óxido de hierro es seguido de un horizonte gley donde suceden los fenómenos de reducción, sin horizonte albico.

Distribución geográfica: pampa deprimida en Buenos Aires.

Drenaje: Escurrimiento superficial lento a medio y drenaje interno lento a moderado.

Productividad: Tienen el inconveniente de los suelos encharcados, pero si se drenan superficialmente, pueden ser tan fértiles y productivos como los brunizems.

Los suelos Gley subhúmicos: se desarrollan en áreas con drenaje pobre a muy pobre; se hallan en el mismo área que los Gley húmicos, son debilmente ácidos.

4) Suelos grumosólicos:

Se hallan ubicados en la provincia de Entre Ríos, con un horizonte A de aproximadamente un metro de profundidad con escurrimiento rápido a lento y drenaje interno moderado a muy lento.

Productividad: Son tierras fértiles donde el cultivo de cereales, lino y forrajeras se desarrolla con éxito.

5) Regosoles:

Son los suelos de la pampa húmeda y semiárida, que no tienen horizontes o están debilmente expresados, con moderado contenido de materia orgánica.

Distribución geográfica: Suelos arenosos y médanos de la región subhúmeda de Buenos Aires, La Pampa y Córdoba, dunas de la costa atlántica.

Drenaje: escurrimiento superficial medio y drenaje interno medio a rápido.

Productividad: no aptos para agricultura y la ganadería puede explotarse si se aplican prácticas conservativas del suelo, para implantar pasturas artificiales.

6) Litsoles:

Formados por una masa o fragmentos recientes de rocas duras imperfectamente meteorizados.

Localizados en las sierras de la Ventana, Balcarce, Tandil y Pirán.

Productividad: Sin valor pecuario en general.

De la descripción precedente, se puede deducir que en la provincia de Buenos Aires están dadas las condiciones para que se produzca hipocuprosis condicionada; y especialmente se destaca la zona conocida como "depresión del Río Salado", identificada en el mapa dentro de las comunidades hidrohalopédicas asociadas, tipos C y F.

Para tratar de aclarar algunas dudas existentes en la patogenia del proceso deficitario, se realiza un extenso estudio del metabolismo de este oligoelemento, se citan los posibles mecanismos por los cuales se cree que se puede inducir la deficiencia, y se trata de lograr un estado hipocuproso empleando como elementos condicionales  $\text{SO}_4^{=}$  y  $\text{Mo} + \text{SO}_4^{=}$ , estudiando alguno de los parámetros que serán presumiblemente afectados. De los dos ensayos citados, se mencionan materiales y métodos empleados, resultados obtenidos, discusión y conclusiones.

## II) CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS

Antes de comenzar la descripción de las rutas metabólicas que sigue este oligoelemento desde su ingreso al organismo, hasta su excreción, se considera necesario recordar su ubicación entre los demás elementos, y citar alguna de sus características físico-químicas, las más importantes, que pueden ser de utilidad para la comprensión de lo descrito en apartados posteriores.

El Cu es un metal pesado que se halla agrupado con los elementos de transición, está ubicado en el grupo IV, Ib, de la Tabla Periódica de los Elementos.

Otras características químicas son:

Número atómico: 29

Peso atómico: 63,546

Punto de fusión: 1033°C

Punto de ebullición: 2336°C

Densidad: 8,9 g/cm<sup>3</sup>

Radio aproximado de enlace: 1.27 Å

Radio aproximado en estado iónico: (+ 1) 0,96 Å

Potencial de ionización: 1<sup>er</sup> e<sup>-</sup>: 7,72; 2<sup>do</sup> e<sup>-</sup>: 20,29.

Grados de oxidación: 1-2

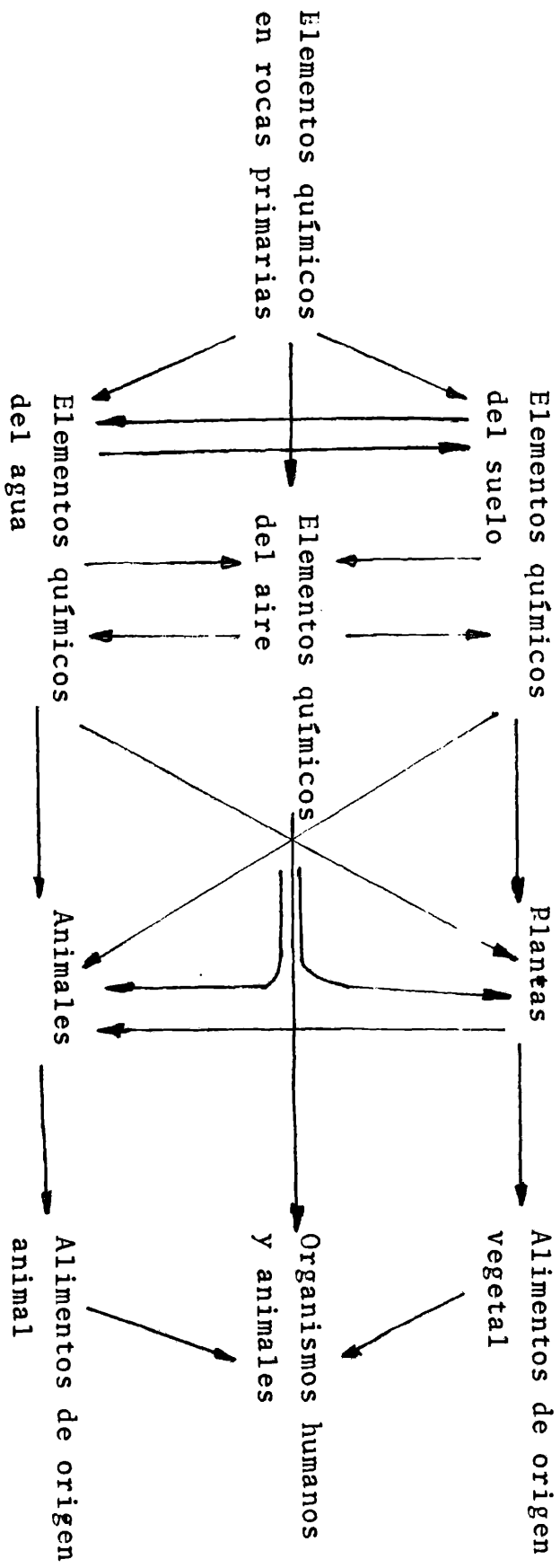
Los óxidos de Cu, son en estado de ionización más bajo, ligeramente básicos; en estados más altos, exhiben propiedades ácidas débiles.

Es un metal dúctil, maleable, de color amarillo rojizo.

### III) FUENTES DE Cu

Kovalsky (1970) esquematiza las distintas interrelaciones nutricionales necesarias para que los animales ingieran los minerales a utilizar en los distintos procesos metabólicos.





Aplicaré este esquema para describir las distintas fuentes de Cu utilizables por el animal.

La fuente primaria de Cu son las rocas que sirvieron de basamento para la posterior deposición de las capas más superficiales del suelo; principalmente rocas de origen volcánico, y rocas de origen sedimentario, (que son probablemente las que más se utilizan como depósito de este mineral).

Existen pocos lugares en que hay depósitos suficientemente abundantes para considerarlos verdaderas fuentes minerales de Cu.

Este elemento se halla adsorbido en rocas sedimentarias sobre partículas granulares, como sulfuro de Cu (SCu), en los compuestos denominados calcosita, calcopirita, covellata y como óxido de Cu, formando cuprita, malaquita, teronita.

El desgaste mineral que producen los fenómenos climáticos, viento y lluvia, llevan a una disolución de esas sales, y liberación de  $\text{Cu}^{++}$  (del total del Cu liberado, el 99% se halla como  $\text{Cu}^{++}$ ). Su química es una química de cationes.

El suelo puede inmovilizar los iones, impidiendo su llegada a la raíz de las plantas, para su posterior absorción, afectando la separación de iones entre la fase sólida y la soluble, alterando el flujo convectivo de los nutrientes. Se ha observado que cambios en la concentración de un ión en la fase soluble afecta el flujo difusible de nutrientes.

La inmovilización puede producirse por dos fenómenos: Adsorción y Precipitación.

Adsorción: por tamaño y por carga un ión es unido fuertemente a la superficie del coloide del suelo, permanece móvil en solución es una limitada cantidad, dependiendo de la capacidad de intercambio del suelo.

Precipitación: la precipitación de iones disminuye aún más su concentración en la fase soluble; se precipita como componente insoluble. La concentración de cationes que están en solución depende de los aniones presentes y del PH de la solución.

El Cu en el suelo puede hallarse formando moléculas muy estables en soluciones naturales; de tipo orgánico o inorgánico, con valencia  $2^+$ ; en condiciones de reducción, el Cu se puede hallar con valencia  $1^+$ , formando cloruros cuprosos. Puede estar adsorbido a arcillas minerales, unido por fuertes enlaces covalentes, o a carbonatos, hidróxido férrico y a la materia orgánica, que en forma de turba, lo adsorbe fácilmente.

La poca cantidad que se halla en solución, está como óxido, carbonato básico o silicato hidratado si la solución es alcalina; óxido cuproso o cobre nativo, si la solución es reductora, o como sulfuro de Cu.

La liberación del mineral puede hacerse por dos mecanismos principales: Disorción y Solución.

Disorción: los cationes transportados por el agua hacia la raíz pueden desplazar cantidades apreciables de los cationes adsorbidos, por reacciones de hidrólisis.

Solución: los suelos ácidos contienen menos nutrientes precipitados como componentes insolubles que los adsorbidos sobre la superficie. En suelos alcalinos, la mayoría de los cationes son precipitados como componentes insolubles.

Banmister (1958) según Morwadt (1972), menciona que la concentración normal de Cu en el suelo oscila entre 10-30 ug de Cu/gr.

El movimiento del agua a través del suelo, transportando los iones móviles en solución, permite la llegada de esos elementos a las proximidades de las raíces de las plantas.

Al crecer la raíz, va ocupando parte del suelo rodeándose de un conglomerado de coloides, que están en contacto unos con otros, pudiendo intercambiarse cationes y aniones unidos (cadenas activas de contacto en el coloide), los que están en equilibrio.

Los pelos radiculares se ponen en contacto con esas partículas coloidales y se desarrolla un medio ambiente de continuo intercambio influenciado por temperatura, PH, presencia de buffers en el suelo, etc.

La llegada de los iones a la raíz puede ocurrir por un gradiente de succión en la superficie de la misma, aumentado por la transpiración de la planta, o a un gradiente gravitacional (este proceso se denomina convección).

Además, todos los iones están sujetos a procesos físicos de movimiento térmico, similar al Browniano; de un punto de mayor concentración, hacia uno de menor concentración (procesos de difusión).

Así, los iones liberados del coloide llegan a ponerse en contacto con las células radiculares, y por un fenómeno de intercambio, pueden volver a reabsorberse a la fracción coloidal.

En contacto con las células radiculares, principalmente meristemáticas, los iones pueden entrar en las mismas, paso que es controlado por la actividad metabólica celular, contra un gradiente.

La absorción activa del Cu es controlada por "carriers".

El Cu en la planta se puede hallar unido a enzimas, como peroxidases y laccasas.

Se deposita principalmente en las hojas unido a complejos orgánicos hidrosolubles (Lassiter y Bell, 1960).

La cantidad de cobre que es ingerido por los animales, en este caso rumiantes, depende de varios factores, como disponibilidad de Cu en el suelo; especie, género y variedad del vegetal y estado vegetativo del mismo.

La disponibilidad de Cu en el suelo puede ser aumentada con el agregado de productos a base de Cu como fertilizantes.

La implantación de sistemas de riego, si bien favorece el crecimiento vegetal, puede producir un lavado que arrastra parte del Cu del suelo, y al hacer aumentar el PH, disminuye el Cu disponible.

Hay distintas especies vegetales que manifiestan avidez para acumular Cu.

La elevada concentración de éste oligoelemento en algunos vegetales hortícolas como tomate y achicoria; la variabilidad en los niveles de gramíneas (-Cu) y leguminosas (+Cu), entre distintos géneros de gramíneas o de leguminosas y entre los distintos estados vegetativos de esas plantas, implica la necesidad de destacar su importancia como origen de determinados estados deficitarios de este elemento.

El hombre puede proveer a los animales de una fuente adicional de Cu, suministrándoles sales de Cu o harinas

de origen animal que contienen Cu.

Esta práctica se emplea rutinariamente como método profiláctico en los rodeos que se sospecha o diagnostica la presencia de la enfermedad. Las sales que se utilizan generalmente contienen a este mineral unido a complejos protéicos o como  $SO_4Cu$  (Sulfato de Cu).

Conocidas las fuentes de donde puede ser obtenido este elemento se describirán los procesos que darán como resultado la utilización del mismo por el animal.

#### IV) METABOLISMO DEL Cu

##### A) Absorción:

El Cu ingerido llega con la ingesta al rumen, donde se inician los procesos degradativos. El mineral obtenido en estado iónico o unido a proteínas es en parte complejado, dando compuestos insolubles, precipitable como  $SCu$ ,  $Mo_4Cu$ ,  $S_2Mo_4Cu$ , que lo vuelven inutilizable para su posterior absorción.

El Cu que no es así combinado, continúa por el tracto digestivo; una parte es absorbido y el resto excretado.

El sitio exacto de absorción no es conocido. Dick (1956) sugiere que un factor que influye en la absorción es el PH, necesitándose un medio esencialmente ácido para que se lleve a cabo la misma.

Tales condiciones se hallan en el intestino delgado, en su parte anterior y media (Kolb, 1971).

Hammond (1959) aclara que el yeyuno puede considerarse como lugar de absorción.

Sachs y col (1943), observando que al colocar este microelemento en contacto con distintas partes aisladas del yeyuno, la concentración del Cu plasmático sólo aumenta al utilizar la parte superior; sugieren que ese es el lugar principal de absorción.

El mecanismo de absorción no se realiza solo por simple difusión, sino que se sugiere la existencia de algún proceso enzimático (Gitlin y col. 1960), o energético dependiente (Jubb y Kennedy, 1973).

Mills (1956) sugiere que el Cu puede ser transportado a través de la mucosa intestinal como Cu iónico y como complejos orgánicos.

Kirchgessner y Grassmann (1970) demuestran que la presencia de aminoácidos facilitan la absorción intestinal de este mineral; investigaciones posteriores indican que los aminoácidos facilitan el transporte de Cu a través de membranas celulares de una variedad de tejidos.

El transporte de aminoácidos a través de la mucosa intestinal es un proceso energético dependiente.

Para Crampton y col. (1965) existen dos mecanismos para la absorción cúprica: una pequeña fracción es transportada del lado mucoso al seroso por un mecanismo energético de capacidad limitada. El resto es transportado dentro de la mucosa intestinal y subsecuentemente liberado al lado seroso luego de varias horas.

Como el transporte de aminoácidos a través de la mucosa intestinal es un proceso energético dependiente, el mecanismo descrito en primer término por Crampton representa al Cu transportado como complejo AA-Cu.

Recientes experimentos indican que el otro mecanismo de absorción es, en parte, mediado por proteínas.

En 1969, Starcher identifica una proteína de 10.000 daltons de peso molecular y que une Cd y Zn junto con Cu.



El Cu se halla asociado a dos proteínas distintas en el citosol. Una fracción del microelemento es contenido dentro de una proteína con propiedades físicas similares la enzima dependiente Superóxido Dismutasa.

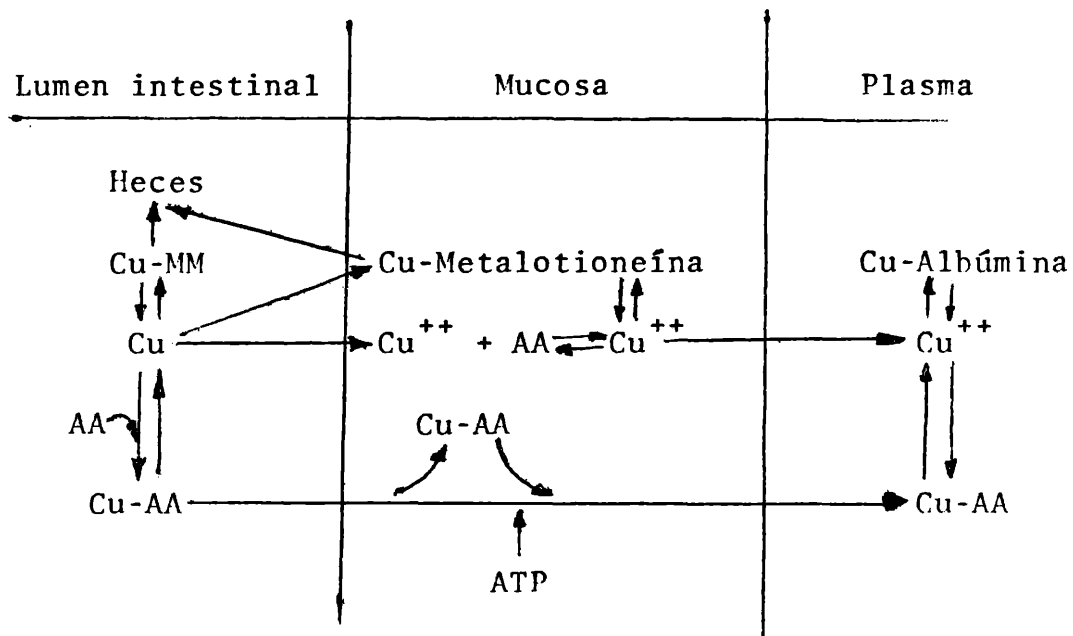
La segunda y mayor fracción de Cu en el citosol se halla unida a una proteína rica en radicales sulfhidrilos, con propiedades físicas similares a la descrita por Starcher (1969). Esta proteína, denominada Metalotioneína que purificada contiene 26 grupos sulfhidrilos, une a su molécula los metales por formación de mercáptidos.

La Metalotioneína intestinal puede tener al menos dos funciones en el mantenimiento de la homeostasis cúprica. Tal vez tiene un rol pasivo en la absorción de Cu proveyendo de sitios de unión dentro de la mucosa intestinal, para asegurar que una adecuada provisión del metal es extraída de la fuente dietética y temporariamente depositado allí para su posterior absorción. Además, esta proteína puede representar un: obtáculo mucoso protector contra la absorción de niveles tóxicos de Cu y de otros elementos vestigiales.

Para Jubb y Kennedy (1973) la absorción de Cu por la mucosa intestinal está en gran parte en función de la concentración existente; aunque el paso a través de la mucosa es de proporción limitada, no hay regulación automática de la absorción como la que controla al hierro, explicándose así los casos de intoxicaciones producidas por excesos de Cu ingeridos.

La figura 1 ilustra un mecanismo hipotético para la absorción de Cu (Evans, 1973).

**FIGURA 1:** DIAGRAMA ESQUEMATICO QUE DESCRIBE LA ABSORCION INTESTINAL DE Cu.



Referencias: AA; aminoácidos  
MM: macromoléculas

El alimento ingerido pasa a través del tracto gástrico-intestinal; el microelemento se disocia de los complejos macromoleculares y es liberado como Cu iónico o unido a aminoácidos.

Una fracción del Cu iónico se combina con los aminoácidos disponibles en la luz intestinal; el Cu complejo es transportado activamente a través de la mucosa intestinal.

La porción de Cu que atraviesa la membrana mucosa como ión no complejoado, se combina con la metalotioneína, formando un mercáptido con los grupos sulfhidrilos libres.

Cuando el elemento se disocia de la metalotioneína intestinal, el metal difunde directamente hacia el plasma o se vuelve a complejar para su subsecuente transporte hacia el lado seroso.

El Cu unido a la proteína citada es eventualmente retornado a la luz intestinal, concomitantemente con la migración y descamación de las células epiteliales. Esta fracción probablemente no es disponible para su absorción y posteriormente es excretada.

Además del mecanismo descrito, varios elementos son considerados antagonistas del proceso por el cual este mineral inicia el camino metabólico que culminará con su excreción, a posteriori de su utilización por el organismo animal.

Los mismos pueden agruparse de la siguiente manera:

1) Elementos de transición: Varios elementos químicamente similares interactúan con Cu, impidiendo su absorción, al competir por varios sitios de unión dentro de sistemas metabólicos específicos, incluyendo la absorción intestinal. Se citan Cd, Hg, Ag y Zn.

Van Campen y Scaife (1967) demostraron que Zn interactúa en un sitio en la mucosa intestinal.

Cd y Zn antagonizan la absorción de Cu compitiendo por sitios de unión o desplazándolo desde los sitios sulfhídricos de unión sobre la metalotioneína (Evans y col. 1970).

Se sugiere que las alteraciones en el metabolismo cúprico, producidas por otros elementos de transición similares químicamente, son debidas a competición por sitios de unión sobre dicha proteína intestinal.

2) Acido ascórbico: Su acción antagónica se desarrolla interactuando con la metalotioneína, inhibiendo la formación de mercáptidos, deprimiendo la unión de Cu con esa proteína.

3) Complejos de Cu dietéticos: Varios investigadores probaron que el suministro de proteínas en la dieta protege contra acumulación de niveles tóxicos de Cu. El mecanismo descrito es la formación de complejos macromoleculares que no están disponibles para la absorción. El ácido fítico también puede tener efectos inhibitorios formando fitatos.

4) Molibdeno: Forma complejos MoCu insolubles que limitan la absorción de Cu.

5) Sulfatos: En rumen son degradados a  $S^{=}$  y uniéndose al Cu disminuyen la cantidad de Cu absorbible.

Mo y  $SO_4^{=}$  pueden interactuar y formar complejos  $SMoO_4Cu$ , (Underwood, 1968) que inhiben su absorción.

Del total de Cu ingerido en la dieta, el porcentaje que realmente es absorbido y puede ser utilizable por el organismo no sobrepasa el 5%; el resto es excretado por heces y orina (Jubb y Kennedy, 1973). Esta cifra demuestra la importancia de los factores que limitan su utilización.

B) Transporte y Utilización:

Una vez absorbido el Cu es transportado a través de la sangre portal hacia distintos tejidos y órganos. El hígado, cerebro, corazón y riñón son los que almacenan mayores cantidades del elemento. También es hallado en pulmón, intestino, bazo y en glándulas endocrinas, músculos, hueso y médula ósea.

La tabla 1 ejemplifica numéricamente lo expresado.

TABLA 1: CONCENTRACION DE Cu EN DISTINTOS ORGANOS DE BOVINOS, EXPRESADA EN PARTES POR MILLON DE MATERIA SECA (PPM); (Underwood, 1968)

Organo Animal	Hígado	Corazón	Riñón	Pulmones	Bazo	Páncreas
Bovino Adulto	77,0	15,6	19,7	5,3	2,9	3,8
Bovino recién nacido	470,0	14,8	15,7	4,9	4,8	8,5

En su transporte están involucrados varios elementos plasmáticos: a) la fracción albúmina. b) los aminoácidos circulantes. c) otras proteínas plasmáticas.

La fracción albúmina: transporta la mayor cantidad de Cu absorbido a través de la sangre portal hacia los distintos tejidos.

Kolthoff y col. (1957) describen el mecanismo de formación del complejo Cu-albúmina. Aunque existen varios sitios de unión Cu-albúmina, un ión Cu debe ligarse a un sitio específico y recién después se produce la complejación con otros iones Cu. Ese sitio preferencial de unión consiste en un amino nitrogenado, el nitrógeno imidazol con histidina en posición 3 y dos péptidos con uniones nitrógeno (Bradshav y Peters, 1969, Breslow, 1964).

Aminoácidos circulantes: el resto del Cu es transportado por compuestos Cu-aminoácidos (Neuman y col., 1967), que están en equilibrio con el complejo Cu-albúmina y ambos en equilibrio con el Cu iónico absorbido.

Lau y Sarkar (1971) demuestran la existencia de una unión ternaria entre albúmina sérica, Cu y el aminoácido L-histidina y sugieren que puede jugar un importante papel en el transporte del ión.

Aunque la fracción de aminoácidos unidos al microelemento representa sólo un pequeño porcentaje del Cu plasmático total, es componente vital del mecanismo de transporte. Además de facilitar el transporte de Cu en sangre, facilitan el transporte del mineral a través de las distintas membranas celulares.

Otras proteínas plasmáticas: además de los "carriers" mencionados, otras proteínas pueden complejar al Cu y transportarlo hasta el sitio de su utilización. Los complejos mencionados son identificados como Cobre de acción directa.

Al llegar el complejo Cu-albúmina o Cu-aminoácidos a los eritrocitos, se produce la liberación del ión de la proteína, y su penetración, unido a amino-

ácidos.

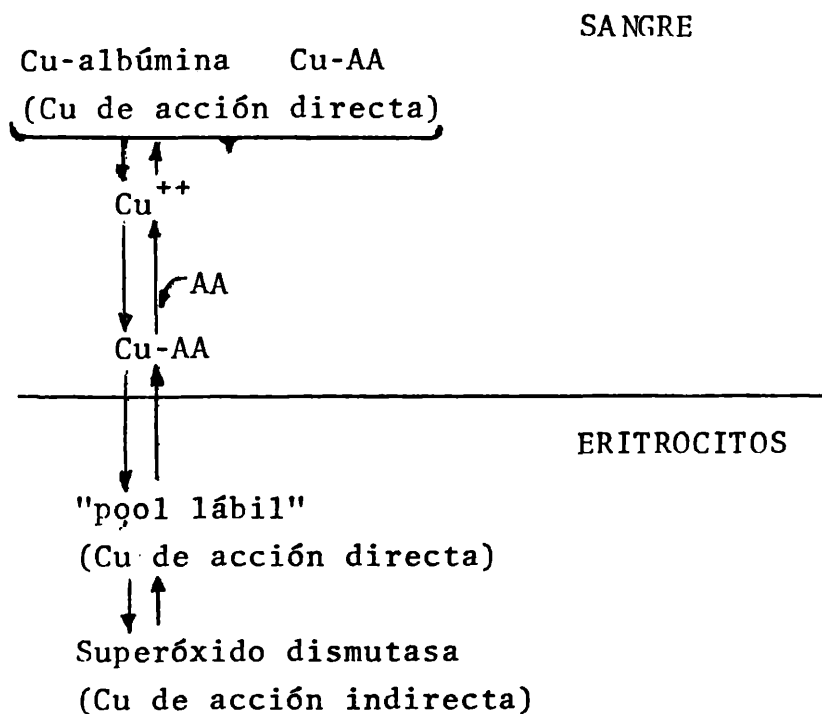
Dentro de los eritrocitos, parte del Cu es contenido dentro de un compartimento libremente dializable, designado como "pool lábil", donde se sugiere que se halla complejado con aminoácidos (Bush y col., 1956, Neuman y col., 1967) y en equilibrio con los complejos Cu-aminoácidos y Cu-albúmina citados.

El resto es asociado con la enzima Superóxido dismutasa, antes conocida como eritrocuprefina, que se halla en equilibrio con el "pool lábil".

La fracción dializable citada es probablemente necesaria para asegurar una adecuada provisión de Cu para mantener la actividad de la Superóxido dismutasa.

La figura 2 esquematiza el equilibrio existente entre el Cu plasmático y el Cu eritrocitario.

FIGURA 2: RELACION Cu PLASMÁTICO ↔ Cu ERITROCITARIO



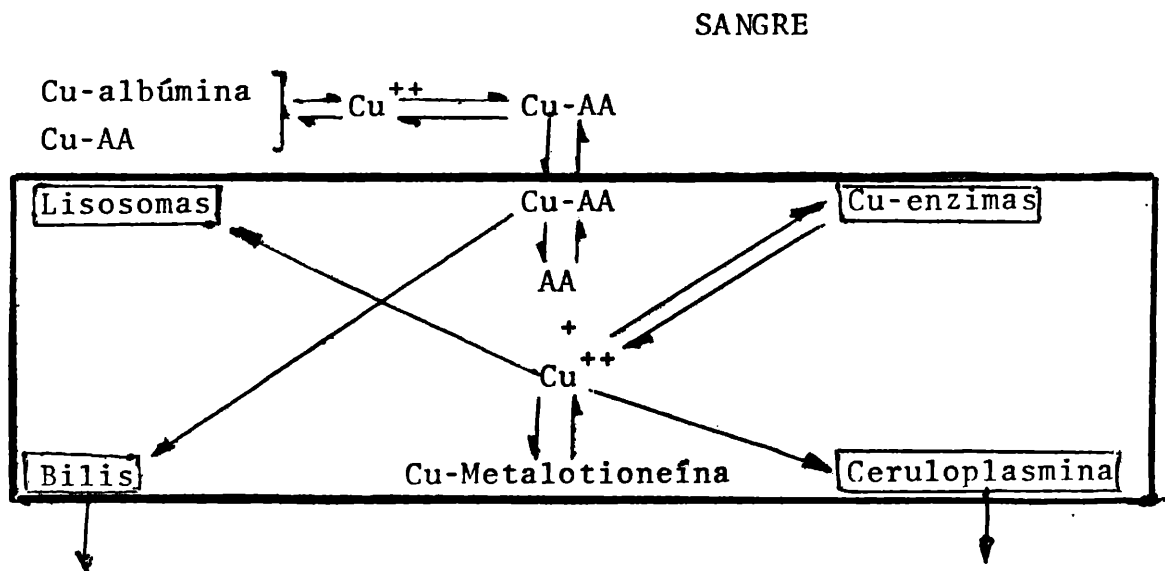
El contenido total de Cu eritrocitario permanece constante, independientemente del estado de Cobre del animal. Aunque el Cu eritrocitario está circulando, esta fracción no está involucrada en el transporte del metal a y desde los tejidos.

En el hígado se realizan varios procesos importantes en el metabolismo del mineral:

- 1- Depósito temporario de Cu.
- 2- Incorporación del mismo a una  $\alpha_2$  globulina (ceruloplasmina)
- 3- Preparación para su excreción en bilis.

La figura 3 esquematiza el metabolismo cúprico al nivel hepático.

**FIGURA 3:** ESQUEMA DEL METABOLISMO CUPRICO EN UN HEPATOCITO NORMAL.





### 1) Distribución subcelular y depósito de Cu:

Aunque la proporción varía marcadamente con la edad y los estados de Cu este mineral se halla distribuido en las fracciones subcelulares hepáticas asociado a enzimas Cu dependientes y proteínas específicas.

En la fracción microsomal, el Cu hallado probablemente procede de las proteínas cúpricas recientemente sintetizadas que están siendo transportadas a otros sitios celulares para utilización o secreción.

Whanger y Neswig (1970) sugieren que el Cu en esta fracción es utilizado para la síntesis de ceruloplasmina.

La fracción nuclear es considerada un sitio potencial para depósito temporario de Cu; una parte del mismo está involucrada en el metabolismo celular, en el encadenamiento de polinucleótidos.

La fracción lisosomal probablemente secuestra el exceso de Cu, en un paso previo a la secreción biliar.

La fracción mitocondrial contiene una proteína cúprica designada con el nombre de Mitocondriocupreína hepática neonatal, a la que Porter (1964) le ha asignado dos funciones: reservorio de Cu para la formación de citocromo oxidasa durante el desarrollo neonatal e involucrada en la prevención de la toxicidad de Cu.

La fracción restante, el citosol, contiene enzimas Cu dependientes pero principalmente Metalotioneína, cuya función es probablemente depósito y detoxificación de Cu en el hígado.

Esta proteína antes era conocida como Hepatocupreína.

2) Síntesis de ceruloplasmina: La síntesis y posterior secreción de ceruloplasmina al plasma son mecanismos importantes en el metabolismo del Cu.

Además de la función enzimática de la ceruloplasmina, la globulina también cumple funciones en el mantenimiento de la homeostasis hepática del Cu, eliminándolo del hígado.

Cuando son incrementados los depósitos hepáticos de Cu, por medio de dietas con alta concentración de ese mineral, o con inyecciones conteniéndolo, se produce una mayor síntesis de la  $\alpha_2$  globulina, que ayuda a mantener la concentración cúprica hepática, al transportar una porción de ese micronutriente desde la célula hepática.

Holzman y Gaummtz (1970) citan la existencia de dos tipos de ceruloplasmina, apoceruloplasmina y holoceruloplasmina.

La tasa de síntesis y liberación de apoceruloplasmina en animales hipocuprosos se mantiene, independientemente de la disminución de la reserva hepática, pero su actividad oxidasa está disminuída, como resultado de la inestabilidad de la apoproteína.

En animales normocuprémicos, la holoceruloplasmina es producida y liberada al plasma a tasa constante, pero es estable.

Cuando la concentración hepática alcanza un nivel crítico, la síntesis de ceruloplasmina es acelerada, en respuesta al "pool" hepático aumentado.

Hipotéticamente, el mecanismo de la inducción de síntesis de ceruloplasmina es probablemente similar a la inducción de sistemas enzimáticos de sustratos específicos. Cu en exceso puede combinarse con un producto del gen regulador de ceruloplasmina, provocando incremento en la producción de modelos RNA de ceruloplasmina.

3) Excreción biliar de Cu: La vía biliar es la mayor vía de excreción de Cu del cuerpo. Gollan y col. (1971) mencionan que la bilis contiene componentes cúpricos de bajo peso molecular, y de elementos macromoleculares.

Esos autores indican que los componentes de bajo peso molecular se hallan principalmente en la bilis hepática y las fracciones macromoleculares en la bilis vesicular.

La fracción de peso molecular bajo son aminoácidos y péptidos; la fracción macromolecular son moléculas no específicas de elevado peso.

El Cu unido a aminoácidos probablemente representa una de las formas de transporte a través de los canalículos biliares.

La fracción de Cu biliar unido a macromoléculas puede provenir al menos de dos fuentes:

A) Cu que penetra en los canalículos biliares y que se combina inespecíficamente con proteínas en la bilis.

B) Cu unido a proteínas que es depositado en la bilis como resultado de catabolismo protéico y pinocitosis por los lisosomas hepáticos (Gregoriadis y col., 1970).

Observando la circulación enterohepática de Cu, se deduce que la reabsorción del Cu biliar es despreciable, dependiente del grado de unión protéico.

Durante la fase inicial de la excreción biliar de Cu, el metal entra en la bilis unido a compuestos de bajo peso molecular; posteriormente, la proporción de Cu complejoado con macromoléculas incrementa como resultado de la asociación de Cu con proteínas biliares y una secreción aumentada de proteínas cúpricas y enzimas hacia la bilis (Mistilis y col, 1968), (Farrer y col, 1967).

En los tejidos extrahepáticos el metabolismo de este oligoelemento principalmente involucra el depósito de Cu, la síntesis normal y degradación de enzimas Cu-dependientes.

Underwood (1962) ha hallado vestigios de Cu en algunas glándulas endócrinas (hipófisis, tiroides, páncreas) e incluso en los tejidos constituyentes del ojo y accesorios: iris, coroides, humor vítreo, retina, nervio óptico, esclerótica y cristalino.

La susceptibilidad de los tejidos a presentar variaciones cuando varía la cantidad de Cu ingerido es distinta.

Las glándulas endócrinas, músculos, el corazón, el cerebro y la piel son más resistentes a cambios en la ingesta; la concentración de Cu hepático, en riñón, bazo y pulmón puede incrementarse por elevadas ingestiones de Cu, o reducirse en estados de hipocuprosis. (Underwood, 1968).

Entre las enzimas Cu-dependientes que actúan en el organismo animal se pueden citar:

- 1- Ceruloplasmina.
- 2- Citocromooxidasa,
- 3- Monoaminoxidasa
- 4- Tirosinasa
- 5- Superóxido dismutasa.
- 6- Oxidasa del ácido ascórbido.
- 7- Uricasa.
- 8- Butiril CoA deshidrogenasa.
- 9-  $\delta$ -aminolevulínico deshidratasa.

1- Ceruloplasmina: Es una proteína plasmática, color azul oscuro. Su peso molecular es de 160.000 Daltons, y la proteína contiene 0,32% Cu, u 8 átomos de Cu por molécula; es una glicoproteína con 7% de H de C. Es heterogénea. Su heterogenicidad proviene de las alteraciones en las subunidades que comprenden la estructura octomérica de la proteína (Poulik, 1968).

Su función es oxidar las diaminas aromáticas, si bien esto tiene valor diagnóstico, es desconocida su importancia fisiológica.

Es considerada una proteína multifuncional. Osaki y col.,(1964) observan que ceruloplasmina oxidiza epinefrina, nor-epinefrina, serotonina y melatonina, y controla el nivel plasmático de ciertas aminos; esto es afirmado por observarse la elevación de la concentración plasmática de ceruloplasmina, en casos de stress (Rice y col., 1960, Evans y col., 1970).

También es esencial en la hematopoyesis. Para la producción normal de Hb, el hierro debe ser movilizado de las células de depósito en intestino, hígado y sistema retículo endotelial a las células de la médula ósea (Jandl y col, 1963). La transferrina que une al hierro férrico, es la única proteína conocida que provee hierro a las células de la médula.

El hierro entra a la sangre, de las células de depósito, en estado ferroso; el mineral debe ser oxidado previo su incorporación en la apotransferrina. La oxidación no enzimática de hierro ferroso no es suficiente para mantener producción normal de Hb (Osaki y col., 1966).

Cuyon y O'Reilly (1960) observan que la ceruloplasmina cataliza la oxidación del ión ferroso. Osaki y col (1966) sugieren que esta enzima promueve la transferencia de hierro desde las células de depósito a la transferrina plasmática; designándola con el nombre de Ferroxidasa I. La ferroxidasa II, otra enzima plasmática que oxida al ión ferroso, es conocida hace pocos años (Topham y col, 1970). La actividad de la ceruloplasmina es incrementada por concentraciones bajas de iones monovalentes (Cl, Br, Acetato); elevadas concentraciones de esos iones pueden inhibirla.

2- Citocromooxidasa: Esta enzima, oxidasa terminal en la cadena transportadora de electrones de la mitocondria, requiere Cu para su actividad catalítica (Griffiths y Wharton, 1961).

Cada monómero hidrosoluble contiene una molécula de heme, un átomo de hierro y uno de Cu.

Su función es catalizar la oxidación del citocromo C por oxígeno molecular en el proceso el oxígeno es reducido a agua.

Probablemente el citocromo C reduce el Cu de la citocromooxidasa, seguido por la reducción de oxígeno en una serie de etapas que producen radicales oxígeno (Bemert y col, 1962).

Como enzima terminal en el proceso de fosforilación oxidativa, es esencial en el metabolismo celular.

Es inhibida por bajas concentraciones de cianuro, lo que explica la susceptibilidad de los animales a la intoxicación con ese producto. La radiación produce peróxidos orgánicos que oxidan los iones cuprosos de la enzima al estado cúprico; el Cu en ese estado no puede reaccionar con el oxígeno molecular, perjudicando la respiración celular.

3) Monoamino oxidasa: Varios tipos de monoamino oxidasa están distribuidas por el cuerpo.

Se ha purificado una enzima del plasma bovino, con un peso molecular de 195.000 daltons, conteniendo 4 átomos de Cu por molécula (Yamada y col, 1962), cuya función es catalizar la desaminación oxidativa de varias monoaminas con la formación estequiométrica del aldehído, amonio y peróxido de hidrógeno correspondiente (Tabor y col, 1954).

Rucher y col. en 1970 purifican una amino oxidasa similar a la anterior de la aorta bovina, que cataliza la deaminación oxidativa de la peptidil lisina, para formar peptidil amino adipica semialdehído, el precursor de

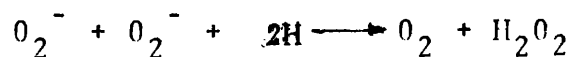
los componentes del entrecruzamiento que ocurre en las proteínas de los tejidos elásticos y conectivo. Esta enzima está involucrada en el mantenimiento de la integridad estructural de los tejidos vascular y óseo. Es requerida para catalizar la deaminación oxidativa de los grupos  $\alpha$ -amino de residuos de lisina en las cadenas peptídicas de elastina, la mayor proteína del tejido vascular. Ello da como resultado la formación de desmosina, el componente que forma el entrecruzamiento en la elastina.

La estabilidad del colágeno, proteínas estructural de los tejidos conectivos y óseo, depende de la deaminación oxidativa de los residuos de lisina (Chou y col., 1969, Coulson y Carnes, 1963, Hill, 1964).

4- Tirosinasa: Esta enzima Cu dependiente cataliza las dos primeras etapas en la síntesis de melanina, a partir de tirosina, Lerner y col (1950).

5- Superóxido Dismutasa: Tiene un peso molecular de 34000 daltons, 0,34% de Cu y dos átomos de Zn por molécula. Tres proteínas cúpricas: eritrocupreína, hepatocupreína y cerebrocupreína, son idénticas a la superóxido dismutasa.

Mc Cord y Fridovich (1970) demuestran que cataliza la dismutación de los radicales aniónicos superóxido libres (reacción 1) según la siguiente fórmula, dando peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular:





Esta enzima puede tener un rol vital en la protección de la célula de los efectos perjudiciales del radical superóxido.

El radical superóxido puede reducir al citocromo C, lo que indica la necesidad de remover este anión para prevenir la fijación del citocromo C en estado reducido (Evans, 1973).

6- Oxidasa del ácido ascórbico: El ácido ascórbico es una lactono de un ácido hexónico, compuesto muy inestable que se oxida a ácido deshidro ascórbico. Esta enzima cataliza la reacción descrita (Lenninger, 1978).

7- Uricasa: Es una enzima que cumple su función en el proceso de degradación de las purinas, transformando el ácido úrico en alantoina; denominada también urato-oxidasa (Dukes, 1967., Lenninger, 1978).

8- Butiril CoA Deshidrogenasa: Tiene por sustrato la Acetil Co-A saturada; actúa en uno de los pasos de la oxidación de los ácidos grasos.

9- δ- Aminolevulínico Deshidratasa: En la biosíntesis de las porfirinas, un paso importante es la condensación de 2 moléculas de δ-amino levulinato para formar una de profibilinógeno. Esta enzima, conocida como profibilinógeno sintasa cataliza esta reacción.

Otras enzimas Cu-dependientes son: Dopamina oxidasa, galactosa oxidasa, cuya función es oxidar la dopamina y la galactosa, respectivamente.

Esta descripción puede dar una idea de la importancia de este mineral, participando en gran parte de los procesos metabólicos que se desarrollan en el organismo animal.

El metabolismo del Cu, dentro del organismo, es regulado hormonalmente. Algunas de las hormonas involucradas en su homeostasis, son:

1) Somatotrofina: A través de su efecto sobre la síntesis proteica, incide sobre los niveles de Cu (Evans 1973).

2) Adenocorticotrofina: Actúa sobre el metabolismo del Cu en el organismo animal, en forma indirecta, promoviendo la secreción de corticoides adrenales.

3) Corticoides: Favorecen la excreción biliar de Cu, regulando la concentración, en parte por su acción colerética.

4) Hormonas de la médula adrenal: Producen un incremento del Cu sérico y de ceruloplasmina plasmática.

5) Hormonas tiroideas: Aunque no está muy clara su influencia se cree que deprimen los niveles de Cu plasmático y de ceruloplasmina, en forma similar y tal vez sinérgica, con los corticoides (Cheek y col., 1966).

6) Estrógenos: Producen aumento de Cu sérico y ceruloplasmina.

7) Andrógenos: Afectan en forma similar los niveles de Cu circulante, resultado probable del incremento de la ceruloplasmina circulante.

### C) Excreción:

A través de la bilis la mayoría del Cu es transportado al tracto intestinal y la mayor parte excretado junto con la materia fecal (Underwood, 1968; Jubb y Kennedy, 1973); el resto, una cantidad mínima, puede ser reabsorbido a través del ciclo entero-hepático.

La otra vía por la cual se excreta el microelemento es por vía urinaria.

Como la mayoría del Cu en la sangre circulante está unido a ceruloplasmina, o confinado dentro de los eritrocitos, muy poco Cu atraviesa los capilates glomerulares y la excreción urinaria se considera despreciable en condiciones normales (Owen, 1964).

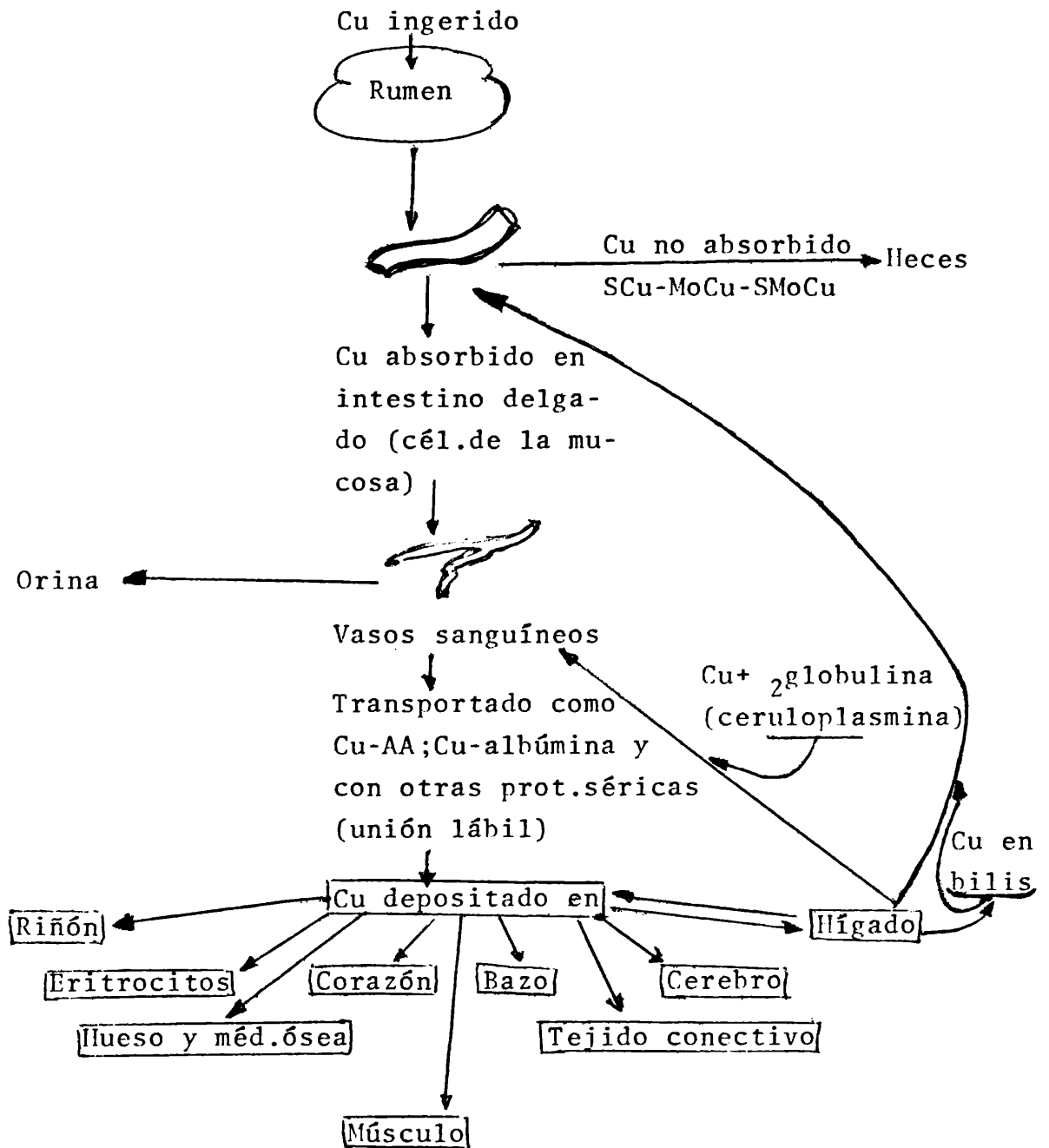
La pequeña fracción de Cu ingerido que se halla en orina, probablemente proviene de la fracción unida a aminoácidos, y de la disociación del complejo Cu-albúmina (Evans, 1973).

La presencia de Cu en la secreción de la glándula mamaria puede considerarse como vía de excreción. Las cantidades detectadas son mínimas: 0,2 ug/litro de leche. El calostro excreta aproximadamente 0,6 mg/litro.

Es probable que exista una barrera mamaria, que impide el incremento de la concentración de Cu en la leche, aún cuando el animal recibe suplementación; en contraposición, si el animal recibe una dieta Cu deficiente, se refleja en una disminución del contenido de Cu lácteo (Underwood 1962).

La figura 4 resume el metabolismo del Cu.

FIGURA 4: METABOLISMO DEL COBRE



## V) DEFICIENCIA DE COBRE

### A) Introducción:

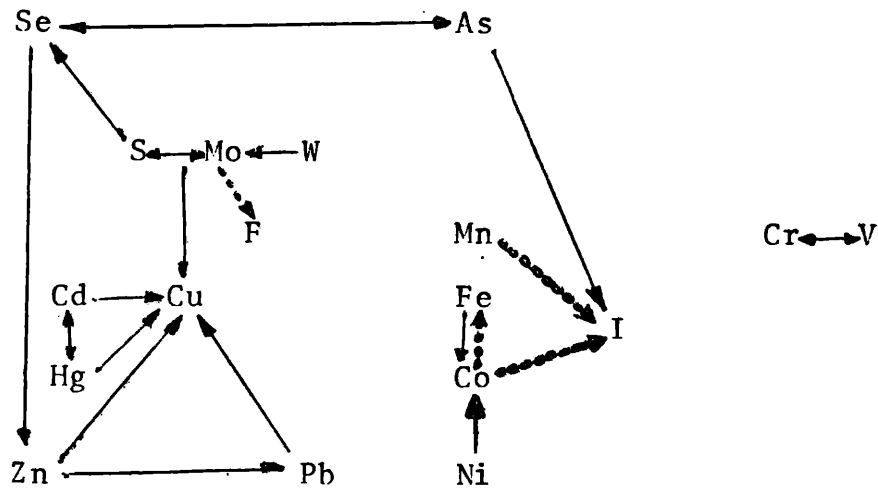
Los animales necesitan cubrir todos sus requerimientos con la dieta para poder desarrollarse y producir carne, terneros y/o leche con la mayor eficiencia.

Los minerales deben ser incluidos dentro de esos requerimientos; pese a que sólo son necesarios en cantidades mínimas, el no considerarlos puede llevar a la presentación de estados deficitarios. La deficiencia de Cu, causada por carencia del mineral en la dieta, es un ejemplo. Ya en 1941, Green (según Underwood, 1968) tiene en cuenta la importancia de los microelementos al expresar que la catálisis enzimática es la única explicación racional de como una cantidad vestigial de un elemento puede producir profundos efectos biológicos.

Pero la sola presencia de determinado mineral en la dieta, en cantidades adecuadas, no garantiza que los requerimientos del animal estén cubiertos. Esto es debido a las complejas interacciones minerales que pueden darse en el organismo animal; algunas son beneficiosas por su acción sinérgica; otras, son negativas y dan como resultado deficiencias uni o multifactoriales.

La figura 5 esquematiza algunas de las interacciones que pueden producirse entre los distintos animales (Davies, 1974).

FIGURA 5: INTERACCIONES MINERALES



La dirección de una flecha entre dos elementos indica la interacción de antagonista, a agonista.

Interacción Negativa: —————>

Interacción Positiva: .....>

De los elementos que, según la figura, interactúan negativamente con el Cu, los más conocidos son  $\text{MoSO}_4$  y Zn.

Kovalsky en un trabajo publicado por Mills (1970) se refiere a la "ecología geoquímica de los organismos bajo condiciones de contenidos variables de microelementos en el medio ambiente", mencionando las concentraciones necesarias en que deben estar los minerales en el suelo para que no se produzca la deficiencia de alguno de ellos.

Como precedentemente se citó, existe una estrecha relación entre la concentración de oligoelementos en el suelo y los niveles de éstos en el forraje y en el agua.

En las tablas siguientes se indican los valores de Cu, Mo,  $\text{SO}_4^=$  y Zn en suelo, agua y pastos considerados normales para bovinos; el efecto de las posibles interacciones minerales está contemplado en esas cantidades.

TABLA 2: CONCENTRACIONES NORMALES DE Cu, Mo y Zn EN SUELOS (EXPRESADAS EN % DEL SUELO SECO POR AIRE)

Cu:  $15-60 \times 10^{-4}$   
 Mo:  $1.5 - 7 \times 10^{-4}$   
 Zn:  $3 - 7 \times 10^{-4}$

TABLA 3: VALORES NORMALES DE  $\text{SO}_4^=$  Y SALES TOTALES EN EL AGUA DE BEBIDA: (en mgs/litro)

$\text{SO}_4^=$ : 250 - 260	(hasta 2.000	} límites máximos de potabilidad para el ganado
SALES TOTALES: 1.250	(hasta 10.000	

TABLA 4: VALORES DE Cu, Mo y  $\text{SO}_4^=$  CONSIDERADOS NORMALES EN EL FORRAJE (en p.p.m.)

Cu: 5-8 ppm  
 Mo: 2-3 ppm  
 Relación Cu/Mo: 2:1 ó más  
 $\text{SO}_4^=$ : 0,5% de la materia seca

Observaciones: existen fluctuaciones estacionales de estos valores.

Para la confección de las tablas 2, 3 y 4 se tomaron los datos citados por Kovalsky y completados con los hallados por el Dr. Bingley en una serie de ensayos realizados en la E.E.R.A. Balcarce.

Con esos valores en suelo, pastos y agua, es de esperar que los bovinos tengan concentraciones de Cu en sangre que oscilan entre 0,5 y 1,25- 1,50 ug/ml (Jubb y Kennedy, 1973).

Para Mills, Dalgarno y Wenham (1975), esos valores son algo elevados. Para poder determinar con exactitud cuales son los valores normales reales, hay que hacer discriminación de las distintas categorías de animales que componen el rodeo.

Una división por categorías recomendada es la que considera a los animales divididos en: terneros, novillos, vaquillonas y toros de un año; idem de dos años; vacas y toros de más de dos años, mencionándose las diferencias debidas a los diferentes ecosistemas.

Mills y col.,(1975) especifican que, de la misma manera, los valores comúnmente mencionados como normales para la concentración hepática de Cu (20-25 mg de Cu/kg de materia seca) pueden considerarse 5 mg/kg menores.

Cunningham en 1950 menciona que valores de 200 ppm de Cu hepático se hallan en animales clínicamente normales.

Jubb y Kennedy (1973) citan que los valores de Cu hepático hallados para terneros son mayores que para adultos consumiendo dietas con concentraciones similares a las tabuladas, lo que reafirma el concepto de clasificación por categorías.



B) Sinonimia:

Dada la distribución mundial de esta carencia, la misma recibe distintos nombres de acuerdo a la localidad y el país en que se presente:

Lamkrius, en Africa del Sur

Falling disease, en Australia

Swayback, en Australia

Copper deficiency, en Florida

Carencia de cobre de las tierras bajas, en Holanda.

Cooper pine, en Gran Bretaña

Toque, en Brasil

Renquera, en Perú

### C) Antecedentes históricos:

Underwood, (1968) cita que hace ya 2.000 años Sófocles pensó que se aceleró la caída de Tebas a causa de una intensa mortandad de ganado provocada por agentes no identificados, aunque esos animales estaban consumiendo pastos lozanos en apariencia. Se cree que la causa fue una deficiencia mineral.

Ese autor expresa que Sanssure (1804) en Gran Bretaña demuestra que los componentes minerales de las plantas presenta variaciones que dependen del terreno donde se cultivan y de la etapa de crecimiento en que se hallan; Spiengel sugiere que esos minerales son importantes en la alimentación de los animales; Boussingault lo confirma posteriormente.

Desde el siglo XIX, comienza a estudiarse más profundamente el metabolismo de los distintos minerales.

En 1928, Hart y col. consideran al Cu como elemento esencial, como resultado de sus estudios sobre la anemia láctea de las ratas, al concluir que es necesario para la síntesis de hemoglobina en esa especie.

Posteriores estudios dan lugar a la aparición de un concepto biológico más amplio de este elemento, al descubrirse la existencia de varias enzimas Cu dependientes en el organismo animal, que tienen función oxidativa.

Paralelamente a estos descubrimientos fisiológicos se describen en distintas partes del mundo varias enfermedades de ovinos y vacunos, que se pueden relacionar con una deficiencia de Cu alimenticia o en su defecto que responden positivamente a una cuproterapia.

La "enfermedad de la sal" del ganado de Florida (Neal y col., 1931) y el "lecksucht" de los vacunos de Holanda (Sjollema, 1933), enfermedades que cursan con anorexia, diarrea y anemia, fueron las primeras enfermedades relacionadas con hipocuprosis. Morrison (1965) describe la "enfermedad de la sal" mencionando que es sufrida por el ganado, el que no progresa, se debilita y su sangre es pobre en hemoglobina; las crías son las más afectadas y con frecuencia se atrasan en su crecimiento; muchos animales mueren. En algunas zonas otros animales, ovejas y cabras son afectados.

Bennette y Chapman (1937) concluyen que una enfermedad desmielinizante designada "ataxia enzoótica de los recién nacidos" que se presenta en ovinos, es una expresión de deficiencia de Cu.

Fergusson y col. (1938) estudian una grave enfermedad del ganado de Inglaterra, que cursa con diarrea, conocida como "teart" y demuestran que se produ-

ce por la ingestión de pastos con altas concentraciones de Mo y que el proceso revierte al tratar los animales afectados con Cu.

Continuando con esta descripción cronológica, se establece la etiología de la "diarrea de las turberas" padecida por vacunos en Nueva Zelandia. El exceso de Mo ingerido produce en esos animales deficiencia condicionada de Cu.

Dick y col. (1945) concluyen que el Mo ejerce una influencia limitativa sobre las reservas cúpricas en ovejas. El mismo autor, en 1952 y 1954, observa que ese efecto inhibitorio depende del nivel de sulfato inorgánico ingerido. Suttle, años más tarde, expresa que el sulfato orgánico también puede sinergizar la acción del Mo. Se sugiere la interacción  $\text{Cu-Mo-SO}_4$  y su efecto sobre la cuprosis.

Paralelamente, se observa que las enfermedades conocidas como "lana acerada rígida" o "lana acordonada", padecida por ovinos en el oeste y sur de Australia; la "muerte súbita" o "enfermedad de las caídas" de las vacas del sur de Australia; el "tambaleo" o "swayback" o "desánimo" según Morrison (1965) diagnosticada en ciertas regiones de Inglaterra (Barlow 1960), son debidas a una deficiencia primaria o secundaria de Cu. La "enfermedad de las costas" o "border disease" es probable que sea causada por una carencia doble de Cu y Co.

En los trabajos de Huisling y col. (1972), Huisling y col. (1973), Marcillese y col. (1969), Suttle (1974), Ward (1978) se sugieren varios de los mecanismos por los cuales se produce la deficiencia.

En la República Argentina se comienza a hablar de esta deficiencia en 1957, cuando Shaw indica en su informe de la FAO que esta deficiencia es uno de los factores del desequilibrio multifactorial de minerales que provoca pérdidas en la producción ganadera.

En 1962, Carrillo y Ruksan, trabajando en un proyecto INTA/FAO diagnostican deficiencia de Cu en la zona de Ayacucho.

En 1966 se confirma el hallazgo de esta deficiencia en el país, por los doctores Carrillo, Ruksan y Bingley.

En 1972, Ruksan y Casaro realizan estudios de toxicidad del *Melilotus alba*, causante de deficiencia de Cu condicionada a la presencia de Mo en ese vegetal, en los bajos submeridionales de la provincia de Santa Fé.

Durante el resto de la década del setenta se hacen estudios de respuesta a tratamiento de animales afectados con diferentes vías de dosificación y ensayos tratando de caracterizar la enfermedad.

Las descripciones clínicas originales de esta deficiencia varían según zona o región, ya que las influencias ambientales hacen que la enfermedad muestre aspectos particulares según varíen factores como suelo pastos, agua, clima.

Como ejemplo, Underwood (1968) menciona que ovinos igualmente carenciados, pero ubicados en distintas regiones, mientras unos presentan "lana acerada" los otros no manifiestan ese signo. Bovinos de diferentes regiones y sometidos a estados carenciales, unos manifiestan "enfermedad de las caídas" con muerte súbita y otros cursan con santomatología clínica variable pero sin presentar ese cuadro tan drástico.

D) Mecanismos de producción de la deficiencia:

La deficiencia de Cu puede ser básicamente de dos tipos:

- 1.- Deficiencia primaria de Cu.
- 2.- Deficiencia secundaria de Cu.

1.- Deficiencia Primaria de Cu; se presenta en animales que consumen alimentos con concentraciones de Cu inferiores a 5 ppm. Esa cantidad refleja la pobre disponibilidad de Cu que hay en el suelo.

Varios factores afectan la cantidad de Cu disponible en el suelo para ser captados por las plantas:

- a) Poca reserva en suelo.
- b) PH.
- c) Contenido de humus.
- d) Proporción de arena: arcilla.
- e) Presencia de otros elementos, en los que puede interactuar S, N, P, Zn (en presencia de S da compuestos SCu insolubles) (Sauchelli, 1969).

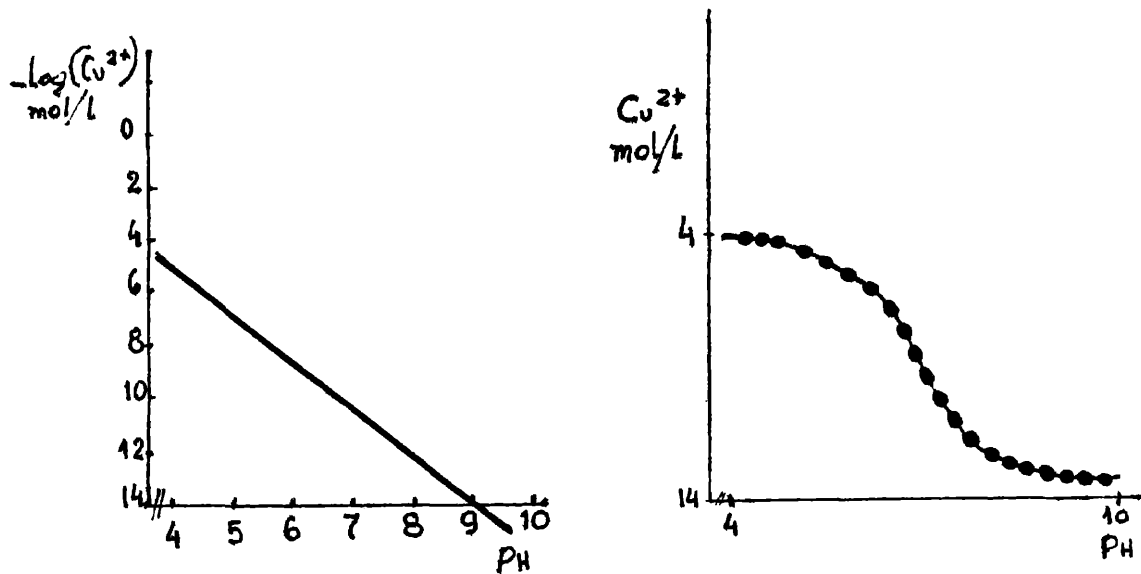
Una pobre reserva en el suelo es consecuencia de un lavado periódico del mismo y de una extracción continua por cultivos que no es repuesta.

La influencia del PH es quizás la causa mas interesante, ya que pese a encontrarse en concentraciones normales en suelo, la disponibilidad del microelemento está muy disminuída.

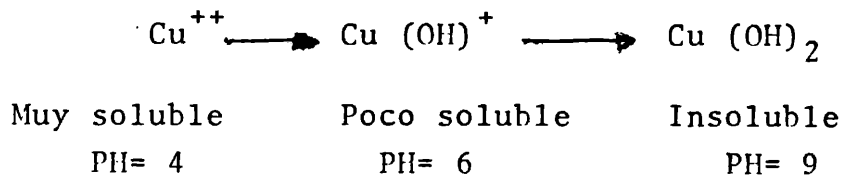
A PH bajos 4-5, la cantidad de Cu disponible es elevada.

A medida que el PH aumenta, el Cu es adsorbido al complejo coloidal cargado negativamente en suelos arcillosos, uniéndose por fuertes enlaces covalentes. Puede también adsorberse a carbonatos, hidróxido férrido, cuarzo e incluso la materia orgánica lo adsorbe fácilmente (parte de este Cu puede estar disponible por la acción de microorganismos sobre dicha materia).

En el gráfico se relacionan  $\text{Cu}^{++}$  disponible en el suelo y PH del mismo (Morvadt y col., 1972).



A medida que el PH aumenta el  $\text{Cu}^{++}$  del suelo es menos soluble, pues al aumentar el PH aumenta la concentración de radicales  $(\text{OH})^-$  que se unen al Cu y lo adsorben a la sustancia coloidal.



Se observa deficiencia de este mineral en suelos con elevado contenido orgánico (turberas recién cultivadas) suelos turbo-alcalinos, con grandes cantidades de ión ferroso, suelos arenosos y abiertos.

En algunas zonas de Florida (U.S.A.) (Underwood, 1968) halló valores de Cu en pastos menores de 6 ppm. incluso llegando a concentraciones de 2 - 3 ppm.

La presentación de esta deficiencia primaria no es muy frecuente (Jubb y Kennedy, 1973).

Hay ciertas áreas de Australia y Nueva Zelanda en las cuales el contenido de Cu en los forrajes es subnormal y las cantidades de Mo extremadamente bajas (0,01 ppm) en estas circunstancias los animales presentan deficiencia de Cu. Como posteriormente se describe, el Mo tiene acción inhibitoria sobre la disponibilidad de Cu. En esas regiones el Mo no es un factor complicante; es más, si para subsanar esa hipocuprosis suplementamos con Cu, con tan bajos niveles de Mo, pueden llegar a manifestarse síntomas de toxicidad cúprica, especialmente en ovinos (Todd, 1976).

2.- Deficiencia secundaria o inducida de Cu:  
esta deficiencia se manifiesta cuando se produce la interacción de este mineral con otros elementos.



Los elementos que se detectan en la dieta deben estar en una proporción determinada, "en equilibrio", para que no se presenten alteraciones deficitarias. Se conoce la proporción en que deben hallarse los elementos, la cual es capaz de producir, por un fenómeno inhibitorio, deficiencia.

Para el Cu, por ejemplo, se considera que debe guardar una determinada proporción con su antagonista más conocido, el Mo. Una relación Cu: Mo de 2: 1 o mayor indica un estado de normalidad; relaciones menores, dan como resultado cuadros de deficiencia.

La deficiencia condicionada de Cu ocurre en circunstancias en que los animales ingieren los siguientes tipos de dietas, clasificadas según la composición del alimento:

Dietas con:

- 1) Elevada concentración de Zn.
- 2) Elementos del grupo de transición, en altas concentraciones.
- 3) Niveles de Cu normal (5-10 ppm) Mo normal (1-2 ppm) pero elevadas cantidades de proteína soluble (ej: pasturas con raygrás).
- 4) Presencia de otras sustancias.
- 5) Altos niveles de Mo (más de 20 ppm y generalmente superiores a 100 ppm) que dan una baja relación Cu: Mo, junto con altos niveles de  $SO_4^{=}$ .

1) Dietas con elevada concentración de Zn:  
el Zn compite con el Cu para ocupar los sitios de unión.

disponibles en la proteína metalotioneína (Evans, 1973), disminuyendo la absorción, el depósito y la utilización de este mineral (1970). Cuando altas concentraciones son ingeridas, el Zn puede ser además adicionado a la molécula de la ceruloplasmina.

2) Con elevadas concentraciones de elementos del grupo de transición: otros minerales químicamente similares al Cu, además del Zn, pueden competir en forma análoga al mismo. Se citan Cd, Hg, Ag.

3) Con niveles de Cu normal (5-10 ppm) Mo normal (1-2 ppm) pero elevadas concentraciones de proteína soluble (ej: pasturas con raygrás): se describen síndromes de hipocuprosis en las áreas de "tambaleo" de las Islas Británicas, en Holanda y Sur de Florida (Ward, 1978), en zonas de pasturas que contienen concentraciones adecuadas de Cu y Mo.

Se sugiere que las proteínas muy solubles de la pastura, que tienen un 25-30% de materia seca, son rápidamente hidrolizadas en rumen, proveyendo iones  $S^{=}$  que se combinan con Cu, dando SCu. Cuando el pasto es secado, se disminuye su solubilidad y la producción del  $S^{=}$  es menor.

4) Otras sustancias: la presencia de quelatos naturales pueden reducir la disponibilidad de Cu en la dieta, dando cuadros de deficiencia.

5) Altos niveles de Mo y de  $SO_4^{=}$ : la hipocuprosis puede presentarse en forma condicionada o secundaria, debido a la ingestión de Mo y de  $SO_4^{=}$  orgánico e inorgánico, en concentraciones superiores a las consideradas normales.

El Mo y el  $\text{SO}_4^{=}$  interaccionan con Cu, formando compuestos insolubles como  $\text{MoO}_4\text{Cu}$ ,  $\text{SCu}$  y  $\text{SMoOCu}$ , que reducen la cantidad de Cu absorbido y/o liberado a nivel hepático por el animal.

Dick (1954), Suttle (1970) demuestran el efecto del  $\text{SO}_4^{=}$  como potencializador del efecto del Mo en ruminantes.

El ión  $\text{SO}_4^{=}$  es ingerido de dos formas, como  $\text{SO}_4^{=}$  inorgánico en el agua de bebida y como  $\text{SO}_4^{=}$  orgánico unido a aminoácidos azufrados de las proteínas que se hallan en el pasto.

Una concentración de  $\text{SO}_4^{=}$  inorgánico superior a 1.600 mg/l se considera suficiente para sinergizar la acción del Mo.

El Mo es un elemento que se halla en la naturaleza formando sulfuro de molibdeno, unido en rocas sedimentarias a pizarras principalmente, a piedras calizas y areniscas.

La valencia con que más frecuentemente se halla es  $6^+$ .

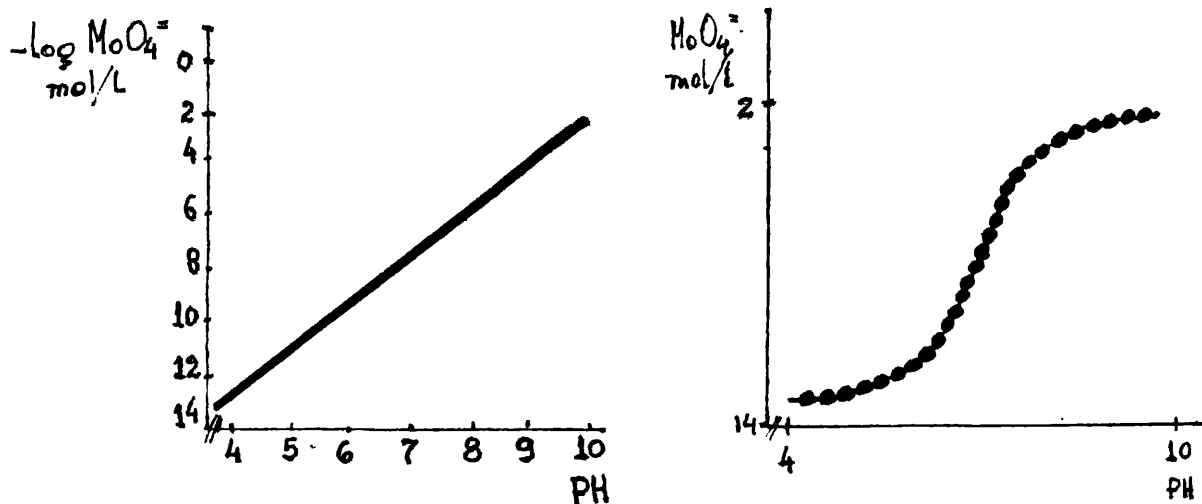
Al realizarse los procesos de oxidación, se separa de los elementos calcáfilos, liberándose como radical  $\text{MoO}_4^{--}$ .

Las erosiones hídrica y eólica dan como resultado  $\text{MoO}_4^{=}$  en solución, a valores de PH mayores de 6 y  $\text{HMoO}_4^-$  a menores valores de PH. Pueden formarse precipitados en presencia de Ca, P, Cu, Al y Fe formando molibdatos insolubles. Sus características involucran ser estudiado como un anión.

El anión  $\text{MoO}_4^{=}$  es adsorbido sobre partículas con carga positiva a PH bajos (hasta 5) sobre PH 6, la adsorción disminuye mucho y a PH 8 ya no es adsorbido, quedando como tal en solución.

La concentración de Mo en el agua del suelo y otras aguas superficiales es controlada por la adsorción sobre  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , generalmente mayor en soluciones alcalinas que en ácidas.

El gráfico relaciona la solubilidad del  $\text{MoO}_4^{=}$  a distintos PH (J.J. Mortvadt, 1972).



A medida que el PH aumenta el  $\text{MoO}_4^{=}$  del suelo es mucho más soluble que a PH bajos (a PH bajos y al haber un aumento de radicales  $\text{H}^+$ , el  $\text{MoO}_4^{=}$  es adsorbido a sustancias con carga positiva como  $\text{Fe}^{+++}$ ,  $\text{Al}^{+++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{P}^{++}$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Cu}^{++}$ ).

El  $\text{MoO}_4^{=}$  disponible en alta concentración se halla en suelos alcalinos, en suelos ricos en materia

orgánica (turba) y en suelos jóvenes derivados de rocas volcánicas, mientras que en suelos podzolizados y suelos desarrollados sobre piedras férricas se halla disponible en poca cantidad (Mortvadts y col. 1972; Sauchelli, 1969).

El Mo se ingiere como  $\text{MoO}_4^{=}$ , las leguminosas lo acumulan en mayor cantidad que las gramíneas.

La concentración mínima de Mo que lleva a la deficiencia de Cu es de 20 ppm, si los niveles de Cu en pastos se mantienen dentro de valores normales, 100 ppm pueden provocar síntomas severos, aunque muchos animales no exhiben deficiencia consumiendo alimentos con 200 ppm (Huber y col., 1970; Jubb y Kennedy, 1973; Blood y Henderson, 1976).

El agua de bebida es citada frecuentemente como causante de molibdenosis, sin embargo no han sido confirmados a campo casos de toxicidad por esa vía. Se supone que como el ganado consume una parte de alimento y toma proporcionalmente 3 partes de agua, con beber aguas que contengan 1/3 de la dosis tóxica de Mo requerida para el alimento, se manifestaría la inducción.

El exceso de Mo tiene varios orígenes:

- a) Altos niveles de  $\text{MoO}_4^{=}$  en los forrajes debido al alto tenor en el suelo.
- b) Altos niveles de Mo debido a contaminación industrial (fertilizantes, desechos industriales) Underwood, 1968.
- c) La inundación del suelo que realiza el hombre mediante riego artificial que aumenta el PH y libera  $\text{MoO}_4^{=}$  adsorbido.

Si bien es necesario conocer la cantidad total de Mo ingerida, se le da más importancia a la relación Cu:Mo en el alimento consumido, como indicativo de hipocuprosis a ese mineral.

Multimore y Mason (1971) sugieren que cuando esa relación es menor de 2:1, se presentan signos de deficiencia.

Como ejemplo, se menciona que en Inglaterra hay regiones en que los pastos presentan niveles de Cu menores de 6 ppm y de Mo por encima de 4 ppm con esta estrecha relación en el alimento ingerido, los animales deficientes a veces no responden al tratamiento con Cu.

La interacción Mo-SO<sub>4</sub> se realiza a nivel ruminal, por lo cual este pre-estómago juega un importante papel en la presentación del proceso deficitario. El complejo SMO<sub>4</sub>Cu puede también formarse a nivel post ruminal.

Tridot y Bernard (1962) demuestran que el pasaje de sulfuro de hidrógeno a través de una solución conteniendo MoO<sub>4</sub><sup>=</sup> lleva a la formación de SMO<sub>4</sub>Cu.

Chapped y Peterson (1976), Lesperance (1974) Underwood (1976) y Todd (1976) han estudiado y demostrado la producción del complejo en rumen y a nivel sanguíneo.

En el ambiente ruminal, rico en SH<sub>2</sub>, es probable que se forme tiomolibdato de Cu cuando la dieta es rica en Mo.

Anderson (1956) expresa que los microorganismos sulfolíticos del rumen son capaces de producir cantidades relativamente grandes de SO<sub>2</sub><sup>=</sup> por la reducción metabólica de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>. Parte de ese SO<sub>2</sub><sup>=</sup> atraviesa la

pared ruminal, una determinada cantidad pasa al tracto intestinal, siendo el resto utilizado para la síntesis de proteínas microbianas (Moir, 1970; Gawthorne y Nader, 1976).

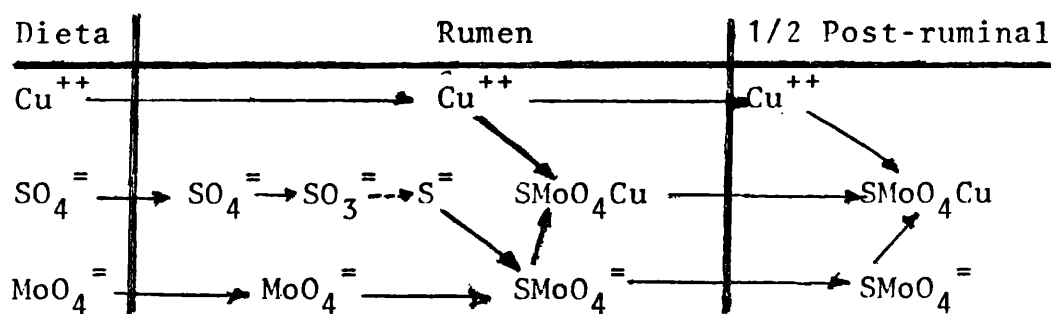
La producción de  $\text{SO}_2^=$  depende de los niveles de proteínas de la ración y de la solubilidad de esas proteínas.

El  $\text{SO}_2$ , el Mo y el  $\text{MoO}_4$  pueden unirse al Cu y formar compuestos insolubles, no absorbibles (Huisling y Matrone, 1976).

El tiomolibdato de Cu tal vez sea absorbido, pero no permite que el Cu unido esté disponible para su metabolismo.

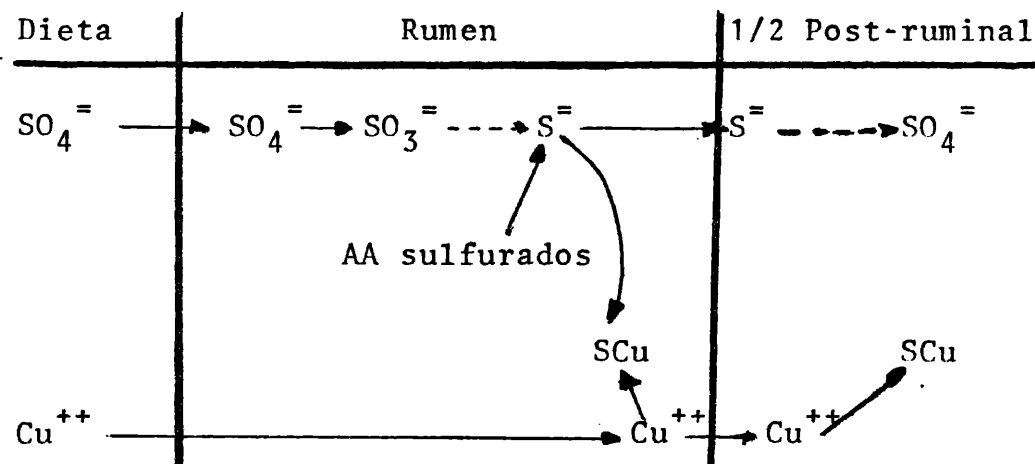
La figura 6 resume la interacción  $\text{SMoO}_4\text{Cu}$  en rumiantes (Huisling y col., 1973) a nivel ruminal y post-ruminal.

FIGURA 6: INTERACCION S-Mo-Cu



El  $\text{SO}_4^=$  es degradado a nivel ruminal dando como producto final ión sulfuro, que según Huisling, Gómez y Matrone (1973) puede interaccionar con Cu de la siguiente manera:

FIGURA 7: INTERACCION S-Cu EN RUMIANTES



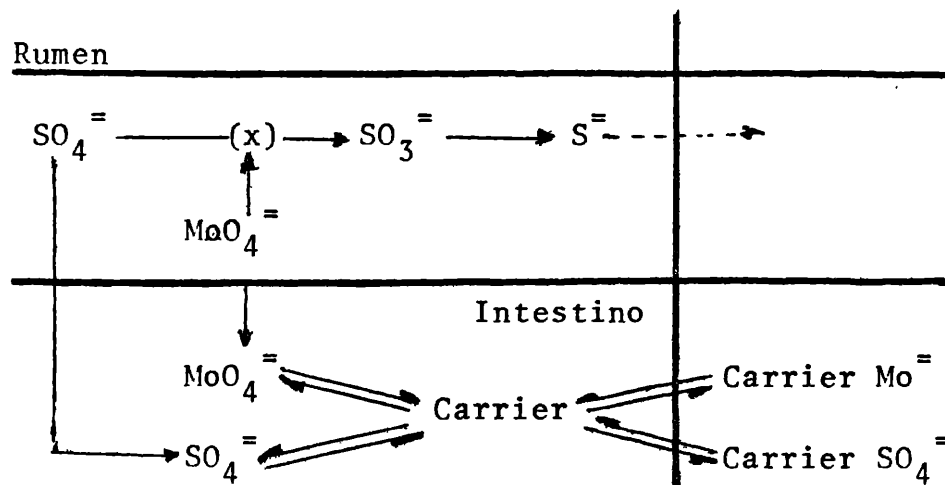
El ión  $SO_4^{=}$  es transformado a ión  $S^{=}$  en el rumen y en esa forma se une al Cu para formar SCu; el ión  $S^{=}$  atraviesa la pared ruminal, acomplejándose con Cu a nivel sanguíneo y tisular. Mills (1960) y Halverson (1960) coinciden con esa hipótesis, dándole una importancia que para Bird (1970) no es tal, ya que expresa que la significancia de este proceso depende del período de adaptación del animal al  $SO_4^{=}$  de la dieta.

La producción del ión  $S^{=}$  a partir de  $SO_4^{=}$  puede ser inhibida por el  $MoO_4^{=}$ . El ión  $MoO_4^{=}$  inhibe al sistema bacteriano reductor de  $SO_4^{=}$ , probablemente en la primera etapa de la reducción, antes de la formación de  $SO_3^{=}$ , y/o al sistema transportador de la membrana bacteriana (Huisling y Matrone, 1972; Peck, 1962). No se han identificado ni los pesos de la reducción del  $SO_4^{=}$ , ni los organismos involucrados.

Además, el  $Mo^{=}$  inhibe la absorción de  $SO_4^{=}$  a través de la pared intestinal, al competir por un carrier común (Huisling y col., 1973).



FIGURA 8: INTERACCION Mo - SO<sub>4</sub><sup>=</sup>



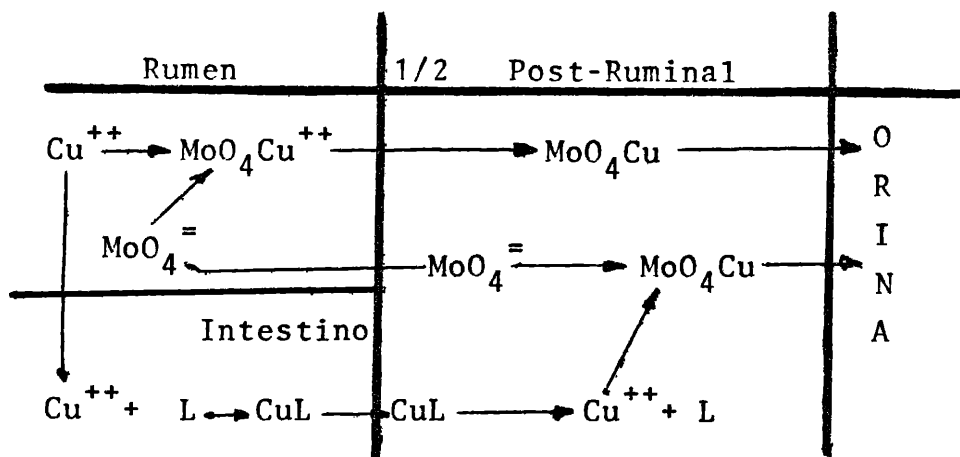
(x): Inhibición

Smith y col (1975) y Gawthorne y Nader (1976) indican que Mo inhibe la producción de S<sup>=</sup> a partir de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, pero no a partir de metionina (Huising y Matrone, 1976) y deprime la absorción del ión S<sup>=</sup> desde el rumen. Por ello, las concentraciones de S<sup>=</sup> pueden aumentar en el lumen ruminal, si bien es poca la cantidad producida. Todo esto lleva a la formación de complejos insolubles con el Cu, que limitan su absorción.

Marcillese y col.(1969), Huising y col. (1973) Suttle (1974), Ward (1978) estudian la formación de MoO<sub>4</sub>Cu a nivel ruminal y post-ruminal y además, la acción del Mo a nivel hepático tratando de explicar el mecanismo de inducción de la deficiencia.

La figura 9 resume la inhibición de la absorción del Cu por el Mo (Huising y col, 1973).

FIGURA 9: FORMACION DEL COMPLEJO  $\text{MoO}_4\text{Cu}$



La inducción de la deficiencia se produce por una limitación en el depósito de Cu en hígado. Por agotamiento de la reserva hepática, se desencadena el cuadro deficitario.

Marcillese y col. (1969), Huising y Matrone (1976), Suttle y col. (1968) expresan que, si bien los mecanismos descritos contribuyen en la manifestación de cuadros deficitarios, la principal acción inhibitoria del Mo se presenta a nivel hepático y de dos formas distintas (Halverson y col, 1960). Una es reduciendo la síntesis de ceruloplasmina. El Mo inhibiría algún paso enzimático de la síntesis de esta proteína transportadora de Cu; aunque los depósitos de Cu hepático sean adecuados, el animal no puede disponer del oligoelemento depositado. Como el ganado tiene una mayor tasa de recambio de ceruloplasmina que otras especies animales, al reducirse su síntesis manifiesta precozmente los síntomas de deficiencia.

Suttle y Field (1968), Marcillese y col. (1969) expresan que altas concentraciones de Mo aumentan la fracción de reacción directa del Cu plasmático, que no puede

ser utilizado a nivel tisular, por formar complejos insolubles con Mo.

La segunda forma, es inhibiendo la transformación de iones  $S^{=}$  a  $SO_4^{=}$  al deprimir la actividad de la enzima sulfuro oxidasa hepática (SOH) que lleva a una acumulación de iones  $S^{=}$ .

La elevada concentración de esos iones, aumentan la precipitación del Cu y además llevan a la depresión del apetito, según los trabajos de Siegel y Monti (1961) en ratas molibdenóticas.

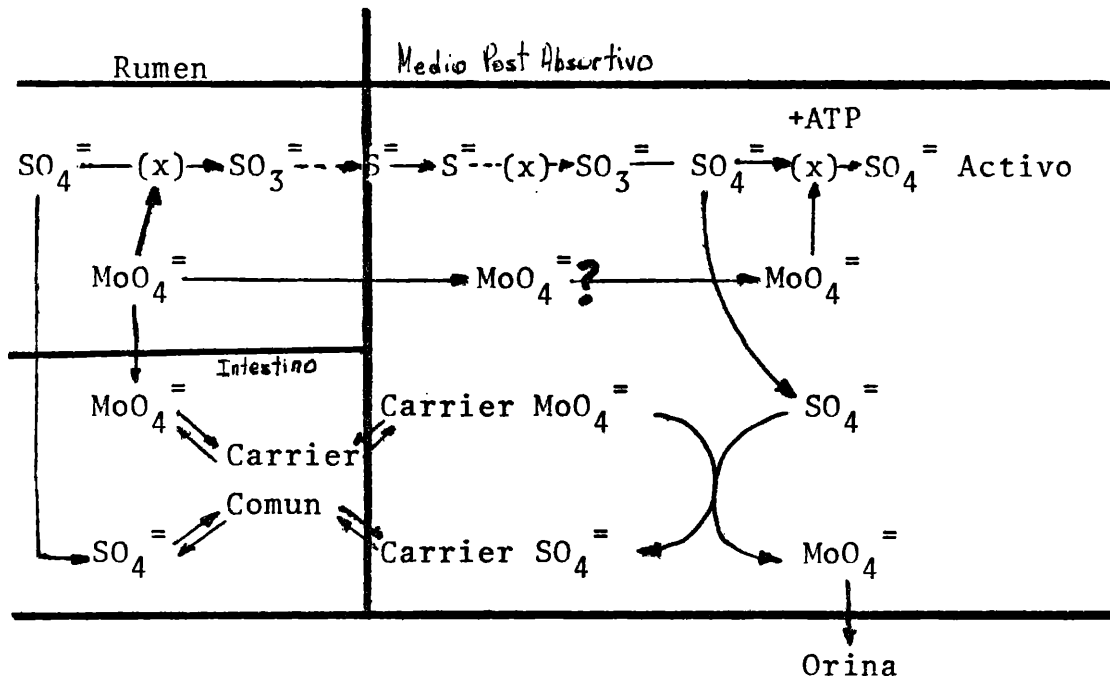
Rish (1970) afirma que la SOH es inhibida en ovejas afectadas de hipocuprosis condicionada a Mo y que el  $S^{=}$  se acumula en cerebro e hígado, lo que lleva a la presentación del cuadro de anorexia citado, por mecanismos no conocidos.

Lesperance (1974) halla que altos niveles de Mo en la dieta reducen la utilización de la energía metabolizable y sugiere una alteración del metabolismo intermedio de la energía, que sumado al cuadro anorexígeno, explicaría la pérdida de peso en animales molibdenótico-hipocuprosos.

Huising y col. (1973) expresan que, además, el Mo inhibe el pasaje de  $SO_4$  a  $SO_4$  activo, paso necesario para incorporarse a las proteínas en síntesis. El ión  $SO_4$  inactivo, a su vez, inhibe el pasaje de Mo, como  $MoO_4$  a través de la pared intestinal, reduciendo su toxicidad.

La figura 10 resume esta interacción.

FIGURA 10: INTERACCION Mo - SO<sub>4</sub> y SO<sub>4</sub> - Mo



(x): Inhibición.

Rys y col. (1963), Smith y col (1968), Marciliese y col (1973) sugieren que el exceso de Mo aumenta la excreción urinaria de Cu, por un incremento en el clearance renal.

E) Manifestaciones clínicas de la deficiencia:

Los mecanismos descriptos explican como y por que se produce la deficiencia; dependiendo del grado de cronicidad y severidad con que se manifiesta, presentará distintos cuadros patológicos.

Las manifestaciones clínicas que se observan en animales con hipocuprosis primaria son similares a las de animales que padecen deficiencia inducida de Cu. A su vez, los animales con hipocuprosis secundaria presentan un cua-

dro signológico y sintomatológico que comprende además presencia de diarreas y tal vez, anorexia.

Teniendo en cuenta ese concepto, y para facilitar la descripción, se consideran manifestaciones clínicas similares para los dos tipos de deficiencia, ya que las alteraciones que se van a citar son causadas por disminución de la cantidad de Cu utilizable. Posteriormente se hace mención de las manifestaciones clínicas que además se observan en los animales molibdeno-hipocuprosos.

La deficiencia de este mineral produce alteraciones en la hematopoyesis, en la queratinización, en la osteogénesis, en la mielinización, en la pigmentación y en los procesos reproductivos, en los que se manifiesta con sub o infertilidad.

Cuando la deficiencia es condicionada, se produce además pérdida de peso y diarres.

El daño que producen esas disfunciones, producto tal vez de una deficiente actividad de enzimas Cu dependientes no causa lesiones observables macroscópicamente e incluso, solo se visualizan con el microscopio electrónico. Para ejemplificar, al final de este capítulo se describen las lesiones reconocidas ultramicroscópicamente en tejido conectivo, en el de intestino, y en el de músculo cardíaco.

Un conocimiento de la razón por la cual se producen esas disfunciones es necesario para entender por que se la considera tan importante a esta deficiencia mineral.

Hipocuprosis y Hematopoyesis: Generalmente la hematopoyesis está alterada en casos de deficiencia de Cu, aunque el signo no es patognoménico.

Las anemias que provoca son de tipo Macro-cítica Hipocrómica en bovinos.

La presentación de cuadros de anemia depende de la intensidad y de la cronicidad del estado deficitario. En algunas especies, también influyen factores fisiológicos del animal, como edad y estado de gestación (Jubb y Kennedy, 1973).

En animales Cu-deficientes se pueden determinar cuadros de anemia, originada de varias formas:

- a) Actuando de manera indirecta en la absorción de Fe, tal vez en un proceso de tipo metabólico, a través de la mucosa intestinal.
- b) Al disminuir el Cu en sangre, y agotarse la reserva hepática, la síntesis de ferroxidasa I plasmática decrece, y la sintetizada tiene menor actividad; como una de sus funciones se relaciona con la movilización y oxidación del Fe depositado en tejidos para ser utilizado en la médula ósea, afectaría la utilización del Fe endógeno (Jubb y Kennedy, 1973).
- c) La médula ósea requiere Cu para que se verifique la unión de los grupos pirrólicos con Fe, formando el fragmento Hem.

Un déficit en los niveles cúpricos requeridos se traduce en anemia ferropénica, en los puntos a), b) y c) por disminución de la síntesis de Hb. Además la hipocuprosis trae aparejada una menor actividad de la citocromo oxidasa, que se refleja a nivel de médula ósea

disminuyendo la producción y maduración de eritrocitos lo que acorta su vida útil, causando anemia (Jubb y Kennedy, 1973).

Hipocuprosis y Queratinización: La hipocuprosis puede dar como consecuencia alteraciones físicas en la cubierta pilosa de bovinos (Jubb y Kennedy, 1973). El peso se vuelve áspero y de mal aspecto.

La resistencia a la tensión, la elasticidad y la tinción están reducidos (Underwood, 1968).

Normalmente, los grupos tioles de la prequeratina son oxidados para formar los puentes transversales de los grupos disulfuro, bajo la influencia del Cu, o de una enzima Cu dependiente.

La falla metabólica consiste en una eficiencia reducida en la conversión química de grupos tioles libres de la prequeratina en grupos disulfuro de la queratina.

Este efecto hace que las fibrillas de la prequeratina plástica se desorienten y al ser fijados por oxidación, al no estar correctamente organizadas, da como resultado la reducción en la resistencia a la tensión y en la afinidad por las tinturas (Jubb y Kennedy, 1973).

Para Underwood, (1962) además, el déficit de Cu puede interferir en otro paso de la síntesis de queratina, en el ordenamiento de las cadenas polipeptídicas, ya que observa en animales carenciados la existencia de mayor glicina N terminal y mayor ácido glutámico.

El defecto se corrige inmediatamente después de hacer llegar Cu a la piel, por vía hematógica o directa, lo que indica que el Cu iónico es activo en la queratinización (Jubb y Kennedy, 1973).

Hipocuprosis y Osteogenesis: Underwood, (1968) observa incidencia de fracturas óseas espontáneas en vacunos que consumen pasturas Cu deficientes.

Los huesos fracturados son casi normales en aspecto y espesor de la caña, con un grado de osteoporosis moderado, y no revelan defectos macroscópicos que expliquen su fragilidad, salvo su reducida corteza (Jubb y Kennedy, 1973); las trabéculas son deficientes y las epífisis grandes, aunque los contenidos de cenizas, Ca y P se mantienen normales.

Las alteraciones derivan de un fallo en la deposición de Ca en la matriz cartilaginosa, consecuencia de incompetencia osteoblástica, acompañadas por un crecimiento normal del cartílago (Underwood, 1968).

Los osteoblastos están presentes, pero son apenas reconocibles como tales, por su forma fusiforme a causa de su inactividad.

La sustancia osteoide no es elaborada y las espículas calcificadas de la matriz cartilaginosa persisten, formando una zona particulada entre el cartílago epifisario y la sustancia ósea diafisiaria. Las espículas primitivas son frágiles y sus fracturas constituyen un estímulo limitado para la osteogénesis (Jubb y Kennedy, 1973).

Estos cambios son distintos a los observados en raquitismo y muestran similitud con los de escorbuto; contrastan grandemente con los estados de deficiencia mayores, en animales en crecimiento, en los que las actividades metabólicas osteoblásticas y condroblásticas no se manifiestan (Underwood, 1962).



El Cu, en afinidad con el ácido ascórbico, si bien no afecta la integridad de las células cartilaginosas, es específicamente necesario para la actividad funcional de los osteoblastos (Underwood, 1962).

Estas alteraciones se ven reflejadas en la marcha, que se torna dificultosa, hay engrosamiento de las articulaciones, porosidades y mayor fragilidad, con la consiguiente predisposición a las fracturas.

En bovinos, una deficiencia de Cu, combinada con un exceso de Mo, produce un balance negativo de P, con pérdida de P de los huesos, dando más fragilidad a los mismos.

Smith y col (1972) hacen importantes estudios sobre desarrollo óseo anormal y renguera asociados con deficiencia de Cu. Las lesiones histológicas que observan las describen como ensanchamiento focal severo en la capa de crecimiento metacarpal distal, microfracturas trabeculares y distorsión arquitectónica de la metafisis.

Hipocuprosis y Mielinización: La ataxia enzoótica de los recién nacidos es una manifestación de la repercusión de bajos niveles de Cu sobre el sistema nervioso. Las madres de los animales Cu deficientes presentan la cubierta pilosa anormal y distintos grados de anemia; la gravedad del cuadro anémico se corresponde con la gravedad de la presentación del cuadro nervioso en los terneros.

La ataxia enzoótica aguda se observa desde el nacimiento hasta un mes de edad, sin anemia; en animales de más edad, es de tipo subagudo y con anemia Macrocitica Hipocrómica.

La enfermedad puede presentarse al nacimiento, o recién al mes de vida. Los enfermos presentan incoordinación acentuada y son incapaces de caminar, pero no manifiestan flaccidez. Algunos pueden mamar; otros están ciegos. La muerte sobreviene por inanición, frío o neumonía.

Las lesiones se caracterizan por lisis de la sustancia blanca del cerebro y degeneración de las vías motoras de la médula espinal; la sustancia blanca del mesencéfalo y cerebelo no está afectada.

Si la lesión es grave, el encéfalo es más pequeño que lo normal, y al quitar las meninges, la superficie encefálica se colapsa, debido a una destrucción sistemática de la sustancia blanca subcortical.

Las alteraciones en la sustancia blanca son a veces microscópicas, o con cierto número de focos de degeneración macroscópicos, detectables por aparecer como zonas grises, gelatinosas, semitraslúcidas en la sustancia blanca. Pueden observarse microcavitaciones e incluso hallarse los hemisferios dorsales cavitados, los ventrículos dilatados como resultado de la hidrocefalia secundaria. La sustancia blanca restante del cerebro, está restringida a las cápsulas internas, que se reducen a lo que queda del área oval, cuerpo calloso y septo lúcido.

En las zonas de desmielinización los cilindroejes desaparecen y hay una actividad transitoria de la microglia.

La sustancia gris permanece con la estructura histológica relativamente normal, y en casos graves, especialmente en el núcleo rojo, se observa una destacada cromatólisis de sus células.

Cuando la enfermedad es suficientemente leve, a menudo los animales sobreviven y solo se observan los signos de la lesión al hacerlos desplazar.

En otros casos, produce la muerte en 3 ó 4 semanas; las lesiones nerviosas son más sobresalientes en la médula espinal, con desmielinización y degeneración de los axones de las vías sensitivas y motoras.

El "swayback" es similar a la ataxia, pero es más agudo, con una iniciación breve y de curso mortal. Las lesiones cerebrales son graves y caracterizadas porque las transformaciones quísticas ó gelatinosas de la sustancia blanca cerebral, están presentes en un 50% de los casos, consistiendo la lesión en cromatolisis en muchas y necrosis de unas pocas grandes células nerviosas multipolares del tronco del encefalo y médula espinal, con degeneración de largos tramos de fibras.

La falta de mielina en el tronco del encéfalo y médula es una manifestación de aplasia, mas que de degeneración de las vainas de mielina formadas.

Las lesiones nerviosas caracterizadas por cromatólisis central y vacuolización se observan mejor en los núcleos rojo y vestibular y en las astas ventrales de los ensanchamientos cervical y lumbar.

Hay acúmulo de neurofibrillas en torno al núcleo y en menor extensión, en el axón, con pérdida de lisosomas y acúmulo del material de Golgi.

Una hipótesis que explique lo que antecede surge de la observación de ratas Cu-deficientes, en las que se determina actividad disminuída de los citocromos del hígado y bloqueo de la síntesis de fosfolípidos.

Como los fosfolípidos son constituyentes de la mielina, la falta de estos tal vez sea la causa del cuadro lesional descripto.

Hipocuprosis y Pigmentación: Uno de los signos precoces que se pueden observar en animales Cu-deficientes es Acromotriquia.

La aparición de pelos grisáceos en el ganado vacuno AA, especialmente alrededor de los ojos, simulando anteojeras, puede presentarse con una ingestión de niveles de Cu que son suficientes para evitar la aparición de otros síntomas clínicos de la deficiencia (Underwood, 1968). Precozmente puede verse ese signo en el borde de las orejas.

Posteriormente se generaliza, y los animales negros cambian su color por uno pardo herrumboso o grisáceo; el de capa retinta, color castaño (Jubb y Kennedy, 1973).

La despigmentación es específica, no teniendo relación con la acromotriquia asociada a deficiencia de otros factores, como ácido pantoténico o ácido para amino benzóico.

La acromotriquia es debida a una pérdida de la capacidad para transformar tirosina en melanina (Underwood, 1968). La melanina, derivada de la L-tirosina, se forma por la acción de la Tiroxinasa, enzima que pertenece al grupo de polifenoxidasas, y contiene Cu (Jubb y Kennedy, 1973).

• La reversión del proceso es rápida, e influida por los niveles de Cu circulante.

Hipocuprosis y Fertilidad: Alcroff y Parker (1959) indican que la hipocuprosis produce baja tasa de fertilidad.

Mc Howell (1969) estudia las alteraciones reproductivas en ovejas hipocuprosas. Observa presencia de muertes, abortos en la majada y los que sobreviven, no manifiestan signos de preñez. Similar situación se observa en vacunos.

Thomas y Moss (1951) sugieren que también produce reducciones en la espermatogénesis, y esterilidad en toros.

Se cree que la subfertilidad, infertilidad y esterilidad son debidas a bajos niveles o inhibición en la síntesis de hormonas gonadotróficas.

Hipocuprosis - Pérdidas de peso y diarreas: Al mencionar los mecanismos por los que se induce una deficiencia de Cu, se hipotetizó sobre las causas que llevan a desnutrición, causando anorexia en los animales molidebnóticos. A ello, se suma la presencia de diarreas que explica la pérdida de peso.

Fell y col. (1975) tratan de explicar el mecanismo desencadenante de esos episodios diarreicos.

La diarreya que se observa conjuntamente con la atrofia de la mucosa de duodeno, atrofia parcial de las vellosidades en yeyuno e incremento de las criptas, consecuencia de una hiperplasia de células globosas intestinales, sería debido a un estado de mala absorción intestinal, de Cu, similar al que se observa en humanos.

Para Jubb y Kennedy (1973) la diarrea no es consecuencia de deficiencia primaria de Cu, sino de la acción

del Mo, que tendría efecto purgante, por la formación de compuestos insolubles que aceleran el tránsito intestinal.

Underwood (1962) observa presencia de diarreas cuando la relación Mo: Cu es alta.

Esos episodios diarréicos revierten con la administración de  $SO_4Cu$  oral, 1 a 2 g/día, o endovenosos, 200 - 300 mg/día.

Hipocuprosis- Lesiones a nivel de tejido conectivo: Los animales Cu deficientes presentan defectos en el tejido conectivo, que se describen como una inhibición de un paso en la biogénesis de sus componentes macromoleculares, elastina y colágeno.

La excesiva movilidad de las articulaciones, con deformidades resultantes puede interpretarse como una inadecuada estabilización de las proteínas fibrilares.

En otras especies se presentan lesiones estructurales en las arterias mayores, que llevan a su ruptura, por defectos en la membrana elástica. La resistencia mecánica de los vasos afectados y de la elastina está disminuída, la cantidad de elastina es inferior y su solubilidad está aumentada.

Las anormalidades en la estabilidad estructural de las proteínas fibrosas sugiere una deficiencia de uniones intermoleculares, observándose disminución en el entrecruzamiento de sus cadenas polipeptídicas.

El entrecruzamiento puede iniciarse a partir de aldehídos intermediarios, formados por desaminación oxidativa de los grupos de amino de radicales lysil, desaminación catalizada por amino oxidasas que contienen Cu. Carnes (1971) expresa que esta acción no ha sido

fehacientemente confirmada.

Jubb y Kennedy (1973) hablan de una fragmentación de la capa elástica de las arterias, como preludio de la rotura vascular. Mills, Dalgarno y Wenham (1975) hallan un marcado descenso en la actividad de la M.A.O. de animales Cu deficientes.

Los defectos estructurales hallados en un examen histológico del tejido de las paredes del sistema cardiovascular, de los animales deficientes de ese experimento, como contenido disminuído de colágeno interlaminar y atrofia o degeneración del músculo liso de las paredes de la aorta, pueden haber tenido consecuencias adversas sobre la fuerza de extensibilidad de las paredes de esos vasos sanguíneos.

Warsman y col. (1969) según Mills y col. (1975) mencionan que la lesión de mayor importancia en la aorta de cerdos hipocuprosos fue fragmentación y degeneración focal de la lámina elástica, acompañada de lesiones poco extensas, irreversibles en el colágeno interlaminar, con contenido disminuído de músculo liso alrededor de la matriz de colágeno y elastina.

Esta atrofia muscular se notó en la pared de la vena porta y en la cápsula esplácnica.

En el ligamento nucal de esos animales se detecta histológicamente zonas de manchas densas entre la elastina, tal vez producidas por algún precursor. El colágeno circundante está desorganizado y fragmentado, en el ligamento nucal de esos animales.

Hipocuprosis - Alteraciones del músculo cardíaco: Leigh (1975) cita los siguientes hallazgos histológicos en su experimento con novillos Cu deficientes.

Al pesar el corazón y expresarlo en relación a su peso vivo, observa que en los novillos carenciados se presente Hipertrofia Cardíaca.

El estudio ultraestructural revela una marcada disminución del tejido contractil; las miofibrillas están separadas por espacios que contienen muchos gránulos de colágeno, hay retracción de miofibrillas. Si bien la forma de un sarcómero normal es rectangular o redondeada (contorno de barril), las muestras de los novillos hipocuprosos presentan sarcómeros con perfil angostado en su parte media.

La línea Z es normal en ancho; la banda M está reducida en su diámetro. Hay muchos filamentos separados de la línea Z y en áreas los elementos contractiles muy reducidos.

La mayoría del campo del corte observado está ocupado por mitocondrias largas, atípicas y vacuolas de aspecto lipídico.

Se explica lo observado por el hecho de que el Cu está íntimamente involucrado en la síntesis y la actividad de la citocromo oxidasa. Dentro de las mitocondrias que se observan inchadas se halla un material no identificado, de estructura variable e indefinida. Se sugiere que la depresión de la síntesis de fosfolípidos en la mitocondria es debida al transporte indebido de ATP a través de la membrana interior. El transporte de agua a través de las membranas mitocondriales



es mantenido por el ATP dependiente de la respiración fosforilativa; la inchazón excesiva puede deberse a un incremento de la permeabilidad de la membrana externa y una reducida disponibilidad de ATP (no deja salir agua).

Leigh (1975) y Mills y col. (1975) sugieren que la expansión de los elementos no contráctiles puede llevar a la "hipertrofia cardíaca".

Hipocuprosis - Cambios en intestino: Fell y col. (1975) hacen un estudio histológico de animales hipocuprosos, que presentan diarrea, que solo revierte con suministro de Cu.

Al necropsiar los animales, observan petequias en la mucosa intestinal. Histológicamente, atrofia parcial de las vellosidades, que tienden a ser cortas, fusiformes y aplanadas. Las criptas, sin embargo, están alargadas, si se relacionan con las de animales controles.

Esos cambios fueron asociados con incremento en el número de células globosas (enterocitos), células caliciformes. El ileon no aparentó estar afectado, salvo en un animal, en el que presentó hemorragia capilar de las vellosidades con edema de la lámina propia.

Al ultramicroscopio, se observan anormalidades marcadas en las células globosas de animales deficientes, presentándose más largas que las de controles, sus mitocondrias también se hallan hinchadas.

## VI) TRABAJO EXPERIMENTAL

Los aniones  $\text{SO}_4^-$  y  $\text{MoO}_4^-$  son los elementos más comunmente citados por la bibliografía como inhibidores del Cu, determinando su ingestión en cantidades elevadas la presentación de hipocuprosis secundarias.

Si bien su mecanismo de acción fue hipotetizado, existen dudas respecto a la dosis y al tiempo de exposición a esos elementos necesarios para desencadenar cuadros deficitarios, los que además no pueden ser caracterizados debido a la variación de signos y síntomas observados.

Por ello, se desarrolló un ensayo, en el que se trató de inducir hipocuprosis utilizando Mo y  $\text{SO}_4^-$ , para estudiar algunos parámetros que se hallan afectados en casos de deficiencias secundarias de Cu producidas naturalmente.

El trabajo fue titulado:

"Efecto del tratamiento con Mo y  $\text{SO}_4^-$  sobre los niveles de Cu sérico, hepático y sobre la ganancia de peso en bovinos."

Previamente se describe un ensayo realizado para medir el efecto del tratamiento con elevadas concentraciones de  $\text{SO}_4^-$  sobre los niveles de Cu sérico y hepático, titulado:

"Efecto del agua de bebida con tres niveles de  $\text{SO}_4^-$  sobre las concentraciones de Cu en sangre e hígado."

A) EFECTO DEL AGUA DE BEBIDA CON TRES NIVELES DE  $\text{SO}_4^-$  SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE Cu EN SANGRE E HIGADO EN BOVINOS.

1) Introducción

Las hipocuprosis diagnosticadas en la provincia de Buenos Aires, son producidas por la ingestión de elevados niveles de  $\text{Mo}^-$  y  $\text{SO}_4^-$  en agua y pasto. No obstante ello, se han detectado en la provincia cuadros deficitarios en animales que ingieren pastos con cantidades normales de  $\text{Mo}^-$  y aguas con altas concentraciones de  $\text{SO}_4^-$  (en la zona de Laprida se han hallado establecimientos problema con concentraciones anuales promedio superiores a 2.000 mgs de  $\text{SO}_4^-$  por litro de agua). En estos casos, probablemente el  $\text{SO}_4^-$  esté actuando como factor inhibidor primario de la absorción y/o posterior utilización de Cu.

Debido a que las zonas de padecimiento de esta enfermedad carencial están diseminadas en otras provincias y considerando al  $\text{SO}_4^-$  como posible factor condicionante, se desarrolló este trabajo experimental con el objetivo de medir el efecto de distintas concentraciones del anión en el agua de bebida sobre las concentraciones de Cu en sangre e hígado, y relacionarlos con otros parámetros que pueden ser indicativos de síndromes deficitarios.

2) Materiales y Métodos utilizados

a) Instalaciones: Para el desarrollo del experimento se dispone de 4 corrales de 5 x 4 m, con piso afirmado, bebederos con capacidad para 200 lt. de agua y comederos para fardos y para suplementar con ración.

b) Animales: En el pre ensayo que dura 30 días, se utilizan 4 animales bovinos hembras, de 14-16 meses de edad, sin signos clínicos de enfermedad; raza Aberdeen Angus por Hereford, para medir el posible efecto irritante que puede tener sobre la mucosa intestinal un suministro elevado de sales totales en el agua de bebida. Con esto se trata de probar que la presencia de diarreas no es debida a la elevada concentración de sales per se.

Para el ensayo se emplean 18 bovinos hembras, de 15 meses de edad, sin signos clínicos de enfermedad, quince de ellos de raza Aberdeen Angus, tres de raza Aberdeen Angus x Hereford.

El peso promedio de los animales AA al iniciar el período de adaptación al alimento, treinta días antes del inicio del ensayo, fue de  $238^{+9}$  kg el de los AA x H 242, 251 y 270 kg.

La selección de animales se realiza teniendo en cuenta la raza, edad, sexo, igualdad de peso, y valores de Cu sanguíneo, medidos como actividad de ceruloplasmina, superiores a 0.5 mg/ml.

Debido a que ni en las reservas ganaderas de la Estación Experimental Balcarce, ni en establecimientos de la zona pudo cumplirse con el último requerimiento, por hallarse que los valores determinados en los animales chequeados son sensiblemente inferiores a lo deseado, se decide utilizar los de esta experimental.

Para lograr una concentración normal de Cu sanguíneo, se inyecta a los 15 AA; 45 días antes de iniciar el ensayo, con un producto comercial cuya fórmula contiene Cu como  $\alpha$  amino acetato, en una concentración de 4.000 mg/100 ml.

Se trabaja con cuatro grupos.

Los AA son divididos al azar en tres grupos de 5 animales, el cuarto grupo es formado por los AA x II, se incluye para reafirmar los resultados obtenidos en el pre-ensayo.

Los grupos son identificados con caravanas cuyo color y número son:

GRUPO I: Color gris; Números 1, 2, 3, 4, 5.

GRUPO II: Color amarillo; Números 147, 401, 463, 470, 475.

GRUPO III: Color negro; Números 244, 430, 460, 463, 499.

GRUPO IV: Caravanas metálicas; Números 352, 376, 377.

c) Agua de bebida: Tratamientos suministrados.

El agua de bebida utilizada tiene valores de  $SO_4^{=}$  entre 100-150 mg/litro y sales totales entre 400-600 mg/lt. Es usada como tal para el grupo I (Control) y como materia prima más el agregado de otras sales para los grupos tratados.

**TRATAMIENTOS SUMINISTRADOS**

<b>GRUPOS</b>	<b><math>SO_4^{=}</math> (mg/Litro agua)</b>	<b>SALES TOTALES (mg/Litro agua)</b>
<b><i>I</i></b>	<b>100 - 150</b>	<b>400 - 600</b>
<b><i>II</i></b>	<b>1200</b>	<b>4000</b>
<b><i>III</i></b>	<b>2000</b>	<b>7000</b>
<b><i>IV</i></b>	<b>100 - 150</b>	<b>7000</b>

Para alcanzar la concentración de  $\text{SO}_4^=$  y sales totales especificadas, se agrega al agua de bebida  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y  $\text{Cl Na}$  respectivamente.

Debido a las variaciones periódicas de la concentración de  $\text{SO}_4^=$  y sales totales del agua de napa utilizada, se realizan muestreos semanales para establecer la cantidad de droga a agregar de acuerdo a cada tratamiento. En base al resultado de los análisis, se realizan los siguientes cálculos que permiten conocer la cantidad de  $\text{SO}_4^=$  y  $\text{Cl de Na}$  a agregar.

Para alcanzar los niveles de  $\text{SO}_4\text{Na}$ :

mg de  $\text{SO}_4^=$ /lt según tratamiento  $\rightarrow$  mg  $\text{SO}_4$ /lt en el agua =  
mg  $\text{SO}_4^=$ /lt a agregar.

si 96.06 mg de  $\text{SO}_4^=$  \_\_\_\_\_ 142.06 mg de  $\text{SO}_4 \text{Na}_2$   
los mg de  $\text{SO}_4$  hallados \_\_\_\_\_ 142.06 mg  $\text{SO}_4\text{Na}$  x mg de  $\text{SO}_4$  a agregar.  

---

96.06 mg de  $\text{SO}_4$

$\approx$  mg de  $\text{SO}_4\text{Na}$  a agregar por litro.

Esta cantidad, multiplicada por 180, da la cantidad de  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  a agregar por bebedero. El cálculo está hecho en base al peso molecular del  $\text{SO}_4$  y del  $\text{SO}_4\text{Na}_2$ . Se multiplica por 180 pues los bebederos de los animales tratados están marcados en los 180 lts.

Para alcanzar los niveles de sales totales: (ST)

mg ST/lt a agregar (4000 o 7000 mg de ST/lt en el agua +  
mg de  $\text{SO}_4\text{Na}_2$ ) = ml de  $\text{ClNa}$  a agregar. Esta cantidad es mul-

tiplicada por 180 dando el total de ClNa a agregar para lograr la cantidad deseada de sales totales en el agua de bebida.

Una vez conocidos los grs. de  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y ClNa a agregar, se pesan en recipientes de plástico previamente tapados; se llevan y vuelcan dentro de los bebederos y se disuelven en el agua, que se agrega hasta el límite de 180 lts. Ambas sales disuelven con facilidad.

Las dosificaciones se hacen diariamente, eliminándose completamente por secado, el líquido residual.

Los 180 lts. alcanzan a cubrir las necesidades de los animales de cada corral, estimándose que ingieren 35 lt/animal/día aproximadamente.

Para tratar los 3 animales del grupo IV, se marcó el bebedero en 150 lt; para hacer los cálculos descritos el factor multiplicador es 150 en vez de 180.

d) Alimento: El alimento suministrado es fardo de pastura, de calidad intermedia a regular.

El fardo es analizado, determinándose el porcentaje de materia orgánica, coeficiente de digestibilidad de la materia orgánica, porcentaje de N, porcentaje de proteínas, concentraciones de Cu, Mo y  $\text{SO}_4$  inorgánico, para determinar su calidad, dando como resultados:

Porcentaje de materia orgánica: 89.2%.

Coeficiente de digestibilidad de la materia orgánica: 46.1

Porcentaje de N: 1.44%.

Porcentaje de proteínas: 9,00%.

Cu: 7 ppm.

Mo: 3 ppm.

$\text{SO}_4$  inorgánico: 0.6%.

Quincenalmente y hasta finalizar el ensayo, se toman muestras de los fardos, determinándose concentración de Cu, Mo y  $\text{SO}_4^{=}$  inorgánico.

Pese a los resultados del primer muestreo, los animales no son suplementados en el período que duró el ensayo para evitar introducir otra variable al mismo, como es la concentración de Cu y Mo en el suplemento.

e) Estudio de parámetros indicativos de un estado deficitario: Para calcular el grado de significancia de todas las determinaciones, se realiza un análisis de varianza utilizándose un diseño completamente aleatorizado; las fuentes de variación consideradas son tratamientos y errores experimental (Ostle, 1968; Steel y Torrie, 1960).

Observación de signos clínicos: Diariamente y en forma individual se lleva un registro de presencia de diarreas o heces fluídas y de detección de acromotriquia.

Pesadas: Los animales son pesados al inicio del ensayo y luego cada catorce días, hasta la finalización del mismo en una balanza marca Mercury; las pesadas comienzan a la misma hora, en el mismo orden, sin desbasto previo.

Extracciones de sangre: Para realizar determinaciones de Hb%, Volúmen Globular, concentración corpuscular media, Cu en sangre total y Cu como actividad de ceruloplasmina Oxidasa, se obtienen muestreos de sangre de todos los animales al inicio del ensayo y luego quincenalmente, hasta finalizar el mismo. La muestra se extrae de la vena yugular, colectándose  $20 \text{ cm}^3$  en tubos heparinizados y  $70 \text{ cm}^3$  para obtener suero.



Extracción de muestras hepáticas: Obtenidas por biopsia al inicio del ensayo, a los 45 días y al culminar el mismo. Se biopsian 2 animales de cada grupo: del I los Nros. 1 y 5; del II los Nros. 463 y 475; del III los Nros. 244 y 499; del IV los Nros. 352 y 377, lográndose muestras de 7 mm de ancho x 50-70 mm de largo, en las que se determina Cu.

Descripción de la técnica para realizar la biopsia hepática (Carrillo, B.J., Bingley, J.B., 1965).

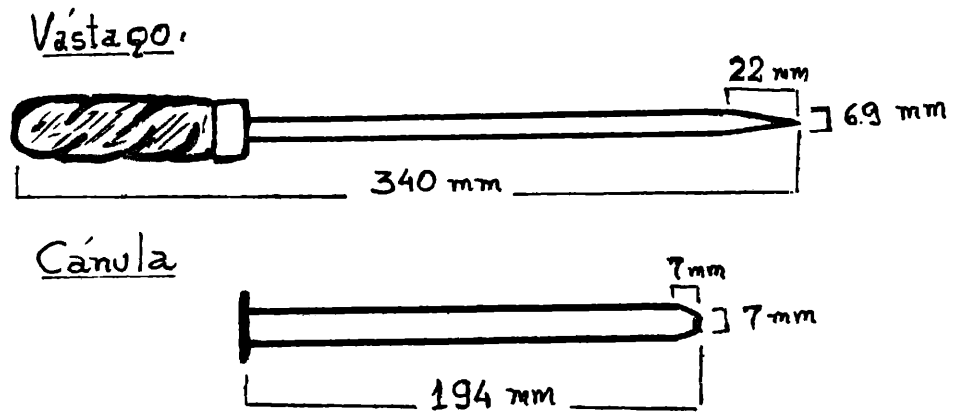
Materiales: TROCAR: las medidas del Vástago son 162 cm de largo por 69 mm de diámetro, con una empuñadura de 15 cm. Su punta está afilada cónicamente y con un extremo agudo en una extensión de 2.2 cm. La Cánula mide 4 cm de largo y 7 mm de diámetro. Una arandela soldada al borde proximal de la misma hace de tope, a fin de evitar su pérdida y permitir ejercer movimientos rotacionales durante la operación. Está biselada en su extremo distal en una extensión de 7 mm, con un filo que permite su introducción en el tejido hepático.

El vástago debe corresponder exactamente al diámetro de la cánula, evitando la existencia de luz entre ambos para facilitar la operación, no permitir arrastre de tejidos en la introducción y mejorar el vacío en la extracción.

El material empleado para la construcción es acero inoxidable de muy buena calidad, con un máximo de 1% de Cu.

La figura 11 muestra un esquema del trocar y sus medidas.

FIGURA 11: COMPONENTES DEL TROCAR



Tubos para biopsias: de vidrio Pirex, miden 95 cm de largo y 2 cm de diámetro, con boca y tapón esmerilados. En ellos se recoge la muestra obtenida y se hace el análisis.

Otros materiales utilizados son vasos de precipitación, papel de filtro, tijera curva, bisturí, pinza anatómica, algodón.

Drogas: antiséptico quirúrgico, agua bidestilada, Cl Na 0.9N. Opcionalmente miorrelajante.

Método: el animal a muestrear es introducido en la manga, que debe tener una puerta lateral derecha a la altura del tórax del animal. Se sujeta con el cepo y con una soga se inmovilizan los miembros posteriores (permitiendo que el animal adopte una posición normal evitando desubicación de órganos, con lo que disminuyen los riesgos de la operación).

En caso de ser necesario, se puede inyectar una dosis de miorrelajante cuidando de evitar

la caída del animal dentro de la manga, por las dificultades que acarrea.

Una vez sujeto, se ubica el punto de punción, variable de acuerdo al tamaño del animal. En los animales del ensayo se hace en el espacio intercostal 11°, a 20-30 cm debajo de la línea superior del lomo.

Se prepara la zona a operar cortando el pelo en una superficie de 10 cm<sup>2</sup>, con tijera curva y/o afeitadora. Se desinfecta la zona con antiséptico, luego con antiséptico quirúrgico y se realiza una incisión en la piel de aproximadamente 1,5 a 2 cm de largo.

Se introduce el trocar por la incisión atravesando los músculos intercostales, ejerciendo una presión constante y firme, no muy exagerada; se extrae el vástago cuando se atraviesa diafragma, dejando la cánula. Com movimientos de rotación, se introducen en el tejido del órgano, a una profundidad de 5-10 cm.

Con el dedo pulgar se obstruye el agujero de la cánula y se la extrae suavemente creando una presión negativa, necesaria para arrastrar la muestra.

La dirección del trocar puede variar. Según Chapman y col (1963) es hacia lateral, caudal y ventral. Carrillo y Bingley la introducen hacia lateral caudal y ventral en dirección a la articulación húmero - radio - cubital del lado opuesto. En el ensayo la dirección de introducción varió con cada animal, dependiendo de su llenado ruminal, siendo la más frecuente ventral y medial.

El estado de replección ruminal favorece la obtención de la muestra. A veces no se arrastra la

muestra en la primera vez, siendo necesario introducir nuevamente el trocar.

La muestra se recibe en un vaso de precipitación con solución fisiológica. Luego se transfiere a otro vaso con agua bidestilada, donde se le extraen los coágulos y el material extraño adherido; la muestra limpia se seca sobre papel de filtro y se introduce en el tubo correspondiente, previamente identificado y tarado. Todo el manipuleo se hace con pinza anatómica.

Las fotografías que se adjuntan ilustran el proceso de obtención de la muestra.



Placa N°1: El animal, ya dentro de la manga, está sujetado por el cepo y el apretavacío, y es sedado con un producto miorrelajante, inyectable. Ubicado el espacio intercostal 11°, entre las costillas 11 y 12, y a una distancia aproximada de 20 cm. de la línea del dorso, se procede a rasurar una zona de 5 cm. de diámetro.



Placa N° 2: Luego de desinfectar la zona circundante con un antiséptico común, se aplica sobre el lugar que se practicará la incisión un antiséptico quirúrgico.

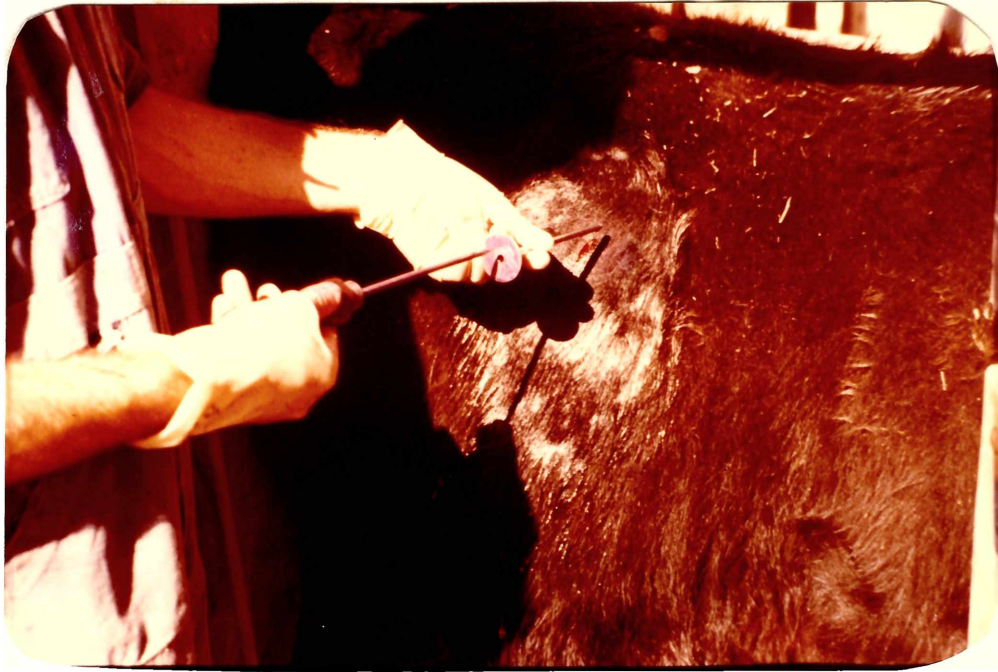


Placa N°3: Los dedos de mi mano izquierda están ubicados en los espacios intercostales 12°, el dedo medio, y 11°, el índice. Mi mano derecha sostiene el bisturí con el que se incidirá la piel. Para evitar una abertura directa al exterior, la incisión se hace hacia lateral del lugar donde se introducirá el trócar; en el momento de la introducción, la piel es traccionada hasta el lugar deseado.



Placa N° 4: La incisión se realiza sobre la costilla 11°, pudiéndose efectuar sobre la 12°. Entre mis dedos pulgar e índice se visualiza el corte, de 15 mm. de largo aproximadamente.





Placa Nº 5: El vástago es introducido en la cánula, quedando el trócar armado y listo para iniciar la operación. Es aconsejable la mayor asepsia posible, pues se abordará directamente el órgano.



Placa N°6: El trócar se comienza a introducir a través de la incisión. Se atraviesan tejido subcutáneo, músculos intercostales y diafragma. La dirección de penetración es variable, depende de la edad y del llenado ruminal. En este caso, el trócar se dirige en forma casi perpendicular al plano costal, con una ligera inclinación hacia cráneo - ventral.

Luego de atravesado el diafragma, un sonido particular indica que se ha llegado al órgano. Se extrae el vástago, y aplicando movimientos rotacionales a la cánula, se recoge material tisular.



Placa Nº 7: La cánula es introducida totalmente. En su interior se halla la muestra hepática obtenida. Seguidamente, con el dedo pulgar se obstruye el orificio de la cánula, para producir una presión positiva en su interior, con la ayuda de los dedos índice y medio, y con movimientos de rotación, se extrae el instrumento. La incisión cicatriza en pocos días, sin necesidad de sutura. Como medida profiláctica, se aplica antibiótico inyectable.



Placa N° 8: El vástago es introducido nuevamente; la muestra hepática es recogida sobre papel de filtro. El vástago es impulsado suavemente dentro de la cánula, así el tejido no es dañado, pudiéndose hacer incluso histología.



Placa N°9: Se desprenden los coágulos del material obtenido con la ayuda de una pinza anatómica; este paso debe realizarse con sumo cuidado para eliminar la totalidad del material extraño.



Placa N°10: El trozo hepático luego se sumerge en solución fisiológica, para lavarlo y desprender restos de material no hepático.



Placa Nº 11: La muestra es secada sobre papel de filtro e introducida en el tubo de digestión, previamente tarado e identificado.

Posteriormente el tubo es pesado para obtener peso fresco del material extraído, secado en estufa durante aproximadamente 72 horas, vuelto a pesar para conocer su peso seco; a partir de este momento, se inicia el procesamiento del tejido hepático, que llevará a la determinación de la reserva de Cobre en el órgano.

Análisis de las muestras tomadas:

**A) Muestras de fardos:**

Determinación de Cu (Eden y Green - 1940)

Fundamento: La muestra es mineralizada por digestión húmeda empleando ácidos y calor.

El mineral es complejado y separado del resto. La absorbancia del producto final permite calcular la concentración de Cu.

Materiales utilizados: Balanza de precisión, estufa, molinillo, calentador con resistencias, mecheros, pinzas recubiertas con amianto, tubos de digestión, perlas de vidrio, tubos de centrifuga, propipetas, pipetas, centrifuga, espectrofotómetro. El material de vidrio debe mantenerse sumergido en  $\text{NO}_3\text{H}$  durante 24 h, luego de haber sido lavado.

Reactivos:  $\text{SO}_4\text{H}_2$ ,  $\text{NO}_3\text{H}$ ,  $\text{ClO}_4\text{H}$ , concentrados; citrato de amonio 50%, fenolftaleína al 1% disuelta en alcohol;  $\text{NH}_3$  concentrado, acetato de amilo destilado, dietil carbamato 1%, pirofosfato de  $\text{Na}_4$ ; Sol standard de Cu metálico; se trabaja con St. de 1 ug/ml.

Técnica: De una muestra representativa de fardo, se pesan 100 gr aproximadamente, se colocan dentro de una bolsa de papel tarada; se deja deshidratar en estufa durante 72 h, se pesa para calcular materia seca.

La muestra se muele. Se toman 300 mg aproximadamente, se introducen dentro del tubo de digestión, que contiene perlas de vidrio, para evitar la producción de explosiones durante la digestión. Se trabaja por duplicado.



A cada tubo se le agregan 2 ml de sulfúrico, 1 ml de nítrico y 1 ml de perclórico. Se realiza la digestión por carolimetría hasta desaparición de los vapores marrones de nítrico, los poco densos de perclórico y aparición de los espesos vapores de sulfúrico. La digestión se termina sobre mecheros de gas.

Una vez enfriados los tubos, se lavan sus paredes interiores con agua bidestilada. Se hierven durante 30', a partir del momento en que el líquido comienza a ebulir. Se agregan 15 ml de agua bidestilada, 2 ml de nitrato de amonio, 2 gotas de fenolftaleína y se neutraliza la solución con  $\text{NH}_3$ , agregando 1 ml en exceso.

Se agregan 5 ml de acetato de amilo, 1 ml de reactivo preparado ana-ana con dietil tiocarbamato y pirofosfato de Na, preparado en el momento de usar. Se tapan los tubos, se agitan durante 45' y luego durante 15' más.

Se deja en reposo los tubos durante 30', se extrae el sobrenadante con pipeta, y se introduce en tubos cónicos, se centrifuga para evitar que las gotas de agua trasvasadas interfieran en la lectura.

Se lee en espectrofotómetro, a una longitud de onda de 432,5  $\mu\text{m}$ .

La solución St. debe ser agregada a los tubos en el paso previo a la adición de citrato de amonio. Para los st. se dispone de 3 tubos, por duplicado. Se agregan 1, 2, 3 y 5 ml de la solución hija, quedando los standard con una concentración de 1, 2, 3 y 5  $\mu\text{g/ml}$  (ppm).

Para obtener la cantidad de Cu en pastos, en ppm una vez leída la absorbancia de todos los tubos, se traza una curva con los standard y por interpolación se halla la concentración de cada muestra; se divide por su peso seco para obtener las ppm de Cu que contiene.

Determinación de Mo (Bingley, J.R., 1959):

Fundamentación: mineralización y separación del Mo complejado. Cálculo de la absorbancia y concentración.

Materiales: similares a los utilizados para determinación de Cu.

Reactivos: sulfato férrico amónico, a una concentración de 100 mg/ml, lograda disolviendo 9,1 gr de Fe dodecahidratado en 100 ml de sulfúrico al 2%; ioduro de K al 50%; ácido ascórbico al 50%; dithiol al 0,2%, obtenido calentando un tubo de 1 gr de dithiol vertiendo el contenido en 500 ml de NaOH al 1% calentado a 38°C.

Se disuelve el dithiol y se agrega ácido tioglicólico, hasta que persista una ligera turbidez. El reactivo se guarda refrigerado; tiene una vida útil de 30 días.

Técnica: la muestra es pesada, secada y molida como fue descrito para Cu. Se pesa 1 gr de la muestra secada, y molida; se introduce en tubos de digestión con perlas de vidrio en su interior.

La materia orgánica se destruye por digestión húmeda con 3 ml de sulfúrico, 2 ml de nítrico y 2 ml de perclórico y calorimetría.

Cuando se termina la digestión, se dejan enfriar los tubos. Se les lavan las paredes interiores y la boca con agua bidestilada. Se hierven durante 30''.

Se agrega a cada tubo 0,25 ml de sulfato férrico amónico, 25 ml de agua bidestilada y 0,25 ml de ioduro de K. Se dejan reposar 10', agitando de vez en cuando y previa eliminación del color ioda-

dado por el agregado gota a gota de ácido ascórbico, se le vierten 0,25 ml de ácido tartárico y 2 ml de dithiol a todos los tubos. Los standards se adicionan antes del sulfato férrico amónico, en cantidades de 0,1; 0,2 y 0,3 ml.

Se tapan los tubos, se agitan durante 30'' y se deja reposar 30'.

Se adicionan 5 ml de acetato de amilo por tubo, se agitan 30''. Se extrae la capa sobrenadante, se coloca en tubos cónicos, se centrifuga y se lee en espectrofotómetro a 680 nm.

Los pasos posteriores del análisis son similares a los descriptos para Cu.

Determinación del  $\text{SO}_4^{=}$  inorgánico en pasto (Bingley y Dick, 1967):

Fundamento: Los  $\text{SO}_4^{=}$ , obtenidos por el método de la benzidina, son medidos por titulación con NaOH.

Materiales: Plancha térmica, tubos refrigerantes, erlenmeyer de 150 ml, pipetas, tubos de centrifuga cónicos, varillas de vidrio, balanza de precisión.

Reactivos: ClH 0,01 N, ácido TCA 10%, solución standard de sulfato de K, NaOH 0,02 N, rojo de fenol, banzidina 1,6%.

Técnica: Se pesan aproximadamente 1,5 gr de pasto seco y molido en erlenmeyer con boca esmerilada. Se agregan 15 ml de HCl; los recipientes son colocados sobre plancha caliente, se les conectan los tubos refrigerantes, manteniendo la ebullición por 15', a partir del comienzo de la misma en todos los erlenmeyer. Se deja enfriar durante 15'. Se agregan 15 ml de TCA. Se centrifuga el contenido en tubos de fondo redonde, tapados, durante 40' a

3.300 rpm. Se pasa a otros tubos, y se dejan reposar durante 12 h. en heladera.

Se centrifugan todas las muestras durante 40' a 3.300 rpm; se toman alicuotas de 5 ml de cada tubo; se pasan a tubos cónicos de centrifuga. A cada uno se le agrega 0,5 ml de la Solución standard de sulfato de K, 3,3 ml de benzidina al 1,6% de alcohol, agitando con varilla de vidrio, se enjuaga con dos chorros de alcohol de una pizeta. Se colocan los tubos en congelador, junto con una pizeta llena de alcohol, durante 6-8 h.

Se sacan, se centrifugan 40' a 3.300 rpm, se vuelca el sobrenadante, se enjuagan las paredes del tubo invertido con alcohol de la pizeta, sin tocar el precipitado, para eliminar el TCA.

Se dejan escurrir los tubos boca abajo durante 15', se agregan 10 ml de alcohol, se centrifuga 40' a 3.300 rpm. Se desecha el sobrenadante, agregando al precipitado 10 ml de agua bidestilada.

Se titula con NaOH, luego del calentamiento a ebullición. Para ello, se colocan los tubos en un vaso con agua hirviendo, utilizando rojo fenol como indicador. Se trabaja con dos blancos que se preparan con los reactivos que tienen 15 ml de HCl y 15 ml de TCA en tubos con fondo redondo, se centrifugan y se dejan en heladera; los pasos siguientes son similares.

Cálculo para hallar la concentración de Sulfatos:

(Vol. de NaOH de muestra-Vol NaOH del blanco) x →  
→ Normalidad de NaOH x 19,212 x Peso Húm.

Peso seco (de la muestra)

$$\frac{\text{Vol NaOH} - \text{Vol NaOH bl} \times N \text{ NaOH} \times 19,212 \times \text{Peso Húm.}}{\text{Peso seco muestra}} = \% \text{ de Sulfatos.}$$

### 1) Muestreos de Agua:

#### Determinación de Sulfatos:

Fundamento: Precipitación de los Sulfatos por  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ .

Materiales: Tubos de centrifuga, pipetas de 1 y 5 ml, vasos de precipitación, agitador, mechero de gas, estufa, centrifuga, balanza de precisión.

Reactivos: Heliantina al 0.1% (50 mg en 50 ml de agua),  $\text{ClH}$  1N,  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  1 N, alcohol 48°

Técnica: Se toma una alicuota de 5 ml por muestra en un tubo de centrifuga cónico tarado. Se trabaja por duplicado. Se le agregan 2 gotas de heliantina, se homogeniza, se agrega  $\text{HCl}$  hasta neutralizar, más 1 ml en exceso; en total, 1,3 ml.

Se colocan los tubos dentro de un vaso de precipitación con agua, se calienta hasta ebullición. Cuando esta comienza, se les agrega 1 ml de  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ . Se dejan hervir 30'. Se sacan los tubos y se dejan enfriar. Se centrifugan 15'; el sobrenadante se vuelca con sumo cuidado, dejando escurrir. Se lavan las paredes interiores con alcohol 48° y se vuelven a centrifugar por 15', volcándose el sobrenadante.

Se lavan los tubos exteriormente con alcohol, se secán, se llevan a estufa, durante 24 h a 70°.

Se extraen los tubos, se dejan enfriar en desecador; se pesan. La diferencia entre lo pesado y la tara se multiplica por un factor, 82,3. El resultado se expresa en mg de Sulfato/litro de agua.

Determinación de Sales totales:

Fundamento: el residuo seco, obtenido por evaporación, se expresa en mg de sales totales/litro de agua.

Materiales: probeta de 50 ml, cápsula cerámica de 50 ml, baño maría, balanza de precisión.

Técnica: Se toma una alícuota de 50 ml de agua con la probeta; se vierte dentro de cápsula tarada. Se coloca en baño maría hasta la evaporación del agua, se saca y se lleva a estufa, a 70° hasta desecación completa, aproximadamente 24 h.

Se pesa; la diferencia entre la pesada y la tara se multiplica por 20, dando los ml de sales totales/litro de agua.

9) Muestreo de Sangre:

a) Sangre incoagulable por heparinización:

Determinación de Hb% (Cannan RK):

Fundamento: El método de la cianometahemoglobina se basa en que el cianuro actúa en la solución diluída, transformando en laca a los eritrocitos y convirtiendo a la Hemoglobina en cianometahemoglobina, que es un pigmento estable. Su concentración es directamente proporcional a su densidad óptica y solo tiene la desventaja de medir la oxihemoglobina.

Materiales: Cubetas, micropipetas de 20 ul, pipetas, agitador, espectrofotometro.

Reactivos: Sol de Drabkins:  $\text{CO}_3\text{HNa} = 1 \text{ gr,}$

Cianuro de K= 50 gr.

Ferricianuro de K= 200 gr.

Las tres sustancias se disuelven en agua bidestilada y se mezclan en un matraz de un litro, llevando a volumen con agua.

Técnica: Se pipetea 5 ml de sol de Drabkins en un tubo de ensayo, se agregan 20 ul de sangre homogeneizada por inversión suave y se enjuaga la micropipeta dos o tres veces en esa solución.

Se agita para evitar la aglutinación eritrocitaria y se lee luego de cinco minutos, contra blanco de sol Drabkins, a una longitud de 540 nm. El valor obtenido se lleva a una tabla y se expresa en gs% de Hb.

Determinación del Volumen Globular (Método del microhematocrito)

Materiales: Ultracentrifuga; tubos capilares no heparinizados.

Técnica: Se llenan los tubos por capilaridad hasta aproximadamente 1 cm del fondo con sangre. Se sella el extremo vacío con arcilla especial o plastilina. Se centrifugan los tubos 10' a 10.000-12.000 rpm.

La lectura se hace en una tabla, que da el valor en % de la sangre.

Determinación de la Concentración Corpuscular Media.

Se expresa la concentración de Hb1/2%, por unidad de V.G.; se obtiene aplicando la fórmula:

$$\frac{\text{gs de Hb en 100 ml de sangre} \times 100}{\text{V.G. en 100 ml de sangre}}$$

Determinación de Cu en sangre total: (Eden y Green 1940)

Fundamento, materiales y reactivos: los mismos utilizados para la determinación de Cu en pastos.

Técnica: En cada tubo de digestión se vierten 5 ml de sangre incoagulada, se trabaja por duplicado. Se agregan 2 ml de sulfúrico y se hace predigestión. Se agregan los ácidos restantes, como fue descripto. Los pasos siguientes no difieren de lo mencionado.

Para el cálculo final, la concentración de Cu leída en la curva se divide por cinco, dando las ppm de Cu en sangre total.

b) Suero

Determinación de Cu sanguíneo por el método de la ceruloplasmina oxidasa:

Fundamento: La ceruloplasmina cataliza la oxidación del sustrato p-fenilendiamina a p-fenilendiaminaquinona, que se polimeriza, dando color violeta.

La capacidad enzimática de la enzima está directamente relacionada con el Cu sérico y normalmente representa el 90% del Cu total.

Es estable. El suero puede guardarse a 4°C durante 7 días y -28°C durante varios meses.

El método es simple, requiere un pequeño volumen sérico y no se contamina con Cu inorgánico.

Materiales: centrífuga, baño maría, agitador, espectrofotómetro, cubetas.

Reactivos: Buffer acético acetato: pH 6,3. Se prepara una solución madre de acetato de Na 1 molar: 13 gr de acetato de Na  $3 H_2O$  se llevan a 100 ml con agua bidestilada y una solución madre de ácido acé-



tico 1 molar: 0,6 mg de ácido acético glacial en 100 ml de agua bidestilada. Se mezclan 10 ml de la primera y 2 ml de la segunda; se llevan a 100 ml con agua bidestilada, en el momento de usar.

Solución de azida sódica 0,11%; solución fisiológica; NaOH 0,2; clorhidrato de p-fenilendiamina al 0,5%: se disuelven 200 mg de la droga en 32 ml de H<sub>2</sub>O bidestilada y se agregan 8,45 ml de NaOH 0,2 N; se prepara en el momento de uso.

Técnica: En tres tubos por muestra se colocan 2 ml de buffer y 0,1 ml de suero. A uno de los tubos se le agrega 1 ml de azida sódica y a todos los tubos, 1 ml de p-fenilendiamina. Se mezcla e incuban los tubos a 37 °C en baño maría durante 60'. Se retiran del baño; a los otros dos tubos se les agrega 1 ml de azida sódica y se enfrían bajo agua, con lo que se inhibe la actividad enzimática. Se lee dentro de los 30' a 530 nm contra agua. En caso de opalescencia, centrifugar los tubos.

Si la reacción se lee en Coleman Junior II, agregar a todos los tubos 1 ml de solución fisiológica. El pH de la solución final debe estar entre 6,3 y 6,4. El resultado de la lectura es llevado a una tabla, convirtiendo los valores determinados en ug de Cu/ml de suero.

### Muestreo de hígado:

#### Determinación de Cu en hígado:

La técnica es similar a la utilizada para determinar Cu en pastos.

Técnica: Los tubos de digestión con la muestra hepática son pesados, determinando su peso fresco. Se colo-

can en estufa a 100° con tapón flojo, para permitir la salida de vapores de agua. Después de por lo menos 16 h de secado, retirar la estufa y dejar enfriar en desecador. Se pesan los tubos nuevamente, determinando su peso seco.

Se agregan a los tubos 1 ml de sulfúrico, 1 ml de nítrico y 0,5 ml de perclórico.

Los pasos siguientes son similares a los descritos en la determinación de Cu en pastos, excepto que la fase acuosa final no debe exceder de 15 ml.

Si los valores determinados por absorbancia son muy altos, se puede diluir la muestra.

La concentración de Cu en sangre e hígado sigue la ley de Beer.

Para el cálculo final, se dividen los valores obtenidos de la curva, por el peso seco de cada muestra.

### 3) Resultados:

Pre-ensayo: En el tratamiento que reciben los tres animales utilizados en el Grupo IV, de 100-150 mg  $SO_4/1$  y 7.000 mg ST/litro de agua, solo se observa la presencia de heces muy fluídas entre los días 3° y 7°; pero con un número de deposiciones diarias considerado normal, no repitiéndose a posteriori.

#### Ensayo:

#### **3-1) Signos clínicos observados:**

##### Despigmentación:

Los primeros signos de despigmentación se detectan a partir de la tercera semana en dos animales del grupo III, extendiéndose a todos los anima-

les de este grupo al promediar la quinta semana.

Al principio, se presenta en el borde de las orejas, alcanzando luego otros vectores: zona periorbitaria, región posterior y abdominal de los animales.

Esta despigmentación, que inicialmente es más evidente en el grupo III, afecta posteriormente a todos los animales del ensayo, no observándose diferencias significativas entre los distintos grupos al finalizar el experimento.

Una fotografía del grupo III tomada al culminar el ensayo permite ilustrar lo observado.



Placa N° : Grupo III: El estado de los 10 animales y el grado de despigmentación no difiere de los otros grupos.

### Heces fluídas:

Los animales del grupo III presentan heces fluídas durante la primera semana de tratamiento. Posteriormente y en forma muy esporádica, se observa repetición de esos episodios, con una duración de tres a cuatro días en los integrantes de los grupos III y IV.

La alteración observada es en la consistencia de la materia fecal, la que no fue acompañada de signos o síntomas de diarrea.

### 3-2) Evolución de la ganancia de peso:

En la tabla 5 se registra la evolución de la ganancia de peso de los animales durante los noventa días del ensayo.

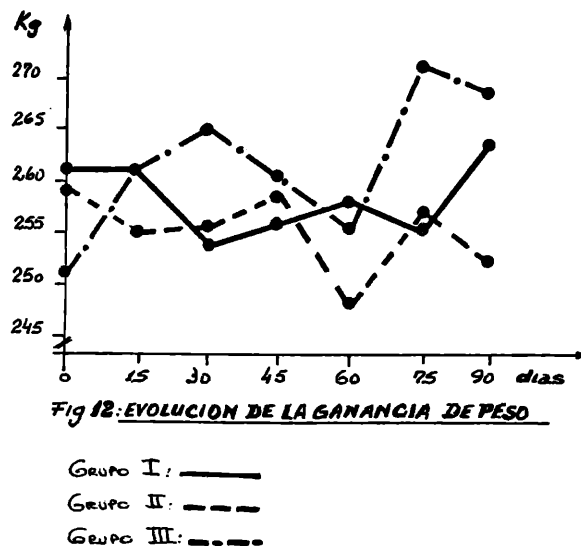
Tabla 5: Evolución de la ganancia de peso

Animal	Pesada							Grupo
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	
1	250	261	256	264	260	254	237	I (control)
2	260	256	250	236	253	250	271	
3	261	256	262	262	260	256	280	
4	268	260	245	258	260	264	276	
5	266	272	255	260	259	261	256	
TOTAL	1305	1305	1268	1280	1292	1275	1320	
$\bar{X}$	261	261	254	256	258	255	264	
147	277	265	276	276	267	271	268	II
401	250	254	254	258	255	264	254	
463	260	240	256	259	249	261	250	
470	257	265	251	256	250	264	256	
475	252	253	244	244	217	226	231	
TOTAL	1296	1277	1281	1293	1238	1286	1259	
$\bar{X}$	259	255	256	259	248	257	252	
244	262	260	270	258	250	254	250	III
430	246	250	262	264	258	274	250	
460	240	254	245	244	240	262	264	
463	266	292	280	279	276	300	300	
499	240	250	267	257	252	266	274	
TOTAL	1254	1306	1324	1302	1276	1356	1338	
$\bar{X}$	251	261	265	260	255	271	268	
352	270	270	259	268	268	273	274	IV
376	242	260	240	238	237	257	250	
372	251	264	251	257	260	280	283	
TOTAL	763	794	750	763	765	804	807	
$\bar{X}$	254	264	250	254	255	268	269	

Los animales del grupo I mantienen su peso durante el desarrollo del ensayo.

En el grupo II, cuatro animales se comportan en forma similar a los del grupo I. El N° 475 sufre una importante pérdida de peso, que se registra entre la cuarta y quinta pesadas, y de la que no se recupera posteriormente.

La evolución de las pesadas del grupo III difiere de la de los otros grupos. Se han registrado diferencias mayores entre las distintas pesadas, que lo que sucede en los otros grupos.



La figura 12 grafica la evolución de las pesadas.

Las diferencias entre los tres grupos del ensayo son "no significativas" ( $P < 0.01$ ).

3) Parámetros hemáticos y hepáticos determinados:

a) En sangre total: Hb%, expresada como gr/100 ml de sangre:

Tabla 6: Valores de Hb%

Muestreo Nº	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	Obs: GRUPO
1	12.6	13.6	13.0	12.0	13.0	12.6	11.6	I
2	14.5	13.7	14.9	13.7	14.1	15.7	14.7	
3	13.5	13.0	14.1	12.0	11.6	13.3	12.3	
4	12.1	12.3	13.3	12.3	12.6	12.0	11.6	
5	13.5	15.7	14.1	14.5	13.3	14.1	13.3	
TOTAL	66.2	68.3	69.4	64.5	64.6	67.7	63.5	
$\bar{X}$	13.2	13.6	13.9	12.9	12.9	13.5	12.7	
147	12.4	13.3	15.7	12.3	11.6	13.3	12.3	II
401	14.1	13.5	14.9	13.0	14.1	14.5	14.1	
463	13.1	13.6	12.6	12.6	12.6	13.7	11.8	
470	12.6	14.1	14.5	12.3	13.0	14.1	13.7	
475	13.1	12.3	13.0	13.0	12.0	14.9	13.5	
TOTAL	65.3	66.8	70.7	63.2	63.3	70.5	65.4	
$\bar{X}$	13.0	13.3	14.1	12.6	12.6	14.1	13.0	
244	13.7	13.1	13.3	12.3	12.8	12.3	11.6	III
430	12.6	13.0	14.0	13.0	12.3	12.6	13.7	
460	13.3	14.1	15.1	14.5	13.3	13.3	14.1	
463	14.9	13.0	13.7	12.6	14.1	13.0	13.7	
499	13.5	13.4	14.8	13.0	13.6	13.0	12.4	
TOTAL	68.0	66.6	70.9	65.4	65.6	64.2	65.5	
$\bar{X}$	13.6	13.3	14.1	13.0	13.1	12.8	13.1	
352	11.0	12.0	12.0	10.9	10.7	11.3	10.7	IV
376	12.1	12.0	13.0	13.0	11.3	13.3	12.3	
377	11.6	12.0	14.9	12.6	12.3	13.3	11.6	
TOTAL	34.7	36.0	39.9	36.5	34.3	37.9	34.6	
$\bar{X}$	11.5	12.0	13.3	12.1	11.4	12.6	11.5	

Valores normales de Hb%: 10-14 gr/100 ml.

Se registran variaciones de los niveles de Hb%, dentro de los niveles considerados normales.

La figura 13 grafica los valores de Hb% determinados.

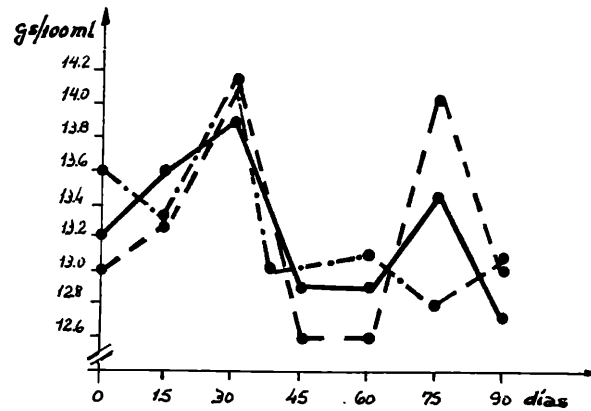


Fig 13: Hb% (g/100 ml)

Grupo I' ———  
Grupo II - - - -  
Grupo III - . - .

Las diferencias entre los grupos I, II y III son "no significativas" ( $P < 0.01$ ).

b) Volúmen Globular:

La tabla N° 7 registra los volúmenes globulares, calculados como porcentaje eritrocitario de los cuatro grupos de animales.



Tabla 7: Volúmen Globular

Nro.	Muestreo							Obs.: GRUPO
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	
1	42	41	40	35	38	35	34	I
2	44	44	45	42	45	47	45	
3	43	42	39	36	37	38	36	
4	39	39	39	37	40	35	36	
5	43	41	43	40	39	39	40	
TOTAL	211	207	206	190	199	194	191	
$\bar{X}$	42.2	41.4	41.2	38	39.8	38.8	38.2	
147	44	41	42	38	39	38	38	II
401	46	43	45	42	46	42	44	
463	44	44	42	40	38	40	35	
470	44	41	42	38	41	41	39	
475	39	39	39	39	36	42	40	
TOTAL	217	208	210	197	200	203	196	
$\bar{X}$	43.4	41.6	42	39.4	40	40.6	39.2	
244	43	40	40	36	38	37	38	III
430	43	42	42	40	41	37	40	
460	44	43	46	44	43	43	40	
463	45	40	44	39	43	41	41	
499	45	43	46	41	43	40	35	
TOTAL	220	208	218	200	208	198	194	
$\bar{X}$	44	41.6	43.6	40	41.6	39.6	38.8	
352	39	39	37	35	38	34	34	IV
376	40	38	42	41	37	38	35	
377	40	37	42	41	38	37	34	
TOTAL	119	114	121	117	113	109	103	
$\bar{X}$	39.6	38	40.3	39	37.6	36.3	34.3	

Valores normales de Volumen Globular: 30-50%

Los tres grupos del ensayo se comportan en forma similar, las determinaciones se mantienen dentro de los límites de normalidad.

La figura 14 ilustra graficamente los valores del volúmen globular.



Fig 14: VOLUMEN GLOBULAR

GRUPO I: ———  
GRUPO II: - - - -  
GRUPO III: - · - · -

La diferencia entre los grupos es "no significativa" ( $P/ \underline{\quad} 0.01$ ).

El gráfico muestra una tendencia de los tres grupos a disminuir su volumen globular a medida que transcurre el ensayo.

En la tabla N°8 se indican los resultados de Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media obtenidos en los grupos tratados.

Tabla 8: Evolución de la C. Hb. C. M.

Muestreo Neo.	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	Obs.: GRU
1	30.0	33.0	32.0	34.0	34.2	36.0	35.0	I
2	32.0	33.0	33.1	32.0	31.3	33.4	34.2	
3	31.0	30.0	36.0	33.0	32.2	35.0	33.9	
4	31.0	31.0	34.0	33.0	31.5	34.2	35.0	
5	31.0	33.0	32.7	36.0	34.1	36.1	34.2	
TOTAL	155	160	167.8	168.0	163.3	174.7	172.3	
$\bar{X}$	31	32	33.5	33.6	32.6	34.9	34.4	
147	28.0	32.0	32.6	32.0	29.7	35.0	32.3	II
401	30.0	31.0	33.3	30.0	30.6	35.4	32.0	
463	29.0	30.0	30.0	31.0	33.1	34.2	34.0	
470	28.0	34.0	34.5	32.0	31.7	34.3	32.2	
475	35.0	31.0	33.3	33.0	33.3	35.4	34.4	
TOTAL	150.0	158.0	163.7	158.0	158.4	174.3	164.5	
$\bar{X}$	30	31.6	32.7	31.6	31.6	34.8	32.9	
244	31	32	33.2	34	32.2	33.2	33.0	III
430	29	35	33	32	30.0	34.0	34.2	
460	30	32	33	32	30.9	30.9	34.3	
463	33	32	31	32	32.7	31.7	32.4	
499	30	31	32	31	29.3	32.5	35.4	
TOTAL	153	162	162.2	161	155.1	162.3	170.3	
$\bar{X}$	30.6	32.4	32.4	32.2	31.0	32.4	34.0	
352	28	30	32	31	29	33.2	31.4	IV
376	30	31	31	31	30.5	35.0	35.4	
377	29	32	33	30	32.3	35.9	35.0	
TOTAL	87	93	93	92	91.8	104.1	101.8	
$\bar{X}$	29	31	31	30.6	30.6	34.7	33.9	

Valores normales: 29% - 36%

Los valores determinados se hallan dentro de los considerados normales.

En la figura 15 se grafican las C.C.M. tabuladas, de los grupos I, II y III

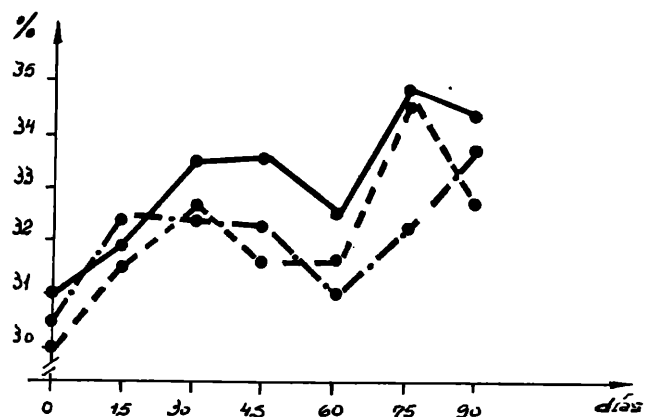


Fig 15. CONCENTRACION CORPUSCULAR MEDIA

GRUPO I. ———  
GRUPO II. - - - -  
GRUPO III. - · - · -

Las diferencias son estadísticamente "no significativas" ( $P/_{0.01}$ ).

Se observa una tendencia en los tres grupos a aumentar las concentraciones de Hb corpuscular media durante el transcurso del ensayo.

La tabla N°9 registra las ppm de Cu determinadas en los 18 animales.

Tabla 9: Cu en sangre total, en ppm

Nro. Muestreo	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	Obs.: Grupo
1	0.50	0.74	0.86	0.86	0.84	0.80	0.82	I
2	0.85	0.78	0.72	0.86	0.78	0.80	0.79	
3	1.10	0.90	0.72	0.74	0.78	0.70	0.70	
4	0.75	0.88	0.70	0.82	0.68	0.68	0.67	
5	0.66	0.84	0.76	0.80	0.86	0.68	0.65	
TOTAL	3.86	4.14	3.76	4.08	3.94	3.66	3.63	
$\bar{X}$	0.77	0.82	0.75	0.81	0.78	0.73	0.72	
147	0.80	0.74	0.86	1.14	0.84	0.84	0.82	II
401	0.84	0.74	0.98	0.82	0.86	0.72	0.75	
463	0.76	0.70	0.70	0.76	0.72	0.64	0.68	
470	0.54	0.58	0.78	0.88	0.76	0.86	0.84	
475	0.96	0.78	0.88	1.02	0.82	1.10	1.05	
TOTAL	<del>3.90</del>	3.54	4.20	4.52	4.00	4.16	4.14	
$\bar{X}$	0.78	0.70	0.84	0.90	0.80	0.83	0.82	
244	0.82	0.85	0.92	1.26	1.20	1.05	1.02	III
430	0.86	0.84	0.76	0.80	0.90	0.80	0.85	
460	0.74	0.64	0.74	1.02	0.72	0.74	0.70	
463	0.82	0.74	0.62	0.62	0.72	0.62	0.60	
499	0.50	0.74	0.66	0.88	0.64	0.62	0.63	
TOTAL	3.74	3.81	3.70	4.58	4.18	3.83	3.80	
$\bar{X}$	0.74	0.76	0.74	0.91	0.83	0.76	0.76	
352	0.36	0.58	0.70	0.68	0.68	0.78	0.75	IV
376	0.50	0.72	0.76	0.76	0.82	0.70	0.73	
377	0.34	0.72	0.70	0.74	0.74	0.68	0.72	
TOTAL	1.20	2.02	2.16	2.18	2.24	2.16	2.20	
$\bar{X}$	0.40	0.67	0.72	0.72	0.74	0.72	0.73	

Se observa que los grupos tratados muestran niveles más elevados de Cu en sangre total, que el grupo control; esto es más evidente en el Cuarto muestreo.

La figura 16 muestra el gráfico construido con los valores de Cu en sangre total indicados en la Tabla N° 9.

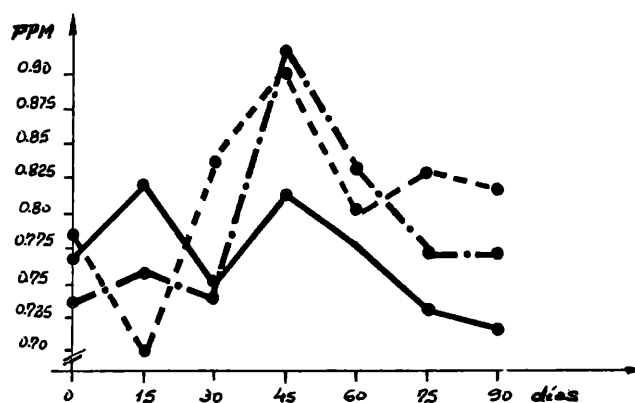


Fig 16: Cu EN SANGRE TOTAL (PPM).

GRUPO I: ———  
 GRUPO II: - - - -  
 GRUPO III: - . - . -

Los resultados dan diferencia "no significativas (P/ 0.01).

Determinaciones en suero:

En la Tabla N°10 se anotan las determinaciones de Cu sérico obtenidas.

Tabla 10: Cu medidos como actividad de ceruloplasmina.

Muestreo No.	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	Obs.: GRU
1	0.80	1.02	1.00	1.00	1.04	0.74	0.87	I
2	0.81	0.93	0.93	0.93	1.18	0.64	0.78	
3	0.36	0.46	0.49	0.46	0.62	0.42	0.45	
4	0.56	0.75	0.74	0.72	0.69	0.45	0.63	
5	0.82	0.98	0.98	0.96	1.35	0.83	0.80	
TOTAL	3.35	4.14	4.14	4.07	4.88	3.08	3.53	
$\bar{X}$	0.67	0.82	0.82	0.81	0.97	0.61	0.70	
147	0.59	0.69	0.68	0.65	0.85	0.67	0.69	II
401	1.05	1.00	0.99	0.98	1.24	0.85	1.13	
463	0.96	0.90	0.90	0.64	0.64	0.75	0.87	
470	0.69	0.68	0.65	0.62	0.76	0.69	0.78	
475	1.03	1.05	1.06	1.20	1.20	0.99	0.97	
TOTAL	4.32	4.32	4.28	4.09	4.69	3.95	4.42	
$\bar{X}$	0.86	0.86	0.85	0.81	0.93	0.79	0.88	
244	0.96	1.02	1.00	1.53	1.42	1.38	1.30	III
430	0.83	0.87	0.80	0.74	0.76	0.72	0.97	
460	0.45	0.68	0.64	0.64	0.76	0.69	0.61	
463	0.54	0.53	0.56	0.60	0.87	0.45	0.62	
499	0.43	0.45	0.42	0.45	0.38	0.45	0.47	
TOTAL	3.21	3.55	3.42	3.96	4.19	4.69	3.95	
$\bar{X}$	0.64	0.71	0.68	0.79	0.83	0.73	0.79	
352	0.09	0.17	0.19	0.20	0.67	0.67	0.61	IV
376	0.14	0.19	0.19	0.24	0.67	0.58	0.56	
377	0.30	0.30	0.21	0.32	0.74	0.65	0.76	
TOTAL	0.53	0.66	0.59	0.76	2.08	1.90	1.93	
$\bar{X}$	0.17	0.22	0.19	0.25	0.69	0.63	0.64	

Valores normales: entre 0 y 1.5 ug/ml.

No se hallan diferencias significativas entre las determinaciones iniciales y finales de cada uno de los grupos; la mayoría de los animales eleva sus niveles de Cu sérico durante el transcurso del ensayo.

Hay una elevación de las concentraciones séricas de Cu en los tres grupos entre el cuarto y quinto muestreo. Posteriormente se detecta una caída de esos niveles, más evidente en el grupo control, con parcial recuperación posterior.

El grado IV, que inicia el ensayo con valores bajos de Cu, termina el mismo con concentraciones consideradas normales.

En la figura 17 se grafica lo tabulado precedentemente.

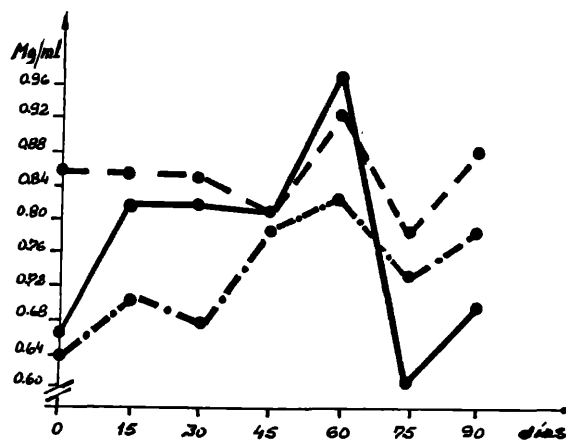


Fig 17: Cu SÉRICO (mg/mL)

GRUPO I: ———  
GRUPO II: - - - -  
GRUPO III: - · - ·

Las diferencias entre grupos son "no significativas" ( $P/_{0.01}$ ); los niveles séricos de Cu son



normales en los tres grupos considerados, a lo largo del ensayo.

Determinaciones en hígado:

Cu hepático:

La tabla N°11 muestra los resultados obtenidos de las biopsias hepáticas. Los dos animales del grupo IV son biopsiados el día 45; antes de iniciar el ensayo, se determina, en el lote del que proceden estos animales, valores promedio que oscilan en 5 - 10 ppm.

Tabla 11: Cu hepático.

Nro. Muestreo	1°	45°	90°	Obs. GRUPO
1	23	116	71.9	I
5	25	52	58.9	
TOTAL	48	168	130.8	
$\bar{X}$	24	84	65.4	
463	21	105	122.5	II
475	19	37	72.4	
TOTAL	40	142	194.9	
$\bar{X}$	20	71	97.4	
244	67	108	97.3	III
499	28	73	76	
TOTAL	95	181	173.2	
$\bar{X}$	47.5	90.5	86.6	
352	--	45.2	--	IV
377	--	31.4	--	
TOTAL	--	76.6	--	
$\bar{X}$	--	38.3	--	

Hay un incremento de la concentración hepática de Cu en los tres grupos estudiados; es más manifiesta entre el primer y segundo muestreo, que entre el segundo y tercero.

La figura 18 grafica los valores obtenidos en los grupos I, II y III del ensayo.

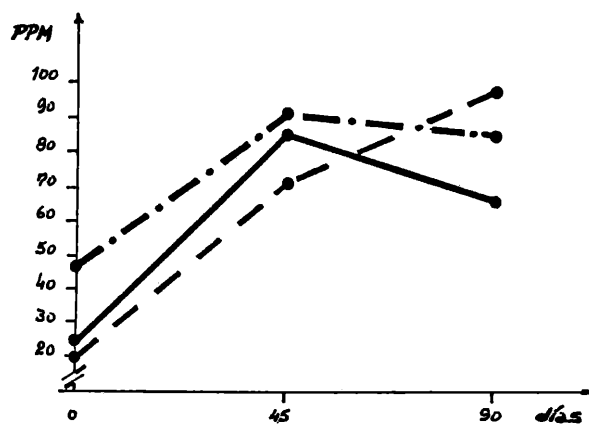


Fig 18: Cu HEPÁTICO (PPM)

Grupo I: —  
Grupo II: ---  
Grupo III: -.-

Las diferencias entre grupos son "no significativas" ( $P < 0.01$ ).

#### 4) Discusión:

Pre-ensayo: La fluidez de heces observada durante la primer semana de tratamiento puede haber sido causada por la ingestión de agua con elevadas concentraciones de sales totales, (700 mg/litro de agua.

Ello produciría una irritación del tracto gástrico intestinal, con el resultado enunciado.

Posteriormente no se observaron cuadros similares, sugiriéndose una adaptación del organismo animal.

Los resultados permiten concluir que la elevada concentración de sales totales utilizada en el agua de bebida no causará interferencia con los tratamientos suministrados en el ensayo.

#### Ensayo:

##### A) Signos clínicos observados:

Despigmentación: Este signo se puede observar en animales Cu deficientes; frecuentemente es la primera manifestación detectada a la observación clínica en estados deficitarios (Underwood, 1968). La acromotriquia, caracterizada por una coloración gris blanquecina, se inicia en la raíz del pelo.

Las modificaciones observadas en la cubierta pilosa no se consideran efecto de tratamiento, sino consecuencia del déficit de algunos elementos en la dieta, por la calidad del alimento, y además, porque los niveles de Cu sérico y hepático no indican que los animales sufrieron un estado deficitario.

Fluidez de heces: Para Huising y col (1973) la formación de complejos SCu a nivel ruminal e intesti-

nal no es un factor desencadenante de diarreas, ya que no obtienen efecto de tratamiento con dosis de 0.3% de  $\text{SO}_4^-$  en la dieta ingerida.

En este ensayo no se observa efecto de tratamiento sobre la consistencia y número de deposición de las heces; el grupo III muestra, en los primeros días de tratamiento heces fluidas, producto de una irritación del tracto digestivo por la elevada concentración de sales totales.

Evolución de las pesadas: Weeth y Hunter (1971); Weeth y Capps (1972) indican que la ingestión de aguas con una concentración de 2.500 mg/litro no afectan el consumo de alimento, de agua, ni el crecimiento de los animales tratados.

Los animales de este experimento mantienen su peso; aparentemente, el alimento no alcanzó a cubrir sus necesidades metabólicas; esto se ha reflejado en la pigmentación de su cubierta pilosa.

La pérdida de peso del animal N°475, posterior a la segunda biopsia hepática realizada, pudo ser causada por la lesión producida en ese momento.

Teniendo en cuenta esa observación, al analizar las diferencias de peso entre grupos, no se evidencia efecto de tratamiento.

#### B) Determinación de Hemoglobina %, Volumen Globular y C.C.M.

Huising y col (1973) detectan cuadros de anemia luego de 40 semanas de tratamiento con dietas con elevada concentración de  $\text{SO}_4^-$ .

Weeth y col (1971), Digesti y col (1976) demuestran que aguas con 2.500 mg de  $\text{SO}_4^{=}$ /litro de agua no alteran los parámetros en los animales que las ingieren.

Los resultados de Hb%, V.G. y C.C.M. obtenidos concuerdan con los precedentes. No se observa efecto de tratamiento sobre los parámetros citados.

#### Determinaciones de Cu en sangre total y en suero:

La formación de complejos SCu a nivel sanguíneo fue hipotetizado por Miels (1960), Halverson y col (1960), Huising y col (1973).

Digesti y col (1976) concluye que la dosificación de hasta 2.500 mg de  $\text{SO}_4^{=}$ /litro de agua no altera los niveles de Cu sanguíneos.

Los valores de Cu determinados no son indicativos de un efecto inhibitorio del tratamiento y muestran una tendencia que refleja en todos los grupos el aumento de las reservas tisulares de este mineral.

Para Bird (1970) la significancia de ese mecanismo de secuestro de Cu depende del período de adaptación de los animales a la ingestión de dietas con elevadas concentraciones de  $\text{SO}_4^{=}$ .

#### Determinación del Cu hepático:

Los resultados hallados permiten sugerir que el aumento de la reserva hepática de Cu se realizó a expensas del Cu ingerido. Esto es reafirmado por las concentraciones cúpricas determinadas en el lote utilizado en el pre-ensayo, que incrementan su depósito hepático de 5-7 ppm al inicio del ensayo, a 38 ppm a los 45 días del ensayo, manteniéndolo posteriormente.

La importancia de la formación de complejos SCu a nivel sanguíneo parece ser, para este experimento, mínima, ya que pese a formarse esos complejos, permitieron que los animales hicieran una reserva hepática suficiente para mantener normales los niveles de Cu sérico.

Tal vez la concentración de  $SO_4^{=}$  en el agua de bebida, el tiempo de exposición al tratamiento y/o la presencia de algún factor, o factores no identificados que interaccionen con ese ión, pueden adquirir importancia para explicar los estados de hipocuprosis condicionadas, en los que no se han determinado elevados niveles de Mo ingeridos.

Conclusiones: No se observa efecto de tratamiento en animales que ingieren agua con concentraciones de 2.000 mg de  $SO_4^{=}$ /litro de agua, durante períodos de hasta 90 días.

Adicionalmente, se observa que concentraciones de 7.000 mg de Sales totales/litro de agua no provocan fenómenos de diarrea con interferencia en la asimilación de nutrientes.

B) EFECTO DEL TRATAMIENTO CON  $\text{Mo}^=$  Y  $\text{SO}_4^=$  SOBRE LOS NIVELES DE Cu SERICO, DE Cu HEPATICO Y SOBRE LA GANANCIA DE PESO EN BOVINOS.

1) Introducción

El Mo, ingerido a dosis elevadas en la dieta, produce en los animales un síndrome conocido como Hipocuprosis Condicionada o Secundaria caracterizado por diarreas y los signos y síntomas clínicos de deficiencia de Cu: acromotriquia, a veces anemia, retardo de crecimiento, alteraciones en la fertilidad y bajos niveles sanguíneos y hepáticos de Cu.

Este cuadro se observa en varias regiones de nuestro país, en las que crecen pasturas que acumulan altos niveles de Mo; los animales afectados muestran un pobre desarrollo corporal y una baja ganancia de peso, pelo hirsuto, diarreas y mal aspecto a la observación, produciendo importantes pérdidas en la producción animal.

Morrison (1965) y Underwood (1968) citan la importancia de la interacción de  $\text{SO}_4^=$  con ese mineral para producir hipocuprosis. Huising, Gómez y Matrone (1973) mencionan la acción de  $\text{SO}_4$  y del Mo sobre la inducción de la deficiencia.

Debido a la importancia que adquiere esta enfermedad nutricional de rodeo, se trata de producir hipocuprosis con Mo y  $\text{SO}_4^=$ , estudiar el efecto de la dosificación de Mo y  $\text{SO}_4^=$  sobre los niveles séricos y hepáticos de Cu y su relación con la evolución de peso de los animales tratados.

Además, se realizan observaciones periódicas para detectar alteraciones clínicas como diarreas, acro-

motricidad, bajas ganancias de peso y la determinación de otros parámetros bioquímicos como Hb% y VG, que pueden ser indicativos de la presencia de un estado deficitario.

## 2) Materiales y Métodos

Para el análisis estadístico del ensayo, se lo considera como un diseño en bloque de un experimento factorial (Ostle, 1968).

Se realiza con 14 bovinos A.A. y 2 cruza AA x Hereford de 18 meses de edad, hembras, clínicamente sanos. Son divididos en 4 bloques considerando peso y concentración sérica de Cu.

Se forman 4 grupos de 4 animales cada uno, identificados con caravanas. Son alojados en 4 corrales, con comederos y bebederos adecuados.

El alimento a suministrar es fardo de agropiro de baja calidad, con concentraciones de Cu, Mo y  $SO_4$  de 5-7 ppm, 2-3 ppm y 0.4% de la materia seca respectivamente, considerados normales. Como suplemento, 2,500 kg de maíz quebrado y 0.250 kgr de expeller de girasol/animal/día.

Las concentraciones de Cu y Mo ingeridas son aproximadamente 150 ppm y 30 ppm/animal/día.

El agua de bebida, dada ad libitum, es de dos tipos:

- a)  $SO_4^{=}$ : 100-150 mg/lt de agua; ST: 600-700 mg/lt de agua.
- b)  $SO_4$  2000 mg/lt de agua; ST: 600-700 mg/lt de agua.



La concentración de  $\text{SO}_4^{=}$  se logra con  $\text{SO}_4\text{Na}_2$ , preparado diariamente, eliminando el residual.

El plan sanitario a seguir es el empleado rutinariamente para controlar enfermedades infecciosas y parasitarias.

El ensayo dura 90 días. Los cuatro grupos reciben el siguiente tratamiento:

- Grupo I (control): agua de tipo a)
- Grupo II : agua de tipo b)
- Grupo III : agua de tipo b) + Mo
- Grupo IV : agua de tipo a) + Mo

El Mo es dosificado oralmente, tres veces por semana, como heptamolibdato de amonio.

Durante el primer mes se administra el equivalente a 500 mg de Mo/animal/día; el segundo mes el equivalente a 1000 mg/animal/día; el tercer mes el equivalente a 2000 mg/animal/día.

TABLA 12 TRATAMIENTOS

GRUPO	Mg. $\text{SO}_4^{=}$ / L. de $\text{H}_2\text{O}$	mg.Mo		
		1°	2°	3°
I	100-150	0	0	0
II	2000	0	0	0
III	2000	500	1000	2000
IV	100-150	500	1000	2000

Al inicio del ensayo y luego semanalmente, se pesan los animales y se les extrae sangre; los días 1<sup>o</sup>, 45<sup>o</sup> y 90<sup>o</sup> se biopsian dos de cada grupo elegidos al azar.

Se hacen observaciones diarias, registrándose las posibles alteraciones en heces y en la pigmentación de la cubierta pilosa.

Las determinaciones bioquímicas comprenden:

En sangre: Hb%, expresada en gr/100 ml de sangre.

VG, determinado como porcentaje eritrocitario.

En suero: Cu sérico, como actividad de ceruloplasmina oxidasa.

En hígado: Cu hepático, en ppm de la materia seca.

En pastos: Cu, en ppm de la materia seca.

Mo, en ppm de la materia seca.

SO<sub>4</sub><sup>=</sup> como porcentaje de la materia seca.

En agua: SO<sub>4</sub><sup>=</sup> inorgánico, en mg/lt de agua.

Sales totales, en mg/lt de agua.

Las técnicas para analizar los parámetros mencionados, son las mismas que se utilizaron en el ensayo anterior.

En caso de producirse muerte de alguno de los bovinos tratados, será sometido a un examen post mortem completo, macro y microscópico, con la colaboración del laboratorio de Histología de la EERA Balcarce y documentado fotográficamente.

Al término del ensayo se obtienen fotografías en color de los distintos grupos tratados.

### 3) Resultados

#### Alteraciones clínicas

Presencia de diarreas: no se observan en los animales tratados a lo largo del ensayo.

Despigmentación y estado general: todos los animales, al iniciar el ensayo presentan una leve despigmentación.

Al término del mismo, en los grupos I y II, que no reciben Molibdeno, se observa una cobertura normal, con pelos cortos, y una pigmentación similar a la observada al inicio del ensayo. Su estado general es bueno (fotografía 13 y 14).

Los grupos III y IV, tratados con Mo, muestran, al finalizar el experimento, un grado de despigmentación mayor, con pelos largos, hirsutos, y un estado general regular-malo (Fotografías 15 y 16).



Fotografía 13: (Grupo I): Presenta un buen estado general, y una cobertura pilosa normal.



Fotografía 14: (Grupo II): Se visualiza un buen estado general; la capa pilosa no ha sufrido alteraciones.



Fotografía 15: (Grupo III): Los animales tienen un pobre estado general, con alteraciones en la pigmentación y en la estructura de los pelos.



Fotografía 16 (Grupo IV): Aspecto de la cubierta pilosa y del estado general de los animales de este grupo.

Evolución de las pesadas: En la tabla N°1 se registra la evolución de las pesadas durante los noventa días de duración del trabajo experimental.

Tabla nº 13: Registro de evolución de las pesadas

Muestreo	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	Grupo OPS.
352	299	309	318	322	319	317	318	317	312	315	316	321	321	319	I
376	262	268	272	265	267	265	265	266	265	269	269	277	276	276	
7062	251	270	280	289	291	290	286	287	299	284	282	292	288	285	
7184	271	279	284	286	287	285	282	284	281	282	282	295	294	295	
$\bar{X}$	271	281	288	290	291	289	288	288	287	287	287	296	295	294	
10	262	265	266	275	275	265	262	264	268	281	281	286	287	291	II
147	266	269	272	278	277	298	286	289	284	284	296	289	291	289	
401	262	278	284	265	267	280	283	283	276	265	272	275	281	280	
470	285	285	271	282	285	290	291	290	281	289	280	293	290	289	
$\bar{X}$	269	274	273	275	276	283	280	281	277	279	282	286	287	287	
430	273	277	276	277	290	279	276	277	268	259	259	256	243	246	III
463	278	286	293	291	284	288	286	285	279	281	284	272	266	259	
499	261	280	288	281	282	279	276	276	268	260	259	261	254	249	
515	258	270	282	286	286	276	275	274	270	266	260	259	255	255	
$\bar{X}$	267	278	286	284	285	280	278	278	271	266	265	262	254	252	
1	253	260	269	263	267	269	269	267	258	240	246	249	242	239	IV
2	276	279	271	284	280	273	272	270	261	264	263	258	256	249	
3	267	275	280	279	290	277	277	276	262	259	265	261	261	254	
4	272	270	276	275	271	270	270	271	261	263	259	259	259	254	
$\bar{X}$	267	271	274	275	277	279	279	271	260	256	259	256	254	249	



En la figura siguiente se grafican los promedios de los valores hallados para los cuatro grupos.

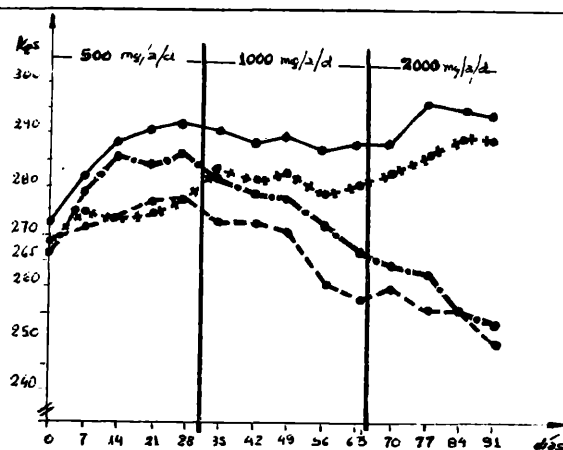


Fig 19. EVOLUCION DE LA GANANCIA DE PESO

GRUPO I. ———  
 GRUPO II. + + + +  
 GRUPO III. o o o o  
 GRUPO IV. - - - -

Los animales de los grupos I y II van aumentando progresivamente de peso. Los animales de los grupos III y IV comienzan a perder peso a partir de la 4°- 5° pesada, coincidiendo con el aumento de la dosis de Molibdeno suministrada.

Las diferencias se hacen significativas ( $P/0.05$ ) a partir de la 5° semana entre los grupos I y II y el IV; a partir del 8° muestreo, las diferencias entre controles I y II y los que reciben  $Mo^=$ , III y IV son muy significativas ( $P/0.01$ ). Si bien al comienzo del ensayo los grupos III y IV tienen un peso promedio similar, al finalizar el mismo, el grupo IV ha perdido más peso que el III.

Determinaciones en sangre: Hemoglobina % (en g/100 ml de sangre)

Tabla N° 14: Valores de Hb%

N° Muestreo	Grupos														GRUPO OPS.
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	
I	352	11.8	11.3	12.6	11.8	12.0	12.6	12.8	13.6	12.0	12.1	12.5	12.6	12.1	12.3
	376	12.0	11.3	13.7	13.7	11.0	12.1	12.0	12.0	13.1	13.8	13.6	13.8	13.0	13.2
	7062	12.3	10.9	12.6	13.3	13.9	13.7	13.6	13.8	13.8	13.2	13.5	13.3	13.3	13.4
	7184	13.7	10.9	12.0	13.1	13.8	13.8	13.8	13.7	13.9	14.0	14.0	13.0	13.5	13.7
$\bar{X}$	12.4	11.1	12.7	12.8	12.9	13.0	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2	13.4	13.4	12.0	13.1
II	10	14.0	13.5	13.7	14.5	14.2	14.2	14.1	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.2	14.1
	147	12.3	14.0	14.0	13.9	13.2	13.0	13.0	13.0	12.7	12.1	12.3	12.5	12.7	12.6
	401	13.3	12.4	12.6	14.0	13.6	13.7	13.7	13.9	13.9	13.4	13.5	13.6	14.1	13.9
	470	13.7	14.0	13.3	14.0	13.8	13.8	13.7	13.6	14.2	14.2	14.0	14.0	14.1	14.0
$\bar{X}$	13.3	13.4	13.4	14.0	13.7	13.6	13.6	13.6	13.7	13.4	13.4	13.4	13.5	13.8	13.6
III	430	11.7	10.9	12.0	11.3	13.0	12.8	12.9	13.0	13.2	12.3	12.4	12.5	12.0	13.1
	463	13.4	13.4	13.0	13.0	13.8	13.0	13.0	12.6	13.6	12.7	12.8	12.0	12.6	12.8
	499	13.0	12.3	12.0	12.6	13.9	13.6	13.7	13.9	14.0	11.4	11.7	11.8	12.1	12.2
	515	13.1	13.5	13.7	13.8	11.7	13.8	13.7	13.6	13.4	14.0	13.0	13.8	14.0	13.0
$\bar{X}$	12.8	12.5	12.6	12.6	12.9	13.3	13.3	13.2	13.5	12.6	12.7	12.7	12.9	13.0	13.0
IV	1	13.3	14.0	13.0	13.4	14.0	13.9	14.0	14.0	13.3	14.0	13.0	13.8	13.5	13.7
	2	12.8	12.4	12.3	12.8	13.4	13.5	13.5	13.5	12.5	12.7	12.0	13.0	12.8	12.0
	3	14.0	10.9	13.0	12.0	12.2	12.3	12.6	12.4	13.5	12.9	13.0	12.0	12.5	12.8
	4	12.0	12.3	12.2	13.4	12.9	12.9	12.6	12.5	12.1	12.7	12.0	12.8	12.3	12.1
$\bar{X}$	13.0	12.4	12.6	12.9	13.1	13.3	13.1	12.8	13.0	13.1	13.1	13.1	12.7	12.9	12.9

La figura grafica los niveles de Hb% de los cuatro grupos.

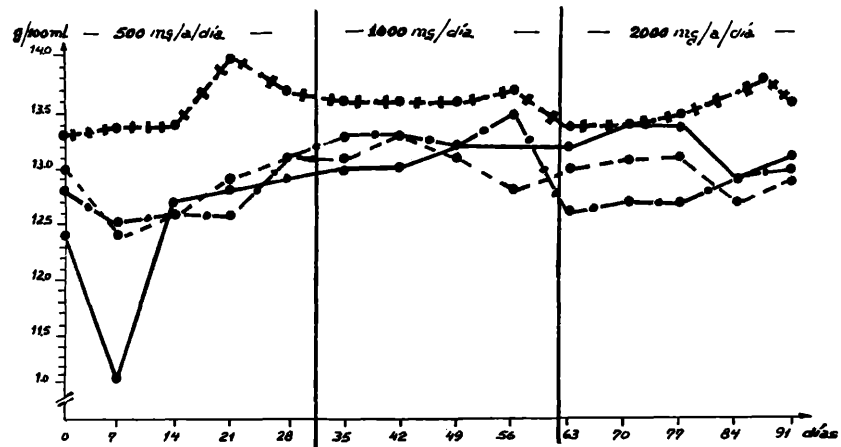


Fig 20: MEMOGLOBINA % (g/100 ml)

GRUPO I: ———  
 GRUPO II: + + + +  
 GRUPO III: ·····  
 GRUPO IV: - - - -

El análisis estadístico realizado en los muestreos 1°, 5°, 10°, y 14°, fechas en que se aumenta el tratamiento de Mo, indica que las diferencias son "no significativas" (P/ 0.01).

Volumen Globular, expresado como porcentaje de la sangre:

Tabla N° 15: Volumen Globular (porcentaje eritrocitario)

Muestreo N°	Grupos													
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°
	I													
352	36	38	35	33	35	40	37	41	36	35	36	36	36	37
376	36	32	36	36	33	34	37	33	37	30	38	30	35	36
7062	35	35	37	37	40	38	38	40	38	36	35	37	37	36
7184	36	32	35	38	37	40	38	38	38	37	36	37	37	38
$\bar{X}$	36	34	36	36	36	38	37	38	37	37	36	37	36	37
10	44	44	42	41	42	41	30	42	42	43	42	41	43	42
147	36	39	40	38	36	40	38	40	36	35	34	35	37	36
401	35	44	39	38	38	41	39	39	30	34	35	36	38	37
470	36	34	40	38	36	42	40	41	42	41	42	41	39	40
$\bar{X}$	38	40	40	39	38	41	39	40	40	38	38	38	39	39
	II													
430	33	42	39	34	37	37	36	36	37	36	37	36	36	37
463	40	38	38	36	40	36	39	37	37	35	36	37	39	40
499	36	37	40	35	36	40	40	40	38	34	35	35	41	39
515	38	31	38	37	39	38	39	38	41	38	37	39	44	42
$\bar{X}$	37	37	39	36	38	38	38	38	38	36	36	36	40	39
	III													
1	35	39	37	37	40	39	41	39	44	49	40	39	41	40
2	35	33	40	38	38	39	37	39	38	34	35	35	38	39
3	39	35	38	36	34	36	39	37	38	35	36	37	35	36
4	34	34	37	36	36	36	36	35	37	35	36	37	35	36
$\bar{X}$	36	35	38	39	37	35	39	37	37	36	37	37	37	37
	IV													

La figura grafica los promedios del V.G. de los cuatro grupos.

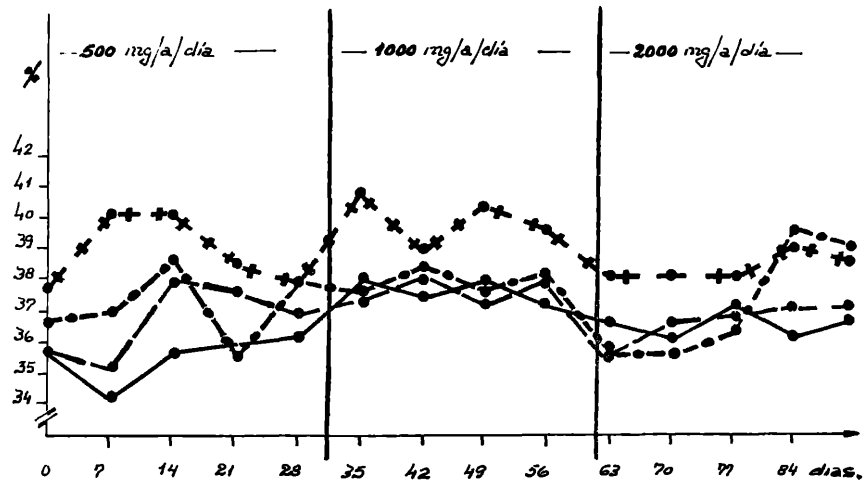


Fig 21: VOLUMEN GLOBULAR

GRUPO I : ———  
 GRUPO II : + + + +  
 GRUPO III : - - - -  
 GRUPO IV : - . - .

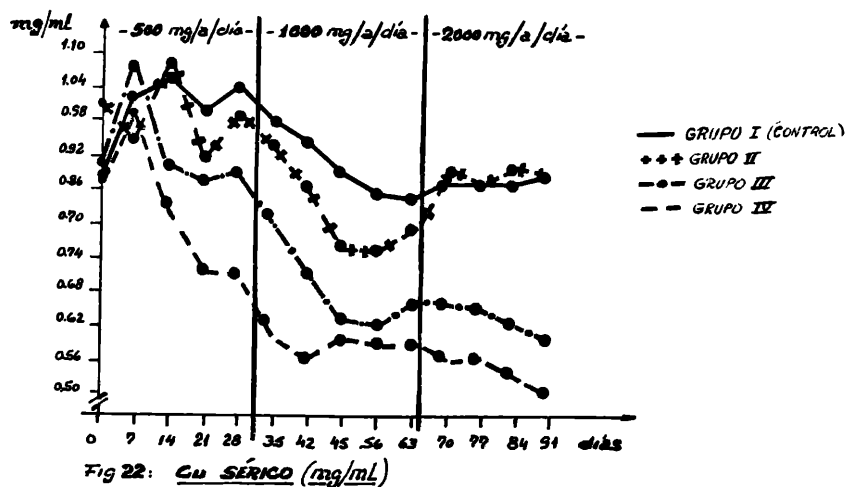
El análisis realizado en los muestreos 1°, 5°, 10° y 14° arroja diferencias "no significativas" ( $P/ 0.01$ ); la curva tiene una tendencia estabilizada a lo largo del ensayo.

Cobre Sérico, medido como actividad de Ceruloplasmina oxidasa

Tabla N°16:Cu sérico (ug/ml)

N° Muestreo	GRUPO Obs.													
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°
352	1.00	1.28	1.30	1.25	1.20	1.02	0.90	0.80	0.78	0.79	0.82	0.83	0.80	0.81
376	1.07	1.20	1.08	1.06	1.14	1.00	0.87	0.82	0.82	0.88	0.85	0.84	0.87	0.86
7062	0.70	0.74	0.85	0.75	0.76	0.85	0.98	0.96	0.89	0.86	0.90	0.87	0.85	0.89
7184	0.78	0.90	1.05	0.96	0.96	0.98	1.06	0.98	0.93	0.89	0.95	0.96	0.98	0.96
$\bar{X}$	0.88	1.03	1.06	1.00	1.04	0.98	0.95	0.89	0.85	0.85	0.87	0.87	0.87	0.88
10	0.73	0.73	0.65	0.51	0.64	0.60	0.64	0.60	0.61	0.92	0.98	0.96	0.97	0.98
147	1.14	0.75	1.28	1.05	1.12	1.10	1.08	0.54	0.56	0.47	0.58	0.60	0.58	0.50
401	1.02	1.20	1.28	1.26	1.30	1.22	1.20	1.10	1.12	1.08	1.10	1.04	1.06	1.08
470	0.99	1.19	1.16	0.86	0.93	0.80	0.62	0.80	0.72	0.72	0.86	0.87	0.92	0.88
$\bar{X}$	1.01	0.96	1.09	0.92	0.99	0.93	0.86	0.76	0.75	0.79	0.88	0.87	0.89	0.88
430	0.70	0.93	0.78	0.65	0.76	0.65	0.60	0.42	0.46	0.56	0.56	0.56	0.55	0.54
463	0.81	1.09	0.63	0.80	0.74	0.68	0.61	0.52	0.54	0.55	0.55	0.52	0.50	0.49
499	0.94	1.03	0.93	0.74	0.89	0.85	0.50	0.72	0.56	1.55	1.55	0.52	1.52	0.49
515	1.22	1.28	1.30	1.35	1.18	1.07	0.90	0.93	0.99	1.02	1.01	0.99	1.02	0.96
$\bar{X}$	0.91	1.08	0.91	0.88	0.89	0.81	0.72	0.64	0.63	0.67	0.66	0.65	0.62	0.60
1	1.25	0.99	0.84	0.99	1.00	0.85	0.70	0.55	0.60	0.62	0.60	0.56	0.56	0.56
2	0.53	0.73	0.52	0.57	0.45	0.43	0.43	0.45	0.43	0.42	0.44	0.45	0.41	0.40
3	0.85	1.17	0.97	0.60	0.60	0.58	0.60	0.70	0.67	0.56	0.56	0.67	0.57	0.58
4	1.02	1.19	0.97	0.80	0.82	0.60	0.45	0.70	0.68	0.68	0.67	0.64	0.50	0.56
$\bar{X}$	0.91	1.02	0.82	0.72	0.71	0.61	0.54	0.60	0.50	0.50	0.50	0.56	0.53	0.50

En la figura se grafican los valores promedio de los cuatro grupos, obtenidos de la tabla precedente.



Del análisis estadístico realizado en los muestreos 1°, 5°, 10° y 14° se deduce que las diferencias entre grupos, a medida que transcurre el ensayo, van adquiriendo significancia, siendo "muy significativas" al finalizar el mismo ( $P/0.01$ ).

Los niveles séricos de Cu de los grupos I y II tienden a estabilizarse; los de los grupos III y IV, a descender progresivamente. Las concentraciones en el grupo IV son siempre inferiores a las del grupo III.

Los grupos tratados con Mo muestran al principio un descenso abrupto en los niveles de Cu, y luego una estabilización, graficada en meseta, lo que se repite al ir aumentando la dosis a 1.000 y 2.000 mg/a/día.

Determinación de Cu Hepático: expresado en partes por millón de la materia seca.

Tabla N° 17: Cu Hepático (ppm)

Muestreo N°	1°	2°	3°	GRUPO Obs.
352	117.0	77.05	85.01	I
376	137.6	69.89	83.59	
$\bar{X}$	127.3	73.47	84.30	
10	93.3	82.38	62.83	II
401	125.0	97.02	179.10	
$\bar{X}$	109.5	89.70	120.99	
463	94.8	15.01	27.0	III
515	159.0	33.03	30.80	
$\bar{X}$	126.9	24.04	28.90	
1	101.7	43.83	35.79	IV
2	129.3	13.59	55.35	
$\bar{X}$	115.5	32.71	45.57	



La figura muestra una curva realizada con los valores promedio de los cuatro grupos, obtenidos de la tabla precedente.

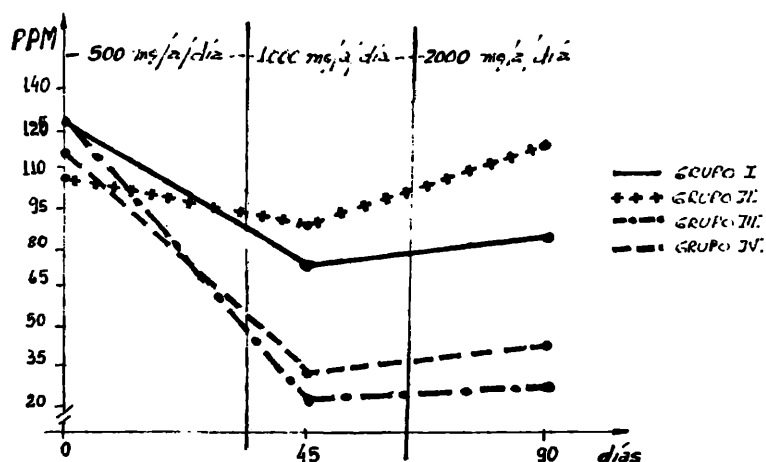


Fig 23: Cu Hepático (PPM)

Las diferencias entre los grupos I, II, III y IV que en el primer muestreo son mínimas, se van acentuando; en el tercero se consideran "significativas". La reserva hepática de Cu se mantiene en los animales biopsiados de los grupos I y II, disminuyendo considerablemente en el III y IV.

#### 4) Discusión

Dick (1953), Marcillese (1969), Lesperance (1974), Suttle (1975), Huising y Matrone (1976), Todd (1976) describen el síndrome observado en animales molidénótico-hipocuprosos, que comprende episodios de diarreas, acromotriquia, anorexia, pérdida de peso, a

veces anemia y bajos niveles de Cu sérico y hepático.

Para evaluar los resultados obtenidos y las alteraciones observadas, la discusión se hará en el orden precedentemente citado.

#### Signos clínicos observados:

Diarreas: Lesperance (1974), Underwood (1976), Jubb y Kennedy (1973), Ward (1978) han citado la observación de severas diarreas en ganado que consume forrajes con concentraciones elevadas de Mo, entre el 1° y 3° día de iniciada la ingestión.

Los animales tratados no manifiestan este signo.

El consumo de fardo, alimento con escaso porcentaje de humedad podría enmascarar la consistencia de la materia fecal. El aumento gradual en la concentración de Mo dosificada puede haber permitido la adaptación del animal a la dosis, pero el no haber logrado alcanzar niveles tóxicos de Mo es una explicación más lógica a la ausencia del signo. Underwood (1968) expresa que la relación Cu:Mo ingerida es más importante que la concentración total de Mo en la dieta.

Despigmentación: Varios factores nutricionales son causantes de acromotriquia en el ganado. La ingestión de alimento que no cubre los requerimientos del animal, especialmente los protéicos; el consumo de alimento en cantidad inferior a la requerida, o deficiencia de Cu, primaria o condicionada, clínica y/o bioquímicamente diagnosticada (Jubb y Kennedy, 1973) pueden causar esta sintomatología.

El alimento suministrado a los animales del ensayo cubre sus requerimientos.

Las alteraciones en la pigmentación y las características de la cubierta pilosa observadas en los grupos III y IV se consideran efecto de tratamiento.

Underwood (1968) describe esos signos en animales que ingieren controles elevados de Molibdeno.

Evolución de la ganancia de peso: Los animales que padecen deficiencia de Cu condicionada a Mo, muestran una pérdida de estado, observándose desmejorados.

Los episodios diarréicos (Blood y Hendersson, 1976; Feel y col, 1975), la posibilidad de sufrir anorexia (Siegel y Monti, 1961; Rish, 1970) o la reducción de la utilización de la energía metabolizable (Lesperance, 1974; Suttle, 1975) pueden dar como resultado esa pérdida de condición.

Los grupos III y IV sufren pérdidas de peso que se hacen más evidentes al incrementar la dosis de Mo administrada; aunque la dieta cubre los requerimientos y no se observan diarreas, se considera que los animales de estos grupos pueden haber padecido, debido al tratamiento recibido, cuadros anorexígenos y/o una reducción de la utilización de la energía metabolizable, que serán causantes de los resultados obtenidos.

El diseño del experimento no permite confirmar lo que antecede, ya que no se midió consumo de alimento ni se hicieron estudios energéticos y de balance nitrogenado necesarios para ello.

El grupo III recibe  $SO_4^{=}$  y Mo. Los animales de este grupo muestran en promedio, una menor pérdida de peso.

Los  $\text{SO}_4^{=}$  ingeridos pueden prevenir la acción de Mo. Tridot y Bernard (1962) demuestran la formación del complejo  $\text{SMoO}_4$ . Gómez y col (1973) describen el mecanismo por el cual el ión  $\text{SO}_4$  aumentaría la excreción de Mo.

#### Parámetros sanguíneos

Hemoglobina %: Este parámetro puede utilizarse, junto con otros, como indicativo de cuadros de anemia, a veces observado en estados hipocuprosos.

Los niveles de Hb% se mantienen dentro de valores normales en los cuatro grupos, no observándose efecto de tratamiento.

Volúmen Globular: Es otro parámetro que puede afectarse, junto con Hb% en estados deficitarios de Cu.

Los resultados indican que no se ha logrado afectar el porcentaje eritrocitario.

Considerando estos dos parámetros sanguíneos, se deduce que el estado anémico, que suele detectarse en estados deficitarios de Cu, no se ha inducido.

La causa determinante de ello, puede ser el tiempo de exposición al tratamiento. Bingley (1974), empleó 29 meses para producir un estado de anemia en ovinos tratándolos con  $\text{SO}_4$  y Mo. Gómez y col. (según Huisling y col 1973) tardó 29 semanas para obtener disminución de los niveles de Cu y Hb. Este estado parece ser observado, cuando se presenta, en hipocuprosis crónicas.

#### Cu sérico, como actividad de ceruloplasmina oxidasa:

Fergusson y col (1938), Dick (1956), Dowdy y col. (1968), Tood (1976) citan que la ingestión de elevadas concentraciones de Mo pueden producir hipocupremia.

El mecanismo descrito es la formación de un complejo  $\text{MoO}_4\text{Cu}$ , que secuestra el Cu a nivel ruminal, impidiendo su absorción.

Dick (1954), Tridot y Bernard (1962), Suttle (1974) mencionan la formación de un complejo  $\text{SMoO}_4\text{Cu}$  a nivel ruminal, con las mismas consecuencias.

Marcillese y col. (1969), Huising y col. (1973), Suttle (1974) y Ward (1978) sugieren que el complejo  $\text{MoO}_4\text{Cu}$  puede formarse a nivel sanguíneo. En ambos casos, la deficiencia se produciría por agotamiento de la reserva hepática.

Marcillese y col. (1969), Huising y Matrone (1976) expresan que, si bien los mecanismos descritos contribuyen en la manifestación de estados de deficiencia, no son los más importantes. La principal acción inhibidora del Mo se realiza a nivel hepático reduciendo la síntesis de ceruloplasmina oxidasa.

Debido a que la proteína transportadora tiene una tasa de recambio mayor en vacunos que en otros animales, explicaría la mayor susceptibilidad de los primeros en manifestar síntomas de la acción del Mo.

En los grupos III y IV se observa un efecto de tratamiento.

El grupo III, que recibió  $\text{SO}_4$  y Mo, presentan niveles más elevados de Cu que el grupo IV, que recibió Mo solamente.

Dick (1956), Huising y col. (1973) sugieren que el nivel de  $\text{SO}_4^{=}$  ingerido disminuye el transporte de Mo a través de la pared intestinal, por la formación del complejo  $\text{SO}_4\text{Mo}$ , dando una menor concentración de Mo en sangre.

Reserva hepática de Cu; El secuestro de Cu a nivel ruminal y sanguíneo da como resultado disminución del Cu unido a la metalotioneína hepática (Evans, 1973).

En los animales biopsiados de los grupos III y IV se observa una disminución de la reserva hepática de Cu, que se acentúa a medida que transcurre el ensayo.

A nivel hepático, el  $SO_4$  actuaría evitando el depósito de Cu por competencia. De esta manera, se sumarían a los efectos inhibitorios de  $SO_4^{=}$  y Mo a nivel digestivo y sanguíneo y de Mo sobre la síntesis de ceruloplasmina, esta acción del  $SO_4^{=}$ . Esto se ve reflejado en el grupo III.

Sin embargo, los animales del grupo II, que reciben una elevada concentración de  $SO_4^{=}$  en la dieta, muestran valores más altos de Cu hepático que el grupo I. Ese mecanismo, no tendría la importancia suficiente como para evitar el depósito hepático de Cobre. Los resultados obtenidos en un ensayo anterior (Quiroga y col, 1980), corroboran ese concepto.

La menor reserva hepática de Cu llevaría a una menor actividad de enzimas Cu dependientes. Debido a ello, el hígado vería disminuida su funcionalidad, lo que repercutiría en los procesos de síntesis que se llevan a cabo en ese órgano.

De esa manera, el estado hipocuproso influiría sobre la evolución del peso del animal, al disminuir las sustancias que se depositan, así como la síntesis de enzimas Cu dependientes. —

## 5) Conclusiones:

La dosificación de Mo y la ingestión de agua con elevadas concentraciones de  $\text{SO}_4^{=}$  afectaron los niveles de Cu circulante, unido a ceruloplasmina oxidasa, y los depósitos hepáticos de ese oligoelemento.

Ello se tradujo en una alteración de la evolución del peso de los animales tratados, que se hizo más evidente al aumentar la dosis de Mo suministrada.

Los otros parámetros estudiados no fueron afectados, y sugieren la necesidad de trabajar con dosis elevadas de Mo y sulfatos desde el comienzo, para obtener estados deficitarios más severos, y de mantener el tratamiento durante más tiempo, para lograr una cronicidad del estado deficitario, en la que se evidenciarían alteraciones de los mismos.

Esto es lo que sucede en condiciones naturales. Los animales ya sufren la enfermedad desde fetos. Nacen con bajos niveles de Cu sanguíneo y una reserva hepática relativamente pobre y mantienen ese estado de por vida, si no reciben el tratamiento adecuado.

## RESUMEN

Se realizaron dos ensayos en los que se trató de inducir hipocuprosis, estudiar la evolución de los niveles séricos y hepáticos de Cobre, de las pesadas, del Volumen Globular, Hemoglobina % y paralelamente, la detección de episodios de diarreas y de despigmentación en el pelaje de los animales tratados.

Experimento A: se trabajó con tres grupos de 5 animales A Angus. Fueron tratados durante 90 días con tres niveles de  $SO_4$  y de Sales totales en el agua de bebida. Se determinaron diferencias No Significativas entre grupos ( $P < 0.01$ ) en los parámetros bioquímicos estudiados. Se discute la observación de fluidez de heces, la evolución de las pesadas y la pigmentación del pelaje de los animales, concluyéndose que no se obtuvo efecto de tratamiento con el suministro de agua de bebida con teniendo hasta 2.000 mg  $SO_4$ /l, durante 90 días en los animales en estudio.

Experimento B: Se trabajó durante 90 días con 4 grupos de 4 animales AA y AAxH. A los grupos I (Control) y IV se les suministró agua de bebida con 100-150 mg  $SO_4$ /l; a los grupos II (Control) y III, agua con 2.000 mg  $SO_4$ /l; los grupos III y IV recibieron oralmente 500, 1.000 y 2.000 mg Mo/animal/día durante el 1º, 2º y 3º mes de tratamiento.- Los niveles de Cu sérico, hepático, la evolución de las pesadas y la pigmentación del pelaje fueron afectados en los grupos III y IV, y en este con más severidad. No se observó efecto de tratamiento en los otros parámetros estudiados, considerándose que: 1) sería necesario trabajar con dosis de Mo elevadas desde el comienzo, y prolongar el tratamiento para obtener un estado deficitario más severo y crónico, en el que se evidenciarían alteraciones de todos los parámetros considerados.-



## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a las siguientes personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

- Al Ing. Agr. Jorge Carrillo, responsable de la Reserva N°6 del INTA-EERA Balcarce, por haber facilitado los bovinos y el alimento utilizado en el ensayo.

- A los señores Hugo Erquiaga, Daniel Giuliano, Bernardino Borda, Juan Lebeaud, Aquelay Muñoz y Belisario Reynoso, por la colaboración prestada para el manejo de los animales.

- A mis asistentes de laboratorio, señoras Mónica de Espinillo y Nélide de Rigoni, y señoritas María Yarrar y Mirta Sciotti, por la ayuda brindada para la obtención y procesamiento de las muestras.

- Al Departamento de Estadística de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata, por el apoyo otorgado para la interpretación estadística de los datos obtenidos.

- A los Dres. Raúl E. Trucco y Bronia Ruksan por la asistencia técnica suministrada.

- Al Dr. Adolfo P. Casaro, por el permanente asesoramiento técnico y constante apoyo moral ofrecido.

- A Elsa, por el apoyo espiritual y continuo aliento, que permitieron alcanzar los objetivos propuestos.

## BIBLIOGRAFIA

- ALLCROFT, R. y col. (1959). The Vet. Rec. 71: 38; 797-810.
- ANDERSON, A.J. (1956). New Zel. Sci. and Tech. 37 A; 379.
- BARLOW, R.M. (1970). J. Comp. Path. 70; 411-427.
- BEINERT, H.D. y col (1962). J. Biol. Chem. 237; 2337-2346.
- BINGLEY, J.B. (1959). J. Agr. Fd. Chem. 7; 269.
- BINGLEY, J.D. y DICK, A.T. (1967). J. Agr. Fd. Chem. 15; 539.
- BIRD, (1970). Proc. Aust. Soc. Anim. Proc. 8; 212.
- BLOOD, D.C. y HENDERSSON, J.A. (1976). In Medicina Veterinaria, 3<sup>a</sup> Ed. Baillere Tindally Cassell; London.
- BONFILIS, C.G. (1966). INTA, Inst. de Suelos y Agro-tecnia, 97.
- BRADSHAV, R.A. y PETERS, J.R. (1969). J. Biol. Chem. 244; 5582-5589.
- BRESLOW, E. (1964). J. Biol. Chem. 239; 3252-3259.
- BUSH, J.A. y col. (1956). J. Lab. Clin. Med. 47; 898-906.
- CANNAN, R.K. (1958). Clin. Chem. 4; 246.
- CARNES, W.H. (1971). Fed. Proc. 30: 3; 995-999.
- CARRILLO, B.J. y col (1962). Proyecto FAO-INTA, Informe parcial.
- CARRILLO, B.J. y BINGLEY, J.B. (1965). INTA. Prod. Animal. Serie 1, 6.

- CARRILLO, B.J. y col. (1966). Nature 209; 834.
- CHAPPED y PETERSON (1976). In Molibdenum in the environment, by Marcel and Dekker Inc. New York.
- CHEEK, D.B. y col. (1966). Bull. John's Hopkins Hosp. 118; 338-348.
- CHOU, N.S. y col. (1969). J. Biol. Chem. 244; 5785-5789.
- COULSON, W.F. y CARNES, W.H. (1963). Am. J. Pathol. 43; 945-954.
- CRAMPTON, R.F. y col (1965). J. Physiol (London) 178; 111-126.
- CUNNINGHAM, P. (1946). In Copper metabolism, edited by Mc Elroy and B.Glass.
- CURZON, G. y O' Reilly, A. (1960). Biochem. Biophys. Res. Comm. 2; 284-286.
- DAVIES, N.T. (1974). Proc. Nutr. Soc. 33; 293-298.
- DICK, A.T. y col. (1945). Aust. Vet. J. 21; 70.
- DICK, A.T. (1954). J. Agr. Res. 5; 511-544.
- DICK, A.T. (1956). In Organic Nitrogen Metabolism, W.D. Mc Elroy and B. Glass Eds, John Hopkins Press, Baltimore; pp 445.-
- DICK, A.T. y col. (1975). J. of Agr. Sci. 85; 567.
- DIGESTI, R.D. y col. (1976). J. of An. Sci. 42: 6; 1503.
- DUKES, H.H. (1967). En fisiología de los animales domésticos, 3ª Ed, Aguilar SA de Ediciones, Madrid; p 625-627
- EDEN, A. y GREEN, H.H. (1940). Biochem. J. 34; 1202.
- EVANS, G.N. y col. (1970). An. J. Physiol. 218; 298-300.
- EVANS, G.W. (1973). Phys. Rev. 53: 3; 548.
- FARRER, P. y col. (1967) Nature 213; 291-292.

- FEEL, B.F. y col. (1975). Res. in Vet. Sci. 18: 3;  
274-282.
- GAWTHORNE y NADER (1976). The Brit. J. of Nutr. 35;11.
- GITLIN y col (1960). Nature 198; 150-151.
- GOLLAN, J.L. y col. (1971). Am. J.Clin. Nutr. 24;  
1025-1027.
- GREGORIADIS, G. y col. (1970). J. Biol. Chem. 245;  
5833-5837.
- GRIFFITS, D.E. y WARTON, D.C. (1961). J. Biol. Chem.  
236; 1850-1856.
- HALVERSON, (1960). J. of Nutr. 71; 95.
- HAMMOND, J. (1959). In Avances en Fisiología Zootécnica,  
Acribiz ed; Zaragoza
- HILL, C.H. (1964), J. Nutr. 80; 227-235.
- HOLZMAN, N.A. y GAUNMITZ, B.M. (1970). J. Biol. Chem.  
245; 2350-2353.
- HUBER, C.T. y col (1971). J. Biol. Chem. 245; 3973-3975.
- HUISING, J. y col. (1972). Proc. Soc. Expt. Biol. Med.  
139; 518.
- HUISING, J. y col (1973). Fed. Proc. 32: 8; 1921.
- HUISING, J. y MATRONE, G. (1976). In Molibdenun in the  
environment, Vol II by Chappell W and Petersen K, Marcel  
Dekker, New York.
- JOUDL, J.A. y col (1963). J. Clin. Invest. 42; 314-326.
- JUBB, K.V. y KENNEDY, P. (1973). In Patología de los ani-  
males domésticos, Vol I, Academy Press, London, pp 338-345
- KIRCHGESSNER, M. y GRASSMAN, E. (1970). In Trace Element  
Metabolisin in animals, edited by Mills. E and S  
Livingstone, Edimburg-London -
- KOLB, E. (1971). In Fisiología Veterinaria, 1<sup>o</sup> Ed, Ed Acribiz,  
Zaragoza
- KOLTHOFF, I.M. y col (1957). J. Am. Chem. Soc. 79;  
2656-2657.

- KOVAISKY, V.V. (1960). In Trace Element Metabolism in Animals edited by Mills, E and S Livingstone, Edimburg-London.
- LASS TER, J.W. y BELL, M. . (1966). J. Of An. Sci. 19; 54.
- LAU, S. y SARKAR, B. (197 ). J. Biol. Chem. 246; 5938-5943.
- LEIGH, L.C. (1975). Res in Vet. Sci. 18: 3; 282-288.
- LENNINGHER, A.A. (1978). Bioquímica, las bases moleculares de la estructura y función celular, Omega Ed. Barcelona
- LERNER, A.B. y col. (195 ). Physiol. Rev. 30; 91-126.
- LESPERANCE, A.L. (1974). Effect of Mo,  $SC_4^{=}$  and alfalfa on the bovina, Ph. D. Thesis.
- MAC HOWELL, J. (1969). Vet. Rec. 31; 1969.
- MARCILLESE, N.A. y col ( 969). J. Nutr. 99; 177-183.
- MARCILLESE, N.A. y col (1973). J. of Nutr. 99; 177-183.
- MC CORD, J.M. y FRIDOVICH, I. (1970). J. Biol. Chem. 245; 1374-1377.
- MILLS, C.F. (1956). Biochem. J 63; 190-193.
- MILLS, C F. (1960). Proc. Nutr. Soc. Engl. Scotl. 19; 162.
- MILLS, C.F. y col. (1975). Brit. J. Nutr. 35: 3; 309.
- MISTILIS, S.P. y col (1968). Scand. J. Gastroenterol. 8; 586-592.
- MOIR (1970). Simposium on sulphur in Nutrition y Connecticut Avi Publ; 16 .
- MORRISSON (1965). In Alimentos Alimentación del ganado. Tomo I-Unión Tipografica Editorial Americana, México, pp 127-131
- MORVEDT, J.J. y col. (1972). In Micronutrients in Agriculture, Soil Science Society of America Inc, Wisconsin USA - 666 pp
- MULTIMORE, L.E. y MASON (1971), J. An. Sci. 51; 193.

- NEUMAN, P.Z. y col. (1967). Nature 213; 775-779.
- OSAKI, S. y col (1964). J. Biol. Chem. 239; 3570-3575.
- OSAKI, S. y col (1966). J. Biol. Chem. 241; 2746-2751.
- OSTLE, B. (1968). In Estadística Aplicada.
- OWEN, C.A. (1961). A. J. Physiol. 207; 446-448.
- PECK, (1962). Bact. Rev. 26; 67.
- PORTER, H. (1961). Arch. Neurol. 11; 331-349.
- POULIK, M.D. (1968). Am. N.Y. Acad. Sci. 151; 476-502.
- QUIROGA, M.A. (1980). In Hipocuprosis experimental en bovinos, en impresión
- RICE, E.W. y col (1960). Clin. Chem. Acta 5; 632-636.
- RISH, M. (1970). In Trace Element Metabolism in animals, edited by Mills, *SandS Livingstone, Edinburgh-London*
- RUCHER y col. (1970). Biochem. Biophys. Res. Commun. 40: 1391-1397.
- RUKSAN, B. y CASARO, A. (1977). In Memoria Anual Depto. Prod. Animal. EERA-INT/ Ba carne (1978).
- SACHS, A.V. y col. (1943). Arch. Int. Med. 71; 498-501.
- SAUCHELLI, V. (1969). In Trece Elementos in agriculture, *Van Nostrand Reinhold Company, New York - 248 pp.*
- SHAW, B. (1957). Informe preliminar proyecto FAO-INTA Argentina.
- SIEGEL y MONTI (1961). J. Nutr. 74; 167.
- SMITH, B. y col. (1972). J.A.M.V.A. 66: 7.
- SMITH, B. y col. (1975). J. of Am. Vet. Med. Ass. 166; 682.
- STARBUCK, B.C. (1969). J. Nutr. 97; 321-326.
- STEEL, R.G. y TORRIE, J.H. (1960). Principles and Procedures of Statistics. Mc. Graw. Hill Book Co. Inc.
- STUTTGEN, N.F. y col (1968). J. Comp. Path. 78; 363-370.

- SUTTLE, N.F. (1970). In Trace Element metabolism in animals, edited by Mills C, E and S Livingstone, Edimburg, London.
- SUTTLE, N.F. (1974). Proc. of the Nutr. Soc. 33; 299.
- TABOR, C.W. y col. (1959). J. Biol.Chem. 208; 645-661.
- THOMAS, J.W. y MOSS (1951). J. of Dairy Sci. 34; 929.
- THOMAS, R.W. y col (1970). J. Biol. Chem. 245; 6698-6705.
- TODD, J.R. (1976). In Molibdenum in the environment, WF Chappell y K Petersen, Marcel Dekker, New York Basel
- TRIDOT y BERNARD (1962). Acta Chim. Hung. 34; 179.
- UNDERWOOD, E.S. (1962) In Trace elements in Human and Animal Nutrition, 1<sup>o</sup> ed. Commonw. Agric. Bur., The Central Press, Aberdeen, U.K.
- UNDERWOOD E.S. (1968). In Trace elements in Human and Animal Nutrition. 2da. ed., Commonw. Agric. Bur., The Central Press, Aberdeen, U.K.
- UNDERWOOD, E.S. (1976). In Molibdenum in the environment, W Chappell and K Petersen Eds. Marcel Dekker, New York Basel.
- VAN CAMPEN, D.R., SCALFE, P.V. (1967). J. Nutr. 91; 473-476.
- WARD, G. (1978). J. of An. Sci. 46; 108.
- WEETH, H.J. y CAPS, D.L. (1972). J. of An. Sci. 34; 256.
- WEETH, H.J. y HUNTER, J.I. (1971). J. of An. Sci. 32; 277.
- WHANGER, P.D. y NESWIG, P.H. (1970). J. Nutr. 100; 341-348.
- YAMADA, H. y col. (1962). J. Biol. Chem. 237; 1511-1516.



Art. 11:

La Facultad no se hace solidaria de las  
opiniones vertidas en una Tesis