

Distribución del hierro en gallinas (Shaver). Influencia del contenido en hierro de la dieta.

María del Puy Sáiz Zabalza

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE BIOLOGIA

DISTRIBUCION DEL HIERRO EN GALLINAS (SHAVER).
INFLUENCIA DEL CONTENIDO EN HIERRO DE LA DIETA.

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLOGICAS

María del Puy Sáiz Zabalza

Barcelona, Abril, 1986

Vº Bº del Director

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. Planas', written in a cursive style. The signature is positioned above the typed name and title.

Fdo. José Planas Mestres
Catedrático de Fisiología Animal

Esta Tesis ha sido realizada en la Cátedra de Fisiología Animal de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona, bajo la dirección del Prof. Dr. José Planas Mestres.

El presente trabajo forma parte de un proyecto de investigación subvencionado por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica (CAICYT).

Mi más sincero agradecimiento:

- . Al Dr. José Planas por su dirección y excelente crítica.
- . A María Teresa Mitjavila por su continua y eficaz ayuda.
- . Parte de esta Memoria ha sido realizada en colaboración con Teresa Martí de esta misma Cátedra, a quien quiero expresar mi sincero agradecimiento por la ayuda prestada.
- . Al Departamento de Estadística y al Servicio de Espectroscopía de la Universidad de Barcelona por sus servicios.
- . A mis compañeros, amigos y a todos aquellos que con su apoyo y ayuda han hecho posible la realización de esta Tesis.



A mis hermanos, con el
recuerdo vivo de nues-
tros padres.

I N D I C E

I.- INTRODUCCION	1
1.- Contenido total en hierro y su distribución	3
1.1.- Hierro en sangre	4
1.1.1.- Hemoglobina	4
1.1.2.- Transferrina	6
1.1.3.- Ferritina	7
1.2.- Compuestos de reserva del hierro en órganos	8
2.- Metabolismo del hierro	12
2.1.- Lugares de absorción	12
2.2.- Mecanismo de absorción	13
2.3.- Factores que influyen sobre la absorción	14
2.4.- Regulación de la absorción de hierro	15
2.5.- Excreción	17
2.5.1.- Morfología del intestino	18
2.6.- Metabolismo	21
2.6.1.- Metabolismo del hierro en aves	23
2.6.1.1.- Hierro y cobre	24
3.- Utilización del pienso por los animales	25
3.1.- Necesidades y metabolismo proteico	27
4.- Deficiencia de hierro	28
4.1.- Patogénesis	28
5.- Sobrecarga de hierro	30
5.1.- Patogénesis	31
6.- Objeto del trabajo	34
II.- MATERIAL Y METODOS	37
<u>PRIMERA PARTE</u> : Distribución del hierro en órganos	
1.- Animales e instalaciones	38
1.1.- Animales	38
1.2.- Instalaciones	
1.3.- Ambientación	



2.- Dietas y crecimiento	39
2.1.- Dietas	39
2.2.- Control del crecimiento	41
2.3.- Control de la puesta	41
3.- Técnicas experimentales	42
3.1.- Análisis hemáticos	42
3.1.1.- Hematocrito	42
3.1.2.- Hemoglobina	42
3.1.3.- Sideremia	43
3.2.- Anestesia	43
3.3.- Perfusión del sistema circulatorio	43
3.3.1.- Canulación de la carotida	43
3.3.2.- Metodo de perfusión	44
3.4.- Extracción de órganos y tejidos	45
3.4.1.- Toma de muestras	45
3.4.1.1.- Tamaño	45
3.4.1.2.- Elección de muestras	45
3.4.1.3.- Secado de muestras	47
3.5.- Determinación del hierro en diferentes órganos y tejidos por espectrofotometría de absorción atómica	47
3.5.1.- Fundamento	47
3.5.2.- Digestión ácida	48
3.5.3.- Valoración del hierro	49
3.6.- Determinación del hierro ferritínico en hígado y bazo	49
3.6.1.- Técnica	49
3.6.2.- Valoración del hierro ferritínico en hígado y bazo	50
3.6.2.1.- Eliminación de las trazas de hierro del sulfato amónico ($\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$)	51
4.- Expresión de los resultados	52
5.- Valoración de los resultados	52

SEGUNDA PARTE: Pruebas metabólicas

1.- Animales y dietas	55
2.- Cajas metabólicas	55
3.- Técnica experimental	58
4.- Aparatos	59
5.- Lavado de material	59
6.- Toma de muestras	59
6.1.- Tipos y tamaño de las muestras	59
6.2.- Secado de las muestras	60
7.- Determinación del hierro	60
8.- Expresión de los resultados	61
9.- Valoración estadística	62

TERCERA PARTE: Pruebas metabólicas y distribución del hierro en gallinas, en función del contenido en hierro en las dietas

1.- Animales e instalaciones	62
2.- Contenido en hierro en las dietas y su preparación	63
2.1.- Primera dieta	63
2.2.- Segunda dieta (Dieta basal)	65
2.3.- Tercera y cuarta dieta	65
3.- Cambios de dieta	66
4.- Análisis hemáticos	66
5.- Técnica experimental	67
6.- Distribución del hierro total	67
7.- Determinación del hierro ferritínico en hígado y bazo	69
8.- Expresión de los resultados	69
9.- Valoración estadística	69

III.- RESULTADOS 70

PRIMERA PARTE: Distribución del hierro en órganos

1.- Evolución del peso	71
2.- Valores hemáticos	71
2.1.- Hematocrito	71
2.2.- Hemoglobina	73
2.3.- Sidremia	73
3.- Hígado	75
3.1.- Valores ponderales	75
3.2.- Contenido en hierro	75
3.3.- Correlaciones	81
4.- Bazo	81
4.1.- Valores ponderales	81
4.2.- Contenido en hierro	84
4.3.- Correlaciones	87
5.- Riñones	92
5.1.- Valores ponderales	92
5.2.- Contenido en hierro	95
5.3.- Correlaciones	95
6.- Corazón	95
6.1.- Valores ponderales	95
6.2.- Contenido en hierro	98
6.3.- Correlaciones	98
7.- Músculo pectoral	101
7.1.- Contenido en hierro	101
7.2.- Correlaciones	101
8.- Intestino	101
8.1.- Duodeno	101
8.1.1.- Valores ponderales y contenido en hierro total	101
8.2.- Yeyuno	106
8.2.1.- Valores ponderales y contenido en hierro total	106

8.3.- Ileon	110
8.3.1.- Valores ponderales y contenido en hierro total	110
8.4.- Valores ponderales y contenido en hie rro en el intestino delgado	113
9.- Plumas	117
9.1.- Valores ponderales	117
9.2.- Contenido en hierro	117
9.3.- Correlaciones	119
10.- Hierro en el líquido de perfusión y en car casa	119
11.- Contenido total en hierro del animal	122
12.- Porcentajes de hierro en los distintos órga nos y tejidos estudiados	122

SEGUNDA PARTE: Pruebas metabólicas

=====

1.- Evolución del peso	126
2.- Parámetros metabólicos	126
2.1.- Ingesta diaria de agua	126
2.2.- Ingesta diaria de pienso	127
2.3.- Excreción diaria	127
3.- Ganancia de peso y utilización del alimento	127
4.- Metabolismo del hierro	132
4.1.- Ingesta de hierro	132
4.2.- Contenido en hierro en los productos de excreción	134
4.2.1.- Valores ponderales y contenido en hierro en los huevos	134
4.2.2.- Contenido en hierro en excrementos	134
4.3.- Balance del hierro	138
5.- Porcentaje de hierro absorbido	141

TERCERA PARTE: Pruebas metabólicas y distribución del hierro en gallinas, en función del contenido en hierro en las dietas

1.- Pruebas metabólicas	141
1.1.- Evolución de la ingesta y de la excreción	141
1.2.- Contenido en hierro en la ingesta y en la excreción	142
1.3.- Balance del hierro	151
2.- Distribución del hierro en órganos según el contenido en hierro en las dietas	160
2.1.- Valores hemáticos	160
2.1.1.- Hematocrito	160
2.1.2.- Hemoglobina	160
2.1.3.- Sideremia	161
2.2.- Hígado	161
2.2.1.- Valores ponderales	161
2.2.2.- Contenido en hierro	166
2.3.- Bazo	173
2.3.1.- Valores ponderales	173
2.3.2.- Contenido en hierro	175
2.4.- Músculo pectoral	185
2.4.1.- Contenido en hierro	185
2.5.- Intestino delgado	185
2.5.1.- Duodeno	185
2.5.1.1.- Contenido en hierro	185
2.5.2.- Yeyuno	190
2.5.2.1.- Contenido en hierro	190
2.5.3.- Ileon	190
2.5.3.1.- Contenido en hierro	190
2.6.- Riñones	195
2.6.1.- Valores ponderales y contenido en hierro	195

2.7.- Corazón	195
2.7.1.- Valores ponderales y contenido en hierro	195
2.8.- Plumas	195
2.8.1.- Valores ponderales y contenido en hierro	195
2.9.- Contenido en hierro en el líquido de perfusión y carcasa	202
2.10.- Peso corporal y hierro total	202
IV.- DISCUSION	206
<u>PRIMERA PARTE</u> : Distribución del hierro en órganos	
1.- Evolución de los pesos corporales	207
2.- Valores hemáticos	208
3.- Evolución de los pesos de los órganos	209
4.- Contenido en hierro	213
<u>SEGUNDA PARTE</u> : Pruebas metabólicas	
1.- Dietas y balances	218
<u>TERCERA PARTE</u> : Pruebas metabólicas y dis- tribución del hierro en gallinas, en fun- ción del contenido en hierro en las dietas	
1.- Dietas y balances	224
2.- Parámetros hematológicos y hierro en órga- nos	228
V.- CONCLUSIONES	234
VI.- BIBLIOGRAFIA	240

INTRODUCCION



El metabolismo del hierro en el hombre se caracteriza por un intercambio limitado externo y por una reutilización eficiente de los manantiales internos. La mayor parte del turnover diario del hierro plasmático es empleado en la eritropoyesis, y los eritrocitos son reprocesados al final de su vida por las células reticuloendoteliales (RE) en el bazo, hígado y médula ósea (146). El ciclo eritrocito - célula (RE) - hierro plasmático, es unidireccional, puesto que éstas son capaces de abandonar el hierro en el plasma pero no pueden tomarlo directamente de la transferrina. Un segundo y menos activo ciclo de intercambio interno de hierro se realiza entre el plasma y las células parenquimales; este intercambio es bidireccional, y depende ampliamente del nivel de saturación de la transferrina (60).

El hierro en exceso es almacenado como ferritina (molécula altamente especializada en almacenar hierro), y su derivado hemosiderina, en dos tipos de células: RE y parenquimales. La capacidad del cuerpo para almacenar hierro sirve a un doble propósito:

- proveer de una reserva interna que puede ser movilizada cuando las demandas exceden al suplemento dietario, en situaciones tales como hemorragia, embarazo o baja cantidad de hierro en el alimento,

- proteger al organismo contra sus efectos nocivos cuando la suplenencia excede a la demanda, para conservarlo como micelios de hierro férrico dentro de la ferritina.

La regulación del almacenaje de hierro es un campo de común interés para los investigadores de fisiología molecular y medicina clínica y en los últimos años ha generado una rápida expansión de los conocimientos particularmente en relación con la estructura, función y regulación de la síntesis de la molécula ferritínica (61, 140). Potentes sistemas enzimáticos para la reducción y oxidación del hie-

rro han sido identificados, y esto puede tener importantes implicaciones en la regulación a través de la membrana de su almacenamiento, aunque su comprensión todavía es limitada.

1.- CONTENIDO TOTAL EN HIERRO Y SU DISTRIBUCION

El contenido total en hierro en el organismo varí a con la edad, sexo, nutrición, estado de salud y especie. En un hombre adulto normal de 70 Kg se estima un contenido de 4 a 5 g de hierro (284, 287, 306) que representa unos 60 a 70 ppm. La rata adulta contiene aproximadamente 50 ppm (265) mientras que los niveles de 40 ppm o menos son normales en ratas lactantes (181). La mayor parte de este metal se encuentra en formas complejas unidas directamente a proteínas (ferritina, transferrina, hemosiderina, ovotransferrina y lactoferrina) o bien a las profirinas (hemoglobina y mioblogina). Los enzimas hemoproteína y flavoproteína conjuntas constituyen menos del 1 % del hierro total del cuerpo.

Entre los órganos, el hígado y bazo mantienen habitualmente las más altas concentraciones seguidas por el riñón, corazón, músculo esquelético y cerebro que contiene solamente de la mitad a un décimo de los niveles del hígado y bazo (284). La variación individual de este metal en el hombre, en riñón y bazo puede ser muy alta. Incrementos superiores a 10 gramos en el contenido total en hierro en el hígado en humanos ocurren en casos de enfermedad e infecciones crónicas (159). En situaciones finales de hemocromatosis pueden acumularse en el cuerpo humano hasta 50 gramos de hierro (80). La sobrecarga en órganos de almacenamiento tales como hígado y bazo es también característica de la deficiencia en cobre (179). El contenido en hierro en estos órganos y en la médula ósea se reduce por debajo de lo normal en las dietas deficientes en el citado metal y en las anemias hemorrágicas.

1.1.- HIERRO EN SANGRE

El hierro en sangre se encuentra en los eritrocitos (hemoglobina y algo de ferritina), en los leucocitos (algo de ferritina) y en el plasma (transferrina y ferritina).

1.1.1.- HEMOGLOBINA

Es un complejo de globina y de ferroprotoporfinas (grupo hemo). Esta unión estabiliza el hierro en su estado ferroso y permite que se una reversiblemente al oxígeno, funcionando la hemoglobina como transportadora de éste. La molécula tiene una talla similar ($P_m = 65.000$) en todas las especies animales y un contenido en hierro cercano al 0.35 % (284).

La síntesis del hemo y su unión a la globina se produce en los últimos estadios del desarrollo del glóbulo rojo en la médula ósea.

El hierro de la hemoglobina ocupa una posición dominante en todos los animales normales aún cuando en especies ricas en mioglobina (caballo, perro) la proporción es más baja que en el hombre. Hahn (130) estima que el hierro de la hemoglobina en perros adultos es el 57 % y el de la mioglobina el 7 % del hierro total, comparado con el 60 al 70 % y 3.5 % respectivamente en el hombre adulto. Aproximadamente el 50 % del hierro total del cuerpo en ratas lactantes se encuentra en forma hemo (181).

Los niveles normales de hemoglobina en sangre en adultos de diferentes especies oscilan entre 10 y 17 g / 100 ml. Estos niveles varían con la edad, sexo, nutrición, embarazo, lactancia, altitud y estado de salud y concretamente declinan al final del embarazo en ratas y en mujeres (284), así como en las aves en puesta (245, 268).

La hemoglobina de las aves cristaliza fácilmente y muestra variaciones características de las especies; ha sido estudiada en pollos, pavos, patos, pichones y gansos (40, 268, 269).

Muchos investigadores están de acuerdo en que todas las especies de aves adultas estudiadas tienen por lo menos dos tipos principales de hemoglobina mostrando diferentes movilidades electroforéticas: rápida (tipo I) y lenta (tipo II). Las proporciones en porcentaje son de un 70 a 80 % para el tipo I y de 20 a 30 % para el tipo II. También se diferencian en la composición en aminoácidos. Ghosh (117), que estudió la hemoglobina en 47 especies de 13 órdenes diferentes de aves mostró que 10 de éstas mostraban también un tercer tipo basado en características migratorias. Más de tres tipos de hemoglobina se encuentran en embriones (77,109, 128). La mayor parte de estos desaparecen en los adultos aunque algunos pueden persistir en ciertas especies de patos y gorriones (37).

Los pesos moleculares de las hemoglobinas I y II oscilan entre 65000 y 73000 dependiendo del método de valoración.

La concentración de hemoglobina en la sangre de las aves es altamente variable. Trabajos recientes (268) han mostrado que muchas de estas variaciones pueden ser atribuidas a los métodos de determinación.

Parece que en la madurez sexual hay un aumento en el nivel de la hemoglobina tanto en machos como en hembras. Esto es correlativo con un mayor número de eritrocitos en los machos en la mayoría de especies y de hecho los andrógenos tienden a aumentar el número de glóbulos rojos mientras que los estrógenos tienden a disminuirlo, principalmente por la inicial disminución eritropoyética (221). Sin embargo, con la administración continuada de estrógenos, la eritropoyesis no desciende en los pollos (118). Algunos autores han mostrado niveles de hemoglobina más bajos en la puesta que en la época anterior a ésta pero otros no han encontrado dichas diferencias (268).

1.1.2.- TRANSFERRINA

El hierro en el suero está ligado a una proteína específica, la transferrina, que existe en todos los vertebrados. La transferrina es una glicoproteína con dos lugares de fijación, cada uno capaz de ligar un átomo de Fe^{+++} (88). El peso molecular es aproximadamente de 76000 y su contenido total en carbohidratos es del 5.3 %. La transferrina sirve como transportador principal del hierro en la sangre y juega un papel central en el metabolismo de este metal (262). Además, in vitro, tiene una función secundaria importante, como es participar en los mecanismos de defensa del cuerpo contra la infección (36). En los individuos normales solo del 30 al 40 % de la transferrina está saturada de hierro; este porcentaje de saturación varía según las especies pero en condiciones normales en general no es superior al 50 %.

En pollos la concentración de hierro sérico y la capacidad total de fijación (TIBC) es similar al hombre (284), en gallinas y patos durante la época de puesta, aumenta casi 5 veces (235) debido a la aparición de una fosfoproteína específica, la fosvitina, que une alrededor de las dos terceras partes del hierro presente en el plasma, y lo transporta a los ovocitos y a la yema del huevo (6, 225). Los niveles del TIBC también se incrementan aunque no en la misma proporción, y la capacidad de fijación está totalmente saturada (227, 236). Por esta razón, el transporte de hierro en las aves presenta características especiales que comporta la existencia de mecanismos auxiliares a la transferrina (227, 236).

Las variaciones de hierro sérico en humanos pueden ser comprendidas si el suero es concebido como lugar de paso al cual llega el hierro y lo abandona para dirigirse a diferentes lugares para la síntesis y resíntesis de hemoglobina, ferritina y otros compuestos de hierro. Así en la deficiencia en hierro los niveles bajos en suero resultan de una

pequeña ingestión, abandono de los depósitos y reducción de hemoglobina por destrucción acompañada de anemia. De hecho es evidente que la sideremia comienza a decaer antes de que los depósitos de hierro estén movilizados completamente (204). Los valores de la cantidad de hierro en suero y el porcentaje de saturación de la transferrina característicos de la anemia perniciosa y anemia aplásica (45) pueden ser asociados con el aumento de absorción de hierro y un bloqueo de la médula para la síntesis de hemoglobina en presencia de un adecuado almacén de hierro.

El alto nivel de la sideremia y el porcentaje de saturación de la transferrina en la hemocromatosis pueden ser relacionados con la excesiva absorción de hierro y depósito en el cuerpo (284). El bajo contenido en hierro del suero y los niveles de TIBC en el síndrome nefrótico (44) pueden ser explicados por las pérdidas de este metal por la orina en presencia considerable de proteinuria (42).

1.1.3.- FERRITINA

La concentración media en el hombre es de 2 a 3 veces la de la mujer, así la del adulto normal son de 39 ng/ml en hembras y de 140 ng/ml en los machos. En unas investigaciones realizadas por Lipschitz et al. (186) en pacientes con anemia por deficiencia de hierro obtuvieron una concentración baja, de 9 ng/ml. Si la anemia era por otras causas, el nivel de este parámetro permanecía en 180 ng/ml y en sujetos con sobrecarga de hierro era de 2930 ng/ml. Se ha demostrado un alto grado de correlación entre la concentración de ferritina sérica y los niveles de reserva de hierro en sujetos normales (59, 163, 169, 186, 222, 294) así como en ciertas enfermedades (2), mientras que no ha sido confirmado en ratas (158).

De los resultados obtenidos por Calvo (38) en pollos, se deduce que los niveles de ferritina plasmática acu-

san los depósitos de hierro del hígado y bazo, aunque no siempre sean estadísticamente significativas, así los animales con deficiencia en hierro tienen niveles de ferritina más bajo que los normales careciendo de significación (1129 y 1364 ng/ml respectivamente) y los alimentados con sobrecarga de hierro los niveles son significativamente más altos (4423.6 ng/ml). Este mismo autor (38, 39) ha observado en gallinas en puesta una variación de la ferritina plasmática opuesta a la de los niveles de hierro en este mismo medio, es decir, desciende a medida que aumenta el hierro en plasma y el porcentaje de la puesta. Así los niveles de ferritina plasmática antes de la puesta son de 721 y en plena producción (83 % puesta) son de 424 ng/ml .

Por lo que podemos deducir que la especie *Gallus domesticus* presenta unos niveles de ferritina sérica bastante superiores a los de la especie humana.

1.2.- COMPUESTOS DE RESERVA DEL HIERRO EN ORGANOS

El hierro de reserva del organismo se presenta predominantemente como dos compuestos no hemo: ferritina y hemosiderina. Ambos están presentes en los tejidos en una amplia variedad de especies con las mayores concentraciones en hígado, bazo y médula. Los dos compuestos son químicamente diferentes aunque sus funciones están íntimamente relacionadas. En las plantas también se ha encontrado la fitoferrina y la fitosiderina (140) muy parecidas a las correspondientes en los animales.

La ferritina pura es una proteína soluble en agua, conteniendo alrededor del 20 % de hierro de su peso seco, fue aislada del bazo de caballo por Laufberger en 1937 (177) quien había reconocido su probable papel de reserva. La hemosiderina descrita por Cook en 1929 (55) como gránulos ma

rrones insolubles conteniendo "hierro hidroxilo" coloidal (35 % de su peso seco) y fosfato junto con proteína, también fue aislada del bazo de caballo. A mediados de este siglo Granick(123) y Michaelis (208) realizaron varios estudios sobre estas moléculas y demostraron que la ferritina de bazo de caballo consistía en una proteína de peso molecular alto con variadas cantidades de Fe^{+++} en forma de micelas. La hemosiderina no tenía una asociación definitiva con proteína y Granick(123) la consideró como producto de la destrucción de la ferritina. Este mismo autor demostró que la ferritina era una proteína de reserva y que su hierro podía ser movi- lizado para la producción de hemoglobina. Propuso un control de la absorción de este metal por la ferritina en equilibrio con pequeñas cantidades de Fe^{++} que a su vez estaría en equi- lio con el hierro plasmático.

Debido a la naturaleza micelar de su hierro y a la variación del contenido en este metal en sus moléculas, la ferritina proporciona un espectro molecular con distintas afinidades para con el hierro y puede actuar como una reser- va a corto y medio plazo; en cambio la hemosiderina parece ser menos activa metabólicamente y actuaría como una reser- va a largo plazo (284). Existe un paso bidireccional de hie- rro entre los dos tipos de depósitos.

La ferritina y su proteína sin hierro, apoferriti- na, tienen las mismas movilidades electroforéticas y punto isoeléctrico, indicando que el hierro es probablemente se- cuestrado dentro de la célula (201). Harrison (141) demos- tró que la apoferritina consistía en subunidades colocadas de una manera regular para formar un casquete alrededor de la micela de hierro. Los espacios entre las subunidades pro- veían canales a través de los cuales los átomos de hierro podrían entrar o salir de la molécula.

La ferritina ha sido aislada de diferentes órganos de mamíferos: hígado, bazo, riñón, corazón, músculo, médula ósea, placenta y mucosa intestinal. Ha sido encontrada en tejidos neoplásicos y en el suero (140).

Ya en 1948 se observó variación en la distribución de la ferritina según el sexo por Widdowson y McCance (300) y recientemente ha sido confirmado por Björklid y Helgeland (26) y por Linder et al. (183,184). Estos últimos detectaron concentraciones de 4 a 5 veces superiores de hierro ferritínico en hígado y 3 veces superiores en riñones de rata hembra frente a los machos y no encontraron diferencias en el corazón; además la tasa de síntesis de ferritina es un 50 % mayor en el hígado de hembras que en el de machos. Diferencias sexuales no se dan en todas las especies (140).

La reserva de hierro se deposita rápidamente en el hígado y bazo aproximadamente de la siguiente manera:

Morgan y Walters (214) observan en humanos que cuando la cantidad total de hierro de reserva en hígado y bazo está por debajo de los 500 $\mu\text{g/g}$ de tejido, más hierro se deposita en forma de ferritina que de hemosiderina y este hierro es posteriormente utilizado para las demandas de eritropoyesis y para ser transferido al feto; con niveles por encima de 1000 $\mu\text{g/g}$, el hierro se acumula más en la hemosiderina (211,260,284). Esta situación no es comparable a la de las aves, así en el hígado de pollitas existen mayores cantidades de hemosiderina que de ferritina (284).

Calvo et al. (39) mediante la técnica de Radioinmunoensayo (RIA) valoraron ferritina plasmática, hepática y esplénica en la especie *Gallus domesticus*, encontrando correlación entre la primera y la obtenida en hígado y bazo. Los resultados obtenidos en tres lotes de animales: tratados con sobrecarga de hierro, controles y deficientes en este mismo metal fueron los siguientes: mientras la concentración de ferritina plasmática era de 4424, 1364 y 1129 ng/ml , la ferritina hepática y esplénica eran de 436, 123, 28 $\mu\text{g/g}$ y 452, 224 y 191 $\mu\text{g/g}$ respectivamente.

En enfermedades humanas tales como hemocromatosis y hemosiderosis transfusional, que se caracterizan por niveles de hierro extremadamente altos en los tejidos, la mayor

parte de éste está presente como hemosiderina (256).

La médula ósea y el músculo contienen considerables cantidades de hierro no hemo. La concentración de la primera, en un hombre normal es de 100 µg/g (133) y por total contendría unos 300 mg que correspondería alrededor de un tercio o una quinta parte del hierro de reserva estimado. La concentración de hierro no hemo en músculo es baja (133, 280) pero debido a la gran cantidad del mismo es importante. Torrance et al. (280) muestran que sería igual al contenido en hierro de reserva en el hígado.

El contenido medio en hierro en el huevo se sitúa entre 1 mg (245, 284) y 1.5 mg (39, 119). En su mayor parte está en la yema. La conalbúmina (5) difiere de la transferrina solo en el contenido en carbohidratos (302) y tiene relaciones semejantes con el hierro (94) actuando como agente bacteriostático.

También se encuentra hierro en la leche (95) así como en el cabello (267), lana (284) y plumas (70), incluso en estas últimas, en épocas de ayuno prolongado la deficiencia en hierro puede producir decoloración de las mismas (24, 70).

Las distintas etapas del metabolismo del hierro (233) descritos se muestran en la Figura 1.

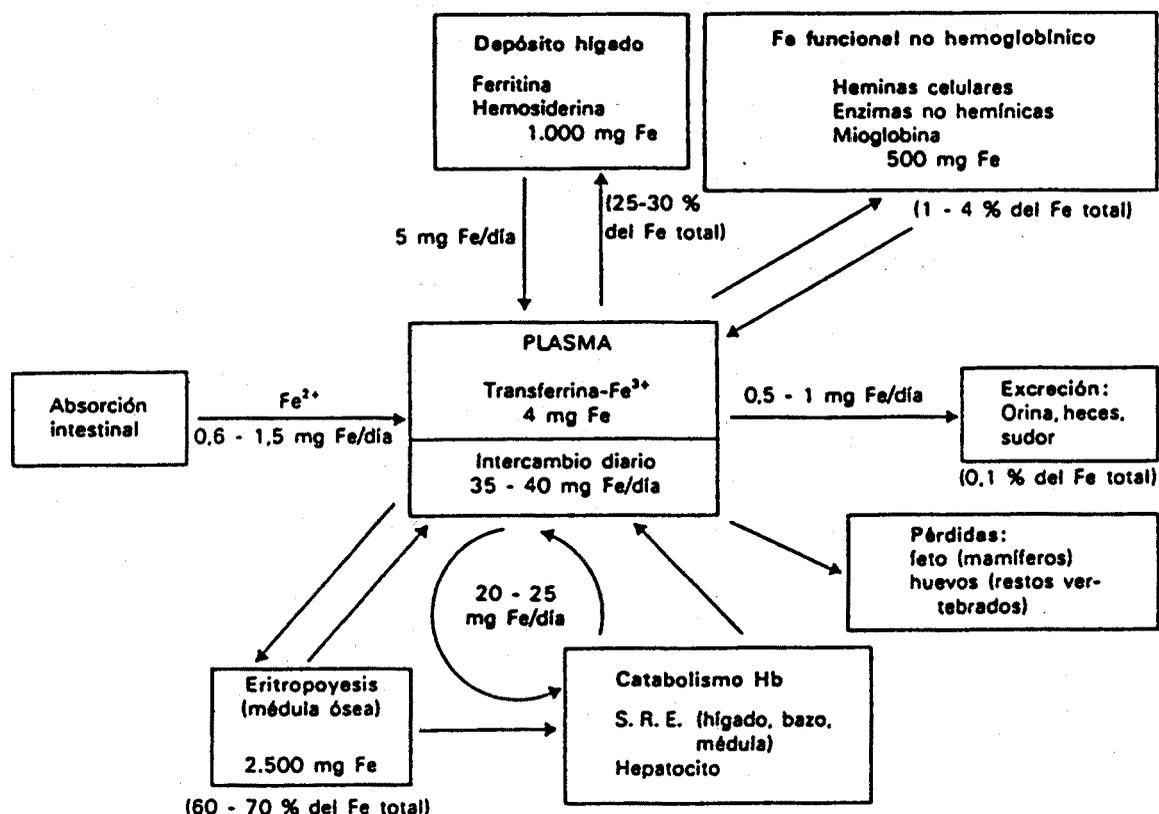


Figura 1 .- Etapas principales del metabolismo del hierro en los vertebrados con indicación de las cifras correspondientes al hombre (233).

2.- METABOLISMO DEL HIERRO

2.1.- LUGARES DE ABSORCIÓN

Desde los trabajos de Granick (123) y posteriormente otros investigadores (52, 64), ha quedado demostrado que si bien el hierro puede ser absorbido a lo largo de todo el tracto gastrointestinal (estómago, duodeno, yeyuno, íleon e intestino grueso), en humanos, ratas, cobayas, conejos y gallinas, el lugar principal de absorción es el duodeno (46, 58, 78, 82, 100, 111, 172, 195) y principio de yeyuno (82, 103, 105, 172). Esto es ratificado por el hecho de que en estos segmentos es donde se muestra una mayor respuesta cuando se presenta un estado de deficiencia (64, 102, 103). Mientras el transporte de hierro desde el intestino al resto del organismo está centrado principalmente en el duodeno (278,

283, 287), la retención por la mucosa intestinal se daría preferencialmente en el yeyuno y en el íleon (274).

2.2.- MECANISMO DE ABSORCION

La absorción del hierro se da una vez que el alimento ha sido elaborado en el lumen intestinal. El modelo más simple del paso del hierro al interior del organismo según diversos autores (52, 219, 283, 284) se realiza en tres etapas:

1º - Fase intraluminal donde el alimento es digerido por los enzimas gástricos y pancreáticos y el hierro es liberado en forma soluble.

2º - Fase mucosal en la que el hierro es captado por las células mucosales y transportado a través del citoplasma en un proceso que no está plenamente dilucidado; se ha observado la existencia de transportadores intracelulares específicos para este metal (153, 307). Huebers et al. (156) aislaron de la mucosa intestinal de rata dos proteínas identificándolas como ferritina y transferrina y suponen que la segunda es el transportador a través del enterocito y responsable del rápido paso de hierro en animales deficientes, mientras que la ferritina actuaría como depósito de hierro en aquellos que no requieren una cesión rápida al plasma (normales y con sobrecarga en hierro).

3º - Fase corporal en la que el hierro es tomado por la transferrina del plasma sobre el lado serosal de la célula mucosa y llevado al hígado y tejidos hematopoyéticos. Esta fase es afectada por los niveles de hierro en el cuerpo, estando muy facilitada la absorción en la deficiencia (183).

Si el hierro está en forma quelada el mecanismo de absorción presenta diferencias notables (183).

2.3.- FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE SU ABSORCION

Gran número de factores afectan la absorción del hierro, unos positivamente y otros de forma negativa. Caben destacar los factores intraluminales (forma química del hierro, jugos gástricos, los constituyentes del alimento... (62, 162, 283, 308)) y los factores mucosales (deficiencia o sobrecarga de hierro ...) (54, 62, 82, 175, 223, 298, 310).

La solubilidad de un metal en el medio intraluminal, es condición esencial para que sea absorbido. Las sales ferrosas son absorbidas por el intestino mejor que las férricas (69, 78, 82, 100, 102, 112, 144, 287) y se considera que el Fe^{++} puede existir en solución hasta una concentración de 1M a pH 7, mientras que el Fe^{+++} al mismo pH es insoluble a concentraciones de 10^{-17} M (46, 69, 144, 283), formándose hidróxidos ya a pH 3 (105). La diferencia en las propiedades fisicoquímicas entre los iones Fe^{++} y Fe^{+++} sería debida a su polimerización hidrolítica. Para que tanto el Fe^{++} como el Fe^{+++} sean absorbidos por el intestino de pollo (pH 6 a 7) bastarían que se mantuvieran en forma soluble administrando quelantes que formarían complejos de bajo peso molecular (46, 69, 144).

El hierro en las dietas de origen vegetal está presente en forma difícilmente soluble, por el contrario, si dicho metal se encuentra en dietas de origen animal, es mucho mejor absorbido (283, 287).

El ácido ascórbico ha sido también ampliamente estudiado. Es un constituyente habitual del alimento en el lumen intestinal, el cual actúa como reductor del Fe^{+++} (105) y como quelante del $FeCl_3$ (134, 172) cuando se administran en una misma solución (22, 35, 69, 100, 106, 144, 285, 287, 288) tanto en animales normales como en deficientes. Incluso es posible que el ácido ascórbico penetrara en las células intestinales y modificara su metabolismo (64).

La histidina parece ser que facilita la absorción del hierro (105), por formación de quelados de bajo peso mo

lecular con 3 átomos de Fe^{+++} , manteniendo su solubilidad en el medio y aumentando su absorción en el intestino (105, 175, 285, 286, 287, 288).

Las grasas forman con el hierro complejos poco solubles que reducen la disponibilidad del hierro para su absorción.

Finalmente, la absorción también puede ser modificada por factores que directa o indirectamente produzcan cambios en las células de la mucosa del intestino, como son: cantidad de hierro almacenado en el cuerpo, tasa de eritropoyesis, hipoxia, o el nivel de saturación de la transferrina entre otros (283).

2.4.- REGULACION DE LA ABSORCION DE HIERRO

Los mecanismos por los cuales el organismo regula la absorción de acuerdo con sus necesidades, no están del todo dilucidados. Huebers et al. (154, 155) explican dicha regulación mediante un factor intraluminal (factor eluible) que ha sido detectado en la superficie de la mucosa del yeyuno de las ratas.

De acuerdo con la teoría del "bloqueo mucosal" de Hahn et al. de 1943 (131) y elaborada por Granick (123), la mucosa intestinal absorbe hierro durante períodos de necesidad y lo expulsa cuando las reservas son adecuadas. El hierro captado por los enterocitos es convertido en ferritina y éstos quedan fisiológicamente saturados en esta proteína, una ulterior absorción es impedida hasta que el hierro es liberado de la ferritina y transferido al plasma. Crosby et al. (65) y Conrad et al. (54) muestran la evidencia de que en las ratas el regulador último de la absorción es su concentración en las células epiteliales del intestino proximal. En ratas normales con concentraciones de hierro intestinales moderadas, solo una pequeña parte de éste es transferido a la sangre y retenido por el organismo; el resto permanec



enterocitos y es perdido en el lumen del intestino cuando las células de las vellosidades se descaman. En ratas deficientes con menor concentración de hierro en el intestino, gran parte del hierro ingerido pasa directamente a la sangre. Este mecanismo aparentemente no se aplica al hombre (7). Trabajos recientes aportan un sistema de transporte que envolvería receptores situados en la membrana plasmática de las células epiteliales intestinales y la interacción de la transferrina plasmática en estos lugares con la liberación del hierro (92).

Otros procesos, implicando secreciones digestivas han sido evocados para la regulación de la absorción del hierro:

. Secreción gástrica (gastroferrina) (162). En jugos gástricos normales Davis et al. (69) observaron su ausencia en hemocromatosis. En anemia por deficiencia de hierro provocada por pérdidas de sangre, la concentración de gastroferrina en los jugos gástricos se reduce y vuelve a los niveles normales una vez restaurada la hemoglobina (188). Más tarde se propuso que el fallo en producir gastroferrina por un error congénito de metabolismo es un factor causal de la hemocromatosis.

. Secreción pancreática así, el exceso de absorción y de deposición de hierro, característico de la hemocromatosis ha sido relacionado con un defecto pancreático primario (68). Davis y Biggs (67, 68) muestran que se puede reducir la absorción de hierro en la hemocromatosis por adición de un extracto pancreático a las dosis orales de hierro (lo mismo pasaría a las ratas).

. Otras secreciones intestinales. Murray y Stein (218) y Turnberg (282), propusieron que el aumento de la absorción del hierro en organismos deficientes no es debida a una menor acción gastroferrínica, sino a un factor del jugo gástrico que aumenta la absorción.

2.5.- EXCRECION

Desde los estudios de McCance y Widdowson de 1937 (202) se conoce la limitada capacidad de eliminación de hierro que posee el organismo. La excreción se realiza principalmente a través de tracto gastrointestinal, superficie cutánea, orina, a través de la placenta en mamíferos, puesta en las aves y menstruación. Estos mismos autores (202) demostraron que la capacidad de excreción de hierro por el intestino era mucho más limitada de lo que se había previsto, y que el control de su balance se encuentra más en la absorción que en la excreción. La cantidad total de hierro en las heces de un humano normal se sitúa entre 6 y 16 mg/día dependiendo de las cantidades ingeridas (284), y representa principalmente el hierro no absorbido a nivel intestinal y solo podemos considerar una mínima parte como verdaderamente excretada, según se ha detectado en estudios de balance. En el hombre este valor aproximadamente es de 0.2 a 0.5 mg/día dependiendo de la técnica utilizada (85, 160). Aún en anemias hemolíticas o en el tratamiento de la policitemia con fenilhidrazina, que conllevan liberación de grandes cantidades de hierro en el cuerpo por destrucción de los glóbulos rojos, solo el 0.5% de éste aparece en la orina y heces (202). Este hierro propiamente eliminado, deriva de las células descamadas y de la bilis (284). En este último caso proviene en gran parte de la destrucción de la hemoglobina en una cantidad aproximada de 1 mg/día, aunque la mayoría es reabsorbido y solo una porción muy pequeña pasa a las heces.

Además del hierro excretado por la orina y heces, hay una cantidad perdida por la superficie corporal que en un adulto representa 0.5 mg/día (52, 284) a través de sudor, cabello y uñas (sudor normal 0.3 μ g Fe/ml, sudor fuerte, es decir, concentrado 7.1 μ g/ml (1)). Además, como ya se ha citado anteriormente, en la mujer se dan otras pérdidas debido a la sangre menstruante (51, 132, 248), partos y a la leche de la lactancia (284). Las aves pierden hie-

rro a través de huevos durante la puesta.

La importancia de una excreción tan reducida radica en que de los 16 mg de hierro / día presentes en la dieta, un individuo normal absorbe entre 0.6 y 1.5 mg y durante este período el catabolismo de la hemoglobina libera de 20 a 25 mg de hierro. Si este hierro catabolizado no fuera conservado, la pérdida de hierro no sería restaurada por una dieta razonable (210).

En casos concretos podemos considerar las pérdidas adicionales de hierro, respecto a la puesta, ésta comporta un cambio en el metabolismo del hierro (245). Un huevo de gallina contiene aproximadamente 1.5 mg de hierro. Así una buena ponedora pierde aproximadamente 7 mg de dicho metal en una semana, lo que equivale a más de 300 mg en un año.

2.5.1.- MORFOLOGIA DEL INTESTINO

El intestino delgado de las aves es más corto que el de los mamíferos y al igual que éstos comprende tres partes: duodeno, yeyuno e íleon, según la terminología de algunos autores, a pesar de que la delimitación entre yeyuno e íleon es imperceptible (24) (Figura 2).

No obstante, su longitud puede variar por la influencia de la alimentación; así el de una ave granívora o herbívora posee mayor longitud que el de una carnívora (269). Parece ser que según la edad, el diámetro del intestino aumenta, pero no queda muy claro si corresponde únicamente a las capas de tejido muscular y submucosa, o bien si va acompañado de un mayor número de células epiteliales, ya que existen pequeñas contradicciones al respecto (152, 241), aunque en un mismo animal el diámetro se mantiene constante a lo largo de todo el intestino. Por el contrario en rata (99) la superficie de la mucosa del yeyuno proximal, es el doble que la del íleon distal.

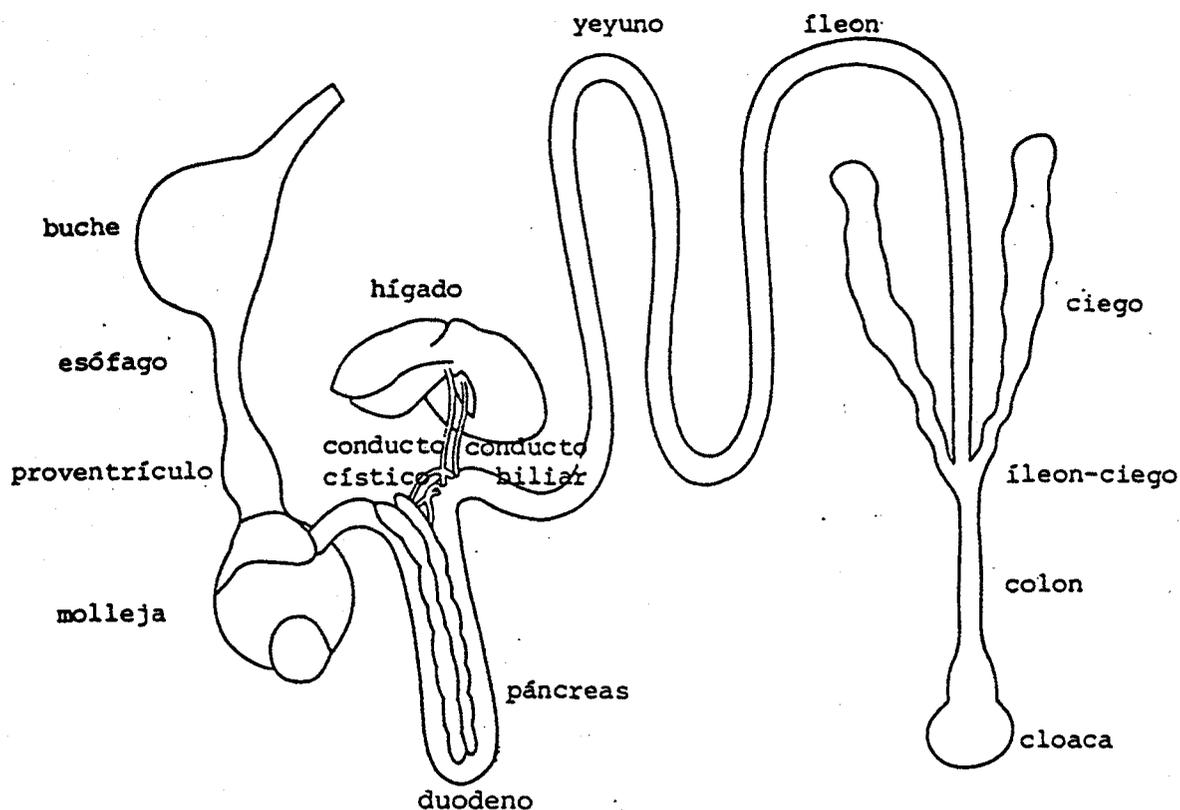


Figura 2.- Estructura general del tracto digestivo de las aves (24) .

El intestino grueso es relativamente corto en la mayor parte de las aves; se extiende desde el recto a la cloaca y en él desembocan los ciegos. En algunos tipos de aves, los ciegos no están suficientemente desarrollados para ser considerados como partes funcionales del tracto digestivo, quedan reducidos a órganos linfáticos. En la zona de unión con los ciegos, el íleon presenta un repliegue denominado anillo muscular (50) por encima del cual se encuentran las desembocadaras de estos (96).

Histológicamente, el intestino delgado es similar al grueso, excepto en la medida de las vellosidades (269) las cuales son más pequeñas en el primero, variando además su forma según el tipo de alimentación; así, en las aves carnívoras las vellosidades están más desarrolladas que en las herbívoras, las cuales, son achatadas y de aspecto foliado (269).

La cantidad de vellosidades presentes en el yeyuno es de $46/\text{mm}^2$ de tejido y su largura es de $525.3 \mu\text{m}$, unas tienen forma cilíndrica y otras elipsoide. Las vellosidades del íleon son semejantes a las del yeyuno pero su disposición es más apretada 59.5 vellosidades / mm^2 de tejido. En su superficie, las invaginaciones transversales son más numerosas que en el yeyuno siendo también más abundantes en la zona apical (96).

En el recto, las vellosidades también son todas de la misma longitud ($265.6 \mu\text{m}$). En cuanto a la forma, predominan las elipsoides, en las cuales el diámetro menor a veces es bastante más largo que en el yeyuno. Su densidad es menor que en las otras zonas (39 vellosidades / mm^2 de tejido). Las invaginaciones transversales de la superficie son más numerosas y marcadas que en el yeyuno e íleon. En la zona apical hay numerosos filamentos bacterianos insertos en el tejido.

La mucosa del intestino de pollos se caracteriza por:

. El epitelio, constituido por simples columnas de células en forma de copa, entre las que se encuentran las células caliciformes de actividad secretora (268, 269). Estas células caliciformes presentan microvellosidades en la zona apical y no se observan diferencias notables entre las distintas partes del intestino delgado y del ciego (96).

. Las criptas de Lieberkühn donde están localizadas las células de Paneth; se desconoce la actividad que estas últimas desarrollan, parece ser secretora aunque no quedan de acuerdo algunos autores sobre su existencia en los pollos. Aitken (3) cree que dichas células están ausentes tanto en el intestino delgado como en el grueso, en contraposición con Bradley y Grahane (33) quienes opinan, que las células de Paneth están presentes a todos los niveles, aunque esto no ha sido donfirmado.

. En ciertas razas de pollos existen algunas glándulas tubulares que son similares a las de Brunner en los mamíferos (64, 134).

. Las células argentófilas, descritas por Limard y Van Camptenhout en 1392, están presentes en las criptas de Lieberkühn y en el epitelio (299). Los primeros autores han sugerido que en un momento determinado del desarrollo dichas células emigrarían del epitelio a la lámina propia. Esta emigración no parece haber sido notada en otras especies. A primeros de los años cincuenta se encontró que en cobayas, ratones y hombre, las células argentófilas del intestino delgado y grueso eran morfológicamente diferentes y avanzó la hipótesis de que estas diferencias estarían asociadas a variaciones funcionales. Aitken (3) considera que las células argentófilas son menos numerosas en el duodeno, particularmente en las aves jóvenes, y está seguida de otra zona en la cual el tejido linfático es abundante y las glándulas tubulares en consecuencia están ampliamente señaladas.

2.6.- METABOLISMO

Una alta proporción del hierro absorbido es continuamente redistribuido a través del cuerpo en varios circuitos metabólicos de los cuales el ciclo: plasma → médula ósea → glóbulos rojos → glóbulos rojos seniles → plasma, es cuantitativamente el más importante. Existen otros circuitos subsidiarios: plasma → ferritina y hemosiderina → plasma y plasma → mioglobina y enzimas que contienen hierro → plasma.

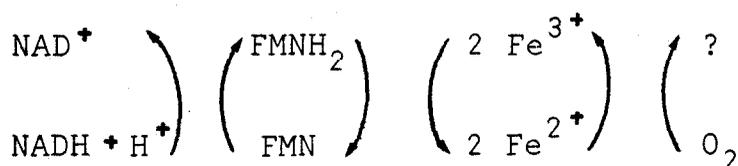
El hierro del plasma (transferrina) provee la unión entre los ciclos y regula su distribución en el organismo.

El ciclo de la hemoglobina domina el metabolismo intermediario del hierro. Normalmente alrededor del 70 % del turnover plasmático va a la médula ósea (30). En animales en avanzado estado de gestación, una proporción relativamente grande de hierro plasmático circulante puede ir además a la placenta (32) y en las aves en estado de puesta al ovario (212). Unos 20 a 25 mg de hierro endógeno son liberados diariamente en la destrucción de la hemoglobina de los eri-

trocitos no viables, la metabolización de la parte hemínica y el retorno del hierro al plasma es responsabilidad de las células reticuloendoteliales (RE) del hígado, bazo y médula.

En machos adultos, entre 35 y 40 mg de hierro total son transportados por el plasma cada 24 horas, aunque solo de 3 a 4 mg están presentes en este compartimento en cualquier momento. El turnover es rápido con un tiempo medio de 90 a 100 minutos (238). El hierro es incorporado a la hemoglobina en los reticulocitos y no en los eritrocitos maduros, el primer paso es la unión de la transferrina a las células (166, 213).

El proceso rápido de incorporación del hierro plasmático a la ferritina en el hígado, bazo y médula depende de reacciones energéticas que junto con el ácido ascórbico reducen el Fe^{+++} de la transferrina a Fe^{++} , liberándolo de la proteína, el cual es captado por la ferritina (200). Se ha dicho que el proceso inverso estaría mediado por la xantina-oxidasa actuando como deshidrogenasa (200, 224), aunque recientemente se ha demostrado que solo la riboflavina y sus derivados pueden reducir el Fe^{+++} ferritínico a un límite y a una extensión que es semejante a su significación fisiológica (264).



La movilización del hierro de las reservas también requiere la presencia de un enzima transportador de cobre ceruloplasmina (Ferroxidasa I).

El hierro plasmático es depositado en el hígado y bazo como ferritina y hemosiderina y es liberado de los dos compuestos para la utilización por los tejidos. Esto ocurre sobre una ordenación de límites de deposición y vaciamiento de hierro (284). Según otros autores (261) el hierro de la transferrina sería incorporado a la ferritina y luego de és

ta a la hemosiderina, por lo que la ferritina sería quizás un precursor de la hemosiderina.

2.6.1.- METABOLISMO DEL HIERRO EN AVES

El contenido en hierro en aves, no es conocido con igual extensión que en los mamíferos. Los primeros trabajos en aves datan de 1927 y corresponden a Warburg y Krebs (296) quienes comparan sideremias de aves con las de otros grupos animales.

En las aves domésticas se observa que el hígado de las hembras contiene, ya antes de la puesta, más hierro que el de los machos (301); pero con la aparición de la puesta, éste disminuye, aumentando el hierro plasmático y paradójicamente se incrementa la absorción intestinal (250) siendo equivalente a la situación creada en las anemias sideroblásticas en el hombre, en que siendo los niveles del organismo altos, se incrementa la absorción intestinal (104). Por otra parte tenemos que la absorción es mayor en la hembra que en el macho, lo que permite un incremento de los depósitos de hierro en animales inmaduros. En todo caso después de un período de puesta intensiva, los depósitos serían agotados si la absorción intestinal no fuera reponiéndolo al mismo tiempo (250).

Estudiando la relación entre hemoglobina, producción de huevos y sideremia, se encuentra que la hemoglobina en la sangre de las hembras en puesta es menor y se atribuye este descenso a alguna posible intervención endocrina dependiendo de la demanda de hierro para la formación de los huevos (245). La sideremia sufre también grandes variaciones oscilando entre 100 - 200 $\mu\text{g Fe}/100\text{ ml}$ para las gallinas en no puesta o inmaduras y 400 - 900 $\mu\text{g Fe}/100\text{ ml}$ para las gallinas en puesta (230).

Varios autores han propuesto la existencia de un segundo transportador durante la época de puesta (126, 227, 271) habiéndose identificado una fosfoproteína igual que la que

acompleja hierro en la yema del huevo, la fosvitina, aislada del plasma de gallinas en puesta por Heald y McLachlan (143), comprobándose que el hierro no unido a la transferrina se encuentra unido a la fosvitina (6). Esta proteína se sintetiza en el hígado y es secretada a la sangre y depositada en los folículos del ovario (127, 142). Actualmente se ha descubierto que la fosvitina circula por el plasma no como tal, sino como una estructura de peso molecular mayor: la vitelogenina (74).

La presencia de estos transportadores debe afectar la ferrocínética. La velocidad de intercambio de hierro en plasma en los tejidos (PIT), fue determinada en gallinas (234), encontrando diferencias en la velocidad de renovación del hierro en plasma y tejidos entre aves y mamíferos (18); además en las primeras aumenta mucho durante la puesta y es proporcional a la producción de huevos (246).

2.6.1.1.- Hierro y Cobre

Ya en 1929 se observó que la anemia en los pollos podía ser corregida por adición de hierro en la dieta basal (90, 279). La necesidad de hierro y cobre ha sido claramente establecida a partir de las vinculaciones de este segundo metal con el metabolismo del hierro. El cobre estimula la eritropoyesis (150, 178, 192, 266) y más específicamente la formación del grupo hemo (11), mientras que el hierro funciona directamente en la formación de la hemoglobina.

Planas y Frieden (237) observaron en pollos Leghorn las consecuencias producidas por una alimentación deficiente en cobre y hierro, y obtuvieron una disminución significativa en el peso corporal, hematocrito, hemoglobina, sideremia y en la actividad ferroxidasa después de 17 días de tratamiento. Hill y Matrone (150) detectaron en pollos y en idénticas condiciones alimenticias un descenso en el número de eritrocitos y contenido hemoglobínico.

Así pues, el requerimiento en hierro y cobre en

pollos Broiler ha sido investigado por numerosos autores. Para que alcancen un máximo peso corporal, y niveles óptimos de hemoglobina y hematocrito es necesario un contenido en hierro en las dietas de 75 a 80 ppm cuando el pienso tuviera 8 ppm de cobre (71). Waddell y Sell (292) propusieron independientemente del cobre, que la hemoglobina era óptima cuando la dieta contenía 56 ppm de hierro en pollos Broiler. Al - Ubaidi y Sullivan (8) determinaron que para pollitos Turkey serían necesarios de 48 a 58 ppm de hierro y de 2.8 a 5.8 ppm de cobre para lograr el máximo peso corporal y concentración hemoglobínica y dedujeron que altos niveles de estos metales podrían ser requeridos para la obtención de un hematocrito elevado. Harland et al.(139) también observaron que las demandas de hierro y cobre en las codornices japonesas eran de 90 a 120 y 5 ppm respectivamente. En contraste con estos hallazgos, Hill y Matrone (150) propusieron que el mínimo necesario para un pollo podría ser de 40 ppm de hierro y 4 ppm de cobre. El National Research Council (220) aconsejó niveles para pollos en crecimiento de 40 ppm y 4 ppm de hierro y cobre respectivamente.

Aunque las necesidades aconsejables de ambos metales varían según los investigadores, las relaciones Fe : Cu no son tan dispares. Una proporción de 10 : 1 se requiere para lograr un máximo en las respuestas hematológicas y de 4 : 1 para maximizar el peso corporal.

3.- UTILIZACION DEL PIENSO POR LOS ANIMALES

También se han hecho estudios sobre los alimentos en gallinas, sugiriendo que los piensos consumidos por las aves se pueden dividir en dos categorías (138). En primer lugar, los utilizados para mantener la vida del animal y

evitar que pierda peso o "necesidades de mantenimiento", y en segundo lugar los utilizados para cubrir las "necesidades de producción", es decir, la cantidad de alimento ingerido que será utilizada para la producción de carne, huevos, etc.

Las necesidades de mantenimiento aumentan con el peso del animal (138), habiéndose demostrado que las aves utilizan para este fin un 65 % de los alimentos ingeridos durante el primer mes de vida, un 75 % en el segundo mes, un 80 % en el tercero, un 85 % en el cuarto y un 90 % en el quinto. Estos datos hacen resaltar el requerimiento de una abundante alimentación en las aves destinadas a la producción de carne. Por el contrario, cuando se alcanza la madurez sexual el tamaño corporal varía más lentamente, de modo que puede restringirse algo la alimentación, a fin de que crezcan a una velocidad ligeramente subóptima, lo que comporta un cierto ahorro de pienso.

Los machos, por cuestión genética, utilizan más eficientemente el pienso, convirtiéndolo en carne, que las hembras factor muy considerado, a consecuencia del rápido desarrollo de la industria de producción de Broilers, en la que se utilizan dietas ricas en energía (Hidratos de Carbono), suplementadas con antibióticos en la mayoría de los casos. La adición de éstos no solo aumenta el ritmo del crecimiento en peso vivo, sino también la eficiencia en la conversión del pienso (esto solo sucede en polluelos).

Las aves deben recibir una alimentación que cubra las necesidades de mantenimiento, esté o no en puesta. Cada huevo supone el consumo de cierta cantidad de alimento, calculada en 40 g por 66 g de huevos, aproximadamente. Es por tanto evidente que cuanto mayor sea la producción de huevos, más eficiente debe ser el animal como elemento transformador de piensos. Se sabe que las razas más pesadas necesitan una cantidad superior de alimento para cubrir sus necesidades de mantenimiento que las razas ligeras (138, 279).

En los animales reproductores la eficiencia de la

utilización de los alimentos se ve forzada a grandes extremos, ya que en estos animales es de la mayor importancia la rapidez e intensidad con que transfieren al huevo los diferentes factores indispensables.

3.1.- NECESIDADES Y METABOLISMO PROTEICO

La ingestión de proteína proporciona a los organismos, y en concreto a las aves, una fuente de nitrógeno, constituyente esencial de la carne, huesos, piel, plumas y todo el resto de los tejidos corporales. Cuando se administra un exceso de proteína, con respecto a las demandas metabólicas, el resto es desaminado y utilizado para la producción de energía o para la síntesis de grasas, y por tanto, dado el superior valor económico de las proteínas frente a los hidratos de carbono, la determinación de las necesidades mínimas tienen económicamente una importancia considerable.

Las proteínas son hidrolizadas a aminoácidos, algunos de los cuales pueden ser sintetizados por el ave (aminoácidos no esenciales), en tanto que los aminoácidos esenciales como la arginina, cisteína, histidina, lisina, deben incorporarlos con la alimentación.

Las necesidades proteicas son superiores en las primeras edades, cuando el crecimiento es más activo y generalmente disminuyen a medida que el animal se acerca a la madurez; la demanda de proteína es en realidad la expresión de la necesidad de aminoácidos en proporciones adecuadas, y si cada uno más de estos aminoácidos se encuentra en cantidades subóptimas, la velocidad de crecimiento se limita.

El problema es más difícil en el caso de las gallinas ponedoras. Todos los intentos realizados para mantener una puesta normal con dietas en las que la proteína era sustituida por aminoácidos o hidrolizados de proteína, han resultado infructuosos, provocando la detención de la puesta en cuatro días. El procedimiento empleado ha consistido en añ

dir a la dieta, en dosis determinadas, un suplemento proteico a base de alguna proteína pobre en los aminoácidos en estudio (138).

4.- DEFICIENCIA DE HIERRO

La deficiencia de hierro puede presentarse en tres grados según la severidad de la reducción de las reservas en el organismo (Figura 3).

. Inicio del descenso del hierro de reserva del organismo, que se refiere a un simple descenso en los depósitos sin ningún efecto sobre el hierro esencial del cuerpo (carencia de reservas).

. Eritropoyesis ineficaz, por bajo suministro de hierro, lo cual ocurre cuando la suplencia de hierro para el eritrocito de la médula es inadecuada y se produce una anemia muy suave que no se detecta a través de la hemoglobina.

. Anemia por deficiencia de hierro, resultante específicamente de un descenso en la presencia de este metal en el cuerpo: bien por pérdida de sangre, pérdida de hierro en orina con hemólisis intravascular, embarazo, dieta inadecuada o mala absorción del mismo. Este tipo de deficiencia es más común en niños, durante el embarazo o en países subdesarrollados (28).

4.1.- PATOGENESIS

La deficiencia de hierro puede desarrollarse de forma repentina o gradual. Una hemorragia aguda conduce a una rápida caída en el contenido total en hierro en el cuerpo y es seguida por una redistribución del hierro remanente. Un descenso gradual puede ocurrir también como resultado de un balance persistentemente negativo o cuando el balance positivo es insuficiente para cubrir las demandas propias del crecimiento o embarazo.

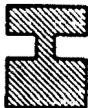
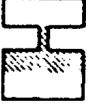
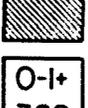
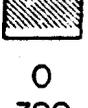
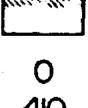
	Normal	Descenso Fe en reserva	Eritropoy. def. en Fe	Anemia por def. en Fe
Reservas de hierro				
Eritropoyesis				
Fe médula (0-6)	2-3+	0-1+	0	0
Transferrina (µg/dl)	330±30	360	390	410
Ferrit. plasmática (µg/l)	100±60	20	10	<10
Absorción de hierro	normal	↑	↑	↑
Fe plasmático (µg/dl)	115±50	115	<60	<40
Saturación transferrínica (%)	35±15	30	<15	<10
Sideroblastos (%)	40-60	40-60	<10	<10
Proto orfirinas (µg/dl)	30			200
Eritrocitos	normal	normal	normal	microcítica e hipocrómica

Figura 3.- Cambios producidos en el contenido en hierro del organismo, en la adquisición gradual de la anemia (28).

Frente a un aumento de la demanda de hierro de cualquier origen, el límite de absorción sube, pero la mayor parte proviene de las reservas de este metal.

Según podemos observar en la Figura 3, la reducción de los depósitos va acompañada de un descenso paralelo de la concentración de ferritina sérica (28, 39) y una subida de la concentración de transferrina plasmática y por tanto de la capacidad total de fijación del hierro. La saturación transferrínica permanece normal mientras los depósitos están quedándose vacíos como resultado de un aumento proporcionado de la concentración de hierro del plasma pero con el agotamiento de éstos la saturación transferrínica disminuye notablemente. A su vez conduce a un menor aporte de hierro hacia el eritroide de la médula y como consecuencia, aparecen los signos de una eritropoyesis deficiente en hierro. La concentración de hemoglobina puede disminuir ligeramen-

mente, pero todavía se consideran valores normales, aunque hay un aumento de células microcíticas (91). Aún después de haberse desarrollado la anemia por deficiencia de hierro, la mayor parte de las células circulantes son normocrómicas y normocíticas pero son gradualmente reemplazadas por una población hipocrómica y microcítica (53). El tamaño de las células depende no solo del tiempo requerido para que la pérdida de la población normal sea reemplazada, sino también de la discrepancia entre la suplencia de hierro y las necesidades de la médula. Por ejemplo, los índices de glóbulos rojos pueden permanecer en el límite normal si la médula es relativamente hipoplástica como en las enfermedades crónicas renales, mientras que un individuo con policitemia aún sin anemia puede tener una marcada microcitosi e hipocromia. Siempre que transcurre un adecuado espacio de tiempo y con tal que sea normal la función de la médula y el estímulo eritropoyético puede esperarse una correlación entre la severidad de la anemia y el cambio en el índice de glóbulos rojos.

La fase anémica de la deficiencia se caracteriza por la disminución de un número de compuestos conteniendo hierro en los tejidos extraeritroides. Esto incluye: mioglobina, citocromos y una variedad de otros enzimas que contienen hierro.

5.- SOBRECARGA DE HIERRO

En contraste con lo dicho sobre la deficiencia de hierro (Apartado 4), la sobrecarga es una condición poco común y aparece solo en situaciones especiales.

Algunas confusiones han resultado de la terminología a este respecto. Hemosiderosis o siderosis indican un incremento de hierro en los tejidos y también se utiliza como "sobrecarga de hierro" generalizada. La denominación de hemocromatosis es usada para describir la sobrecarga masiva con cirrosis y/u otros tejidos dañados a causa también del exce

sivo hierro. De nuevo, la confusión fue resultado de la designación de cirrosis del hígado con ligera y moderada cantidad de hemosiderina considerada como hemocromatosis (28).

5.1.- PATOGENESIS

La sobrecarga de hierro puede ser inducida por absorción excesiva a nivel del tracto gastrointestinal o por su administración parenteral, bien en las transfusiones de sangre o inyecciones de preparaciones de hierro terapéutico.

El exceso de hierro en el organismo puede darse en:

- Las células del sistema retículo endotelial (RE). Los ejemplos más chocantes se han visto en pacientes con anemia aplástica, en que la actividad eritropoyética no es tenida en cuenta, pero acumulan grandes cantidades de hierro por repetidas transfusiones de sangre. Los eritrocitos transferidos son fagocitados por las células RE al final de su vida, y el hierro hemoglobínico es reprocesado en estas células.

La absorción gastrointestinal de hierro es reducida en pacientes con anemia aplástica. En contraste con las muestras de pacientes con tomas de sobrecarga oral, los pacientes con anemia aplástica y sobrecarga de hierro RE muestran poca o ninguna evidencia de disfunción o lesión hepática aún en presencia de depósitos masivos de hierro (30).

La retención de hierro en el sistema RE puede ser acentuada por diversas complicaciones coexistentes. La deficiencia de ácido ascórbico inhibe el abandono de hierro de los depósitos RE (185, 295), y a su vez el catabolismo del ácido ascórbico es acelerado por el hierro férrico.

La inflamación causada por infección bacteriana o alguna forma de lesión en los tejidos está asociada con el abandono de hierro de las células RE (43).

- Las células parenquimáticas, por depósito de

hierro transferrínico; la cantidad captada por unidad de tiempo es directamente proporcional a la concentración de hierro transferrínico (57, 60) siempre que el hierro absorbido supere a las demandas eritropoyéticas. Entre los factores más importantes asociados con la regulación de la absorción del hierro están: la cantidad de hierro alimenticio, la función de la célula del epitelio intestinal, y el límite de eritropoyesis (164), que pueden tener un papel en el desarrollo de la sobrecarga de hierro parenquimal.

El exceso de hierro a través de la dieta se da en un 70 % de la población Bantú adulta de sexo masculino, la incidencia y severidad es máxima en las edades de 40 a 60 años. La mayor parte de este exceso de hierro ingerido deriva de bebidas alcohólicas preparadas en envases de hierro. El balance diario de hierro en esta población es de 1 a 3 mg (161).

Histológicamente, los depósitos hemosiderínicos se observan en hepatocitos así como en las células de Kupffer, y en las células RE del bazo y médula. Mientras la acumulación hepatocelular es probablemente, una consecuencia directa del aumento de la absorción y alta concentración de hierro en el suero, la siderosis RE es debida al hierro hemoglobínico. Una razón para reducir el abandono de hierro RE puede ser la deficiencia de ácido ascórbico que es muy común en esta población (191, 253), y también el incremento de hierro coexistente en otros órganos, reduciendo por consiguiente, la probabilidad de liberar el hierro de las células RE a los receptores libres de la transferrina circulante.

En la mayor parte de estos individuos severamente sideróticos, la cirrosis micronodular es observada solamente en pequeña proporción (31), por lo que Charlton et al. (48) han sugerido que otros factores tóxicos incluido el alcohol, malnutrición, o contaminantes no identificados en las bebidas caseras pueden ser también elementos del desarrollo de cirrosis.

Un interesante cambio en la distribución del hierro corporal ha sido observado por Bothwell et al. (29) siguiendo el desarrollo de la cirrosis inicial en pacientes con sobrecarga de hierro en la dieta.

La cirrosis a menudo es asociada a un excesivo depósito de hierro, aunque no en tanta magnitud como se encuentra en la hemocromatosis idiopática. A causa de esta asociación, el concepto de hemocromatosis idiopática como una entidad clínica diferenciada ha sido defendida por MacDonald (193, 194), sugiriendo que es el resultado final de un conjunto de anomalías en que la absorción y distribución de hierro en los órganos no es normal. Esta hipótesis es rechazada por varios investigadores (21, 47, 122, 171), pero representa una mayor contribución para el estudio de dichas anomalías.

La sobrecarga de hierro en la cirrosis es multifactorial, relacionando los factores que inician la disyunción del hígado tales como alcohol y deficiencia en la nutrición. El alcohol estimula la absorción de hierro en sujetos normales. Este efecto es probablemente indirecto, aunque estimula la secreción de ácido clorhídrico que a su vez aumenta la solubilidad de hierro férrico y su disposición para la absorción (49). El contenido en hierro en hígado en los consumidores crónicos de alcohol fue alto en algunos estudios (239) pero en otros era normal (189, 190). Estos resultados aparentemente conflictivos pueden ser explicados por las diferentes bebidas alcohólicas.

Aún cuando el papel del páncreas en la absorción del hierro es controvertida, es razonable mantener que parte del aumento de la absorción de hierro en pacientes cirróticos puede ser motivada por insuficiencia pancreática (304).

La deficiencia de ácido fólico es común en pacientes alcohólicos y con cirrosis, y parece ser responsable del incremento de los depósitos de hierro (75, 124, 125, 145).

La hemocromatosis idiopática fue definida por Sheldon en 1935 (258) como un error innato del metabolismo del

hierro basado en estructuras clínicas y patológicas. Aún cuando este concepto es casi universalmente aceptado, el defecto señaladamente bioquímico no ha sido todavía establecido (21, 47, 122). En general se tiende a identificar con una lesión específica, responsable de una alta e inapropiada absorción de hierro relacionada con factores lumenales gastrointestinales y con la función de las células mucosales (293).

También fueron sugeridos, pero no confirmados, la secreción anormal pancreática (25, 67), un factor gástrico que promueve la absorción del hierro (218) y la ausencia de inhibidores gástricos específicos para dicha absorción (69).

Por estar la transferrina sérica frecuentemente reducida en pacientes con hemocromatosis idiopática, Blanc y Vannotti (27) han propuesto una concordancia congénita de síntesis transferrínica como subrayando un defecto metabólico en esta enfermedad. Sin embargo la transferrina es reducida en todas las condiciones con exceso de almacenaje de hierro, y alcanza valores normales cuando los depósitos de hierro se vacían (41).

6.- OBJETO DEL TRABAJO

Al observar la existencia de pocos trabajos realizados en gallinas (*Gallus domesticus*) sobre el contenido y distribución de hierro, así como sobre el metabolismo y requerimientos de este metal, orientamos nuestro estudio hacia la observación de posibles variaciones del:

- 1º - Contenido y distribución del hierro
- . en función de la edad
 - . en función del sexo
 - . y en el momento de la puesta
- en los principales órganos y tejidos del animal:
- . hígado
 - . bazo
 - . riñones
 - . corazón
 - . músculo esquelético
 - . intestino delgado: duodeno, yeyuno e íleon
 - . plumas
 - . líquido de perfusión (sangre más ClNa 0.9%)
 - . carcasa
- 2º - Contenido en hierro ferritínico en hígado y bazo
- . en función de la edad
 - . en función del sexo
 - . y en el momento de la puesta
- 3º - Balance metabólico
- . en función de la edad
 - . en función del sexo
 - . y en el momento de la puesta
- 4º - Distribución del hierro y balance metabólico en función del contenido en hierro en las dietas
- . a las 13 semanas: machos y hembras
 - . a las 24 semanas (hembras en estado de puesta)
- 5º - Determinación del contenido en hierro ferritínico en hígado y bazo en función del contenido en hierro en las dietas
- . a las 13 semanas: machos y hembras
 - . a las 24 semanas (hembras en estado de puesta)



Las experiencias se llevaron a cabo con gallinas pertenecientes a la raza Shaver, genéticamente seleccionada como ponedora, a las siguientes edades: 4, 8, 13 y 18 semanas, machos y hembras, y gallinas en puesta (24 semanas).

Escogimos (en los apartados 4º y 5º) las dos edades citadas, ya que a las 13 semanas son animales aún no adultos sexualmente, y en el segundo caso, sabemos que la puesta modifica el metabolismo del hierro.

El número de animales por cada edad y sexo fue de nueve.

MATERIAL Y MÉTODOS

PRIMERA PARTE: DISTRIBUCION DEL HIERRO EN ORGANOS.
 =====

1.- ANIMALES E INSTALACIONES

1.1.- ANIMALES

Los experimentos para el estudio de la distribución del hierro en los diferentes órganos se realizaron con gallinas de ambos sexos, de raza Shaver adquiridas el mismo día de su nacimiento, procedentes de una granja avícola comercial, manteniéndolas en nuestras instalaciones hasta el momento en que alcanzaron la edad adecuada para realizar las pruebas.

El trabajo se llevó a cabo con grupos de 9 animales:

- . machos en función de la edad: 4, 8, 13 y 18 semanas.
- . hembras también en función de la edad: 4, 8, 13 y 18 semanas.
- . y con gallinas en período de puesta: 24 semanas.

La raza Shaver ha sido seleccionada genéticamente como ponedora. A las 18 semanas, las hembras de esta raza se les considera gallinas en estado de pre-puesta y a la edad de 20 semanas inician la puesta (oscilando más o menos una semana dependiendo de la época del año). De aquí que a las 23 ó 24 semanas, alcanzan el 83 % de la producción de huevos.

1.2.- INSTALACIONES

El estabulario estaba dotado de dos dependencias para uso exclusivo de aves. En una de ellas se instalaron los pollitos recién nacidos donde permanecieron hasta las 4 semanas de edad. La segunda habitación estaba destinada para los ejemplares grandes.

Las jaulas para aves pequeñas eran de acero inoxidable, de unas dimensiones tales capaces de albergar a 30 a

nimales cada una. Más tarde se colocaron en jaulas metálicas individuales montadas en batería. Todas ellas poseían comederos similares, con un sistema automático para la distribución del agua.

1.3.- AMBIENTACION

La temperatura, humedad, iluminación y ventilación del estabulario, fueron cuidadosamente atendidos. Procuramos mantener una temperatura ambiental de 33 - 35 °C durante los primeros días de vida, pasando a ser más tarde de 22 - 23 °C. La humedad relativa era del 50 % durante las primeras 4 semanas y posteriormente del 60 %, lo que contribuye a la formación de un buen plumaje. La iluminación se controló mediante un sistema automático, el cual estaba programado para dos períodos: luz-oscuridad, de 12 horas de duración cada uno, verificándose el cambio a las 7 de la mañana. La limpieza de comederos, bebederos y suelo de las habitaciones se cuidó rigurosamente. De esta manera logramos un buen control de las enfermedades, reduciendo al mínimo el número de bajas.

2.- DIETAS Y CRECIMIENTO

2.1.- DIETAS

Los animales tenían a su disposición agua y pienso "ad libitum".

El agua para la bebida estaba sometida a un tratamiento previo para evitar el crecimiento bacteriano.

El alimento que se les administraba era un pienso comercial en polvo para aves, marca Hens, cuya composición era la siguiente:

Cloruro Sódico	0.353 %	0.42 %
Calcio	0.90 %	2.00 %
Fósforo	0.79 %	0.60 %
Hierro	160 mg/Kg	150 mg/Kg
Cobre	12 mg/Kg	12 mg/Kg
Manganeso	75 mg/Kg	70 mg/Kg
Zinc	110 mg/Kg	58 mg/Kg
Iodo	0.80mg/Kg	0.40 mg/kg

Como podemos observar, nuestros animales fueron alimentados con unas dietas, cuyo contenido en hierro era de 160 ppm, a excepción de las gallinas en puesta, en que su contenido en hierro, era de 150 ppm.

2.2.- CONTROL DEL CRECIMIENTO

La supervisión del crecimiento se llevó a cabo con gran atención. Semanalmente, a partir del día de su nacimiento, se pesaron los animales uno por uno, anotándose el peso medio del lote. Dicho registro se realizó siempre a primera hora del día, diferenciando los machos de las hembras. El peso de las aves, hasta las 13 semanas de edad, se comprobó con una balanza Ohaus de tres vigas, modelo 301 cuya carga máxima era 2610 g y sensibilidad 0.1 g. Cuando los pollos llegaron a la edad adulta (más de 13 semanas) utilizamos una balanza semiautomática Cely cuyos márgenes de pesada oscilan desde 40 hasta 5000 g. , la cual posee un plato hondo muy útil para pesar animales de talla grande.

2.3.- CONTROL DE LA PUESTA

A cada gallina correspondía una ficha, en la que se anotaban tanto los días de puesta como los de descanso, con el fin de precisar su secuencia.

3.- TECNICAS EXPERIMENTALES

Una vez alcanzada la edad apropiada para la realización de las pruebas, los animales permanecieron 24 horas en ayunas, disponiendo de agua libremente, con el fin de que el intestino quedara limpio de residuos.

3.1.- ANALISIS HEMATICOS

Después de anotar el peso en ayunas, se extrajeron 2 ml de sangre por punción en la vena radial, con una jeringa previamente heparinizada. Una parte de la sangre se destinó a la determinación del hematocrito y a la concentración de hemoglobina. La otra parte se centrifugó durante 15 minutos con una centrífuga de sobremesa Christ, Universal Junior I, a 1500 g. Del plasma así obtenido, se tomó una alícuota para valorar el contenido en hierro plasmático.

3.1.1.- HEMATOCRITO

El micro-hematocrito fue realizado con tubos capilares heparinizados de 70 mm de longitud, centrifugados a 14000 g durante 5 minutos, en una centrífuga Heraeus Christ Haemofuge, con regulador de tiempo de 1 a 15 minutos equipada con escala de lectura, y con una fuerza máxima de 15000g.

3.1.2.- HEMOGLOBINA

La concentración de hemoglobina se determinó por el método espectrofotométrico de Drabkin y Austin (81), utilizando una muestra de 20 μ l. Este método se basa en medir la cantidad de cianmetahemoglobina presente en la muestra de sangre diluida y la coloración se lee a una longitud de onda de 540 nm.

3.1.3.- SIDEREMIA

Para la determinación del hierro ligado a las proteínas plasmáticas (el hierro está en forma de ion férrico), se usó el método de Ramsay (244). Por acción del sulfito sódico se reduce el Fe^{+++} a Fe^{++} y este último, forma un complejo de color rosa, con el compuesto orgánico α - α' dipiridilo, el cual se lee al espectrofotómetro Hitachi Perkin Elmer 139, a una longitud de onda de 520 nm. Este proceso se da en medio ácido, lo que provoca la desnaturalización de las proteínas, precipitando y liberando el hierro que retenían.

Previamente se trazó una curva de calibrado, empleando soluciones patrón de sal de Mohr, $(SO_4Fe-SO_4(NH_4)_2-6H_2O)$ de la casa Merck, de 100, 200 y 400 μg de hierro / 100 ml.

3.2.- ANESTESIA

Basándonos en trabajos realizados anteriormente en nuestro laboratorio (195, 197, 249,250), los animales fueron anestesiados con Hidrato de Cloral (76, 111) al 6 % en suero fisiológico, administrado por vía intramuscular a la dosis de 300 mg/Kg. Previamente se había comprobado que el efecto de dicha dosis era suficientemente prolongado (más de seis horas) y que el 100 por 100 de los animales despertaban normalmente sin observarse ninguna alteración posterior a causa del anestésico (209).

3.3.- PERFUSION DEL SISTEMA CIRCULATORIO

3.3.1.- CANULACION DE LA CAROTIDA

Dejando libre de plumas la región lateral derecha del cuello, se realizó una incisión de unos 5 cm a lo largo

del mismo. Con la ayuda de un par de pinzas, separamos la musculatura superficial, hasta dejar al descubierto la carótida correspondiente a dicha zona. Fácilmente por disección, se aisló el nervio vago adosado a la misma. A fin de cortar el flujo sanguíneo, efectuamos dos pinzamientos en la carótida, entre ambos se practicó un pequeño corte introduciendo un catéter previamente heparinizado en dirección a la cabeza, éste sería el catéter de entrada del líquido de perfusión. Una segunda cánula heparinizada, se colocó en dirección opuesta con el fin de recoger la sangre diluida (suero fisiológico más sangre). Ambas cánulas se fijaron mediante ligaduras.

Las cánulas o cateters utilizados correspondían a dos medidas diferentes, dependiendo del tamaño del animal. Para las dos primeras edades el diámetro externo era de 1.5 mm pasando a ser de 2.5 mm para el resto de los animales.

3.3.2.- METODO DE PERFUSION

La perfusión con suero fisiológico heparinizado (25.000 U.I./1) a 40 ° C, se llevó a cabo mediante una bomba peristáltica Gilson Minipuls II modelo Hp con 4 canales. La impulsión del líquido se realizó mediante variador eléctrico con rodillos de precisión de acero inoxidable y ajuste de presión individual para cada canal. El volumen de líquido de perfusión dependía del tamaño del animal (10 % de su peso corporal) procurando un buen lavado de todo el sistema circulatorio. La presión y velocidad del líquido de perfusión se ajustaron de tal manera, que no se formaran turbulencias en el circuito y al final, se anotó el volumen recogido del mismo.

3.4.- EXTRACCION DE ORGANOS Y TEJIDOS

Después de desangrar el animal, se procedió a su desplume total anotando el peso de las plumas.

Seguidamente se practicó una incisión en la parte abdominal, por debajo de la quilla con el fin de extraer los siguientes órganos: hígado, bazo, corazón, riñones e intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon). También se tomó una muestra de músculo pectoral. Los órganos e intestino se lavaron con suero fisiológico y se anotó el peso de cada uno de ellos, así como la longitud y el diámetro externo de los diferentes tramos intestinales. El resto del animal o "carcasa" también se pesó.

Para la obtención del peso húmedo de los órganos, utilizamos la balanza Mettler PC 2200 Delta Range cuya sensibilidad era de 0.01 g.

3.4.1.- TOMA DE MUESTRAS

3.4.1.1.- Tamaño

El contenido en hierro se valoró en muestras por duplicado o cuatriplicado (para el caso del homogenado de la carcasa) cuyos pesos húmedos estaban comprendidos entre 0.5 y 1 gramo. Dicha materia se pesó directamente en tubos largos de vidrio (Pirex) mediante una balanza analítica Sartorius modelo 2400, cuya sensibilidad era de 0.0001 g.

3.4.1.2.- Elección de muestras

Hígado La distribución del hierro en el hígado no es homogénea, por ello la valoración del mismo se realizó en alícuotas tomadas al azar, correspondientes a sus dos lóbulos.

Bazo De este órgano se tomó una muestra, correspondiente a la mitad del mismo.

Debemos indicar que los restos de hígado y bazo se guardaron congelados a -30°C a fin de realizar posteriores análisis.

Sangre Del líquido de perfusión recogido (sangre diluida en suero fisiológico) se tomó 1 ml.

Riñones La muestra se tomó al azar, después de que los riñones hubieran sido troceados.

Corazón En este órgano no se observan diferencias en la distribución del hierro, por ello, siempre tomamos una muestra del ápice inferior.

Músculo pectoral Fue el seleccionado como representante del tejido muscular.

Intestino delgado Según Sturkie (268) y comprobado por nosotros, en los pollos es difícil delimitar las tres partes del mismo (duodeno, yeyuno e íleon) y procedimos a la toma de muestras del siguiente modo:

a) Duodeno: la alícuota se tomó del punto medio del asa duodenal (de 10 a 15 cm a partir del píloro).

b) Yeyuno: la localización de esta muestra se hizo a 15 cm del asa duodenal.

c) Ileon: la muestra correspondiente a este tramo se tomó 15 cm antes de llegar a los ciegos.

Plumas Para evitar un error en la toma de sus muestras, dado que la distribución del hierro varía según la clase de plumas, la alícuota se tomó una vez mezcladas y troceadas las diferentes clases de plumas.

Carcasa El resto del animal o "carcasa" se trituroó con una picadora de carne industrial (Milano) dotada de una potente cuchilla para triturar incluso las partes más duras del animal. Repetíamos este proceso cuatro veces, hasta lograr una masa homogénea. De este triturado se tomaron las alícuotas.

3.4.1.3.- Secado de muestras

Los tubos con los órganos y tejidos se colocaron en una estufa (Selecta) para deshidratar la materia orgánica, donde permanecieron un mínimo de 48 horas a 80 ° C. Al cabo de este tiempo, se volvió a realizar una segunda pesada a fin de obtener el correspondiente peso seco.

3.5.- DETERMINACION DEL HIERRO EN DIFERENTES ORGANOS Y TEJIDOS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA.

La técnica empleada fue la descrita por Theron et al. (277) modificada de acuerdo con las necesidades concretas de nuestro trabajo y aparatos disponibles. Las determinaciones fueron realizadas en el Servicio de Espectroscopía de la Universidad de Barcelona. Se utilizó esta técnica, debido a su gran sensibilidad y precisión.

3.5.1.- FUNDAMENTO

La absorción de energía por los átomos es un fenómeno físico y constituye una propiedad predecible y medible.

Los átomos que se someten a una temperatura determinada pueden experimentar una excitación térmica que proyecta un electrón desde su órbita periférica normal a una órbita externa. El átomo queda así excitado en un estado inestable. Al volver al estado inicial se desprende energía. Esta es la que se aprovecha en la fotometría de emisión de llama. Pero la mayoría de átomos no quedan excitados.

En la espectrofotometría de absorción atómica cuando un haz de luz pasa a través de una llama sobre la que se ha pulverizado la solución de la muestra, los átomos que no han sido excitados absorben dicha radiación. Esta absorción es selectiva y depende de la concentración del elemento en la muestra.

Nuestras disoluciones se leyeron mediante el espectrofotómetro de absorción atómica y fotometría de llama de aire-acetileno (Pye Unicam Modelo SP-1900 de doble haz con lámparas de cátodo hueco), a una longitud de onda de 248.3 nm, sensibilidad en agua 0.05 µg/ml. Zona óptima de calibrado de 1-10 µg/ml.

3.5.2.- DIGESTION ACIDA

A las muestras de materia seca añadimos una mezcla de ácidos minerales concentrados (Carlo Erba) para producir la oxidación de la materia orgánica que constaba de: ácido nítrico, ácido perclórico y ácido sulfúrico (3 : 1 : 1) a unas concentraciones del 70, 60 y 96 % respectivamente. El grado de impureza de hierro era despreciable. Esta mezcla tiene la ventaja de ser de las menos explosivas, aunque la presencia del ácido sulfúrico puede causar un ligero descenso en la sensibilidad del aparato. Sin embargo, Debido al pequeño volumen empleado y a las posteriores diluciones, su presencia era mínima.

Después de introducidas las muestras en la solución ácida y de añadirles tres bolitas de cristal, evitando así la ebullición, se colocaron en un baño de arena termostático (Selecta) donde permanecieron 24 horas a 150 °C. En este tiempo las soluciones se volvían transparentes.

Una vez enfriadas y a fin de eliminar posibles interferencias de otros iones metálicos (Na y Ca), se les adicionó 1 ml de cloruro de lantano al 10 % p/v y se enrasó todo ello a 20 ml con agua destilada. De esta forma, el contenido en hierro quedaba comprendido dentro de los límites de detección del aparato.

Para asegurarnos de que no existían restos de materia orgánica, filtramos las soluciones con papel de filtro Whatmann nº 541.

La determinación del contenido en hierro total en el pienso se valoró de forma análoga a la de los órganos,

pero teniendo en cuenta que la muestra fuera uniforme, debido a la textura de la misma.

Todo el material utilizado en estas técnicas, fue minuciosamente lavado, a fin de eliminar toda traza de hierro. Se empleó el detergente Dabeer que contiene EDTA. Antes de pasarlo por agua destilada el material permaneció durante un mínimo de 12 horas en ClH 6N.

3.5.3.- VALORACION DEL HIERRO

La curva patrón se realizó cada vez que se efectuaba una digestión. La solución Standard que se utilizó era tritisol de la casa Merck (1000 $\mu\text{g Fe/ml}$), la cual se diluyó a 50 $\mu\text{g Fe/ml}$ y los puntos de la recta de referencia correspondían a:

12.5 25 50 100 $\mu\text{g Fe / ml}$

El blanco solo contenía los ácidos, el cloruro de lantano y agua destilada, enrasado a 20 ml.

Los microgramos de hierro por gramo de peso seco se calcularon a partir de la siguiente equivalencia:

$$\frac{\text{X ppm / 20 ml}}{\text{Peso seco muestra (g)}} = \mu\text{g Fe/g peso seco}$$

3.6.- DETERMINACION DEL HIERRO FERRITINICO EN HIGADO Y BAZO

Se siguió el método utilizado por Hill (148) y posteriormente modificado por Drysdale y Munro (83).

3.6.1.- TECNICA

Muestras de 2 g de peso húmedo de hígado y de bazo se homogenizaron en la proporción 1 : 4 (w/v) con agua

destilada en un aparato tipo Brawn Melsungen, con varilla de teflón. El homogenado lo trasladamos a tubos de centrífuga, los cuales se calentaron suavemente con movimiento continuo en baño de agua (Tectron) hasta alcanzar paulatinamente los 70-80 °C. Tiempo de duración 20 minutos.

Después de enfriarlos hasta 4 °C, la proteína desnaturalizada se concentró por centrifugación a 1500 g durante 15 minutos recogiendo la fracción sobrenadante, filtrándola a continuación para eliminar pequeños residuos removidos al decantar. También anotamos su volumen, que se midió mediante tubos graduados.

La ferritina que contenía el sobrenadante se trató mediante $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ al 50 % de saturación y se guardó a 4 °C durante 12 horas, para conseguir una precipitación completa. Seguidamente se centrifugó a 2500 g durante 15 minutos y el precipitado se disolvió con agua destilada en la proporción 1:1 (v/v).

3.6.2.- VALORACION DEL HIERRO FERRITINICO EN HIGADO Y BAZO

A una muestra de 0.5 ml se le añadió 0.4 ml de ClH 1N y 1.5 ml de agua destilada y se incubó a 100 °C durante 20 minutos.

Una vez fríos los tubos, se les adicionó 0.5 ml de Na_2SO_3 (Merck) 1.5M como reductor del hierro y 0.25 ml de dipiridilo de la casa Merck y 0.1 % de acético al 6 % (v/v) como solución cromógena. Enrasado todo ello hasta un volumen de 5 ml con agua destilada, se trasladó a tubos con tapón de rosca y nuevamente se incubó a 100 °C durante 30 minutos para desnaturalizar la proteína y liberar el hierro, apareciendo el color rosado característico.

Después de enfriar las muestras, se centrifugaron a 1000 g para eliminar los restos de proteína.

La lectura se realizó en un espectrofotómetro a 520 nm frente a un blanco que contenía los mismos reactivos que las muestras, y el mismo volumen final. Para los patrones, la solución standard que se utilizó fue "tritisol" (Merck) con una concentración de 1000 μg de Fe/ml la cual se diluyó a

5 10 20 y 40 μg Fe / ml

Los patrones fueron sometidos al proceso ya descrito.

A continuación se calculó el hierro ferritínico presente en el hígado y bazo, teniendo en cuenta el peso húmedo de la muestra de la cual procedía la ferritina.

3.6.2.1.- Eliminación de las trazas de hierro

del sulfato amónico $(\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$)

Para eliminar el hierro del $(\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ se utilizó una solución acuosa saturada (75 g / 100 ml) a la que se añadió:

- . γ -fenantroleno al 0.01 %
- . Tiosulfato sódico 7.5 mM
- . Acido sulfurico 25 mM

Todo ello calentado a baño maría.

El complejo Fe-fenantroleno fue extraído con propanol-2 y el exceso de alcohol se evaporó al hervirlo. La solución se ajustó a pH 7 calentando en presencia de un ligero exceso de amoníaco acuoso.

Para eliminar toda traza de hierro, el material utilizado permaneció un mínimo de 12 horas en ClH 6N después de que se hubiera lavado con detergente Dabeer. Al final se aclaró varias veces con agua destilada.

4.- EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Las unidades en que están expresados el hematocrito, hemoglobina y sideremia son en: %, g/100 ml de sangre y $\mu\text{gFe}/100$ ml de plasma, respectivamente.

Los pesos de los diferentes órganos y tejidos se han indicado en gramo y el contenido en hierro se expresó en μg por gramo de peso seco o en mg por órgano total. El peso relativo de cada órgano se indica en tanto por cien (%).

La longitud y diámetro externo de los diferentes tramos intestinales se han tabulado en centímetros.

Los valores de hierro obtenidos en el líquido de perfusión (sangre diluida en suero fisiológico) se han utilizado para el cálculo de hierro total por animal. Lo mismo hay que decir respecto a la carcasa. Las unidades de ambos parámetros son en mg.

El hierro total del animal se obtuvo a partir de las sumas parciales calculadas en el análisis de cada órgano y tejido: hígado, bazo, riñones, corazón, muestras de músculo pectoral, duodeno, yeyuno e íleon y plumas, más el encontrado en el líquido de perfusión y en la carcasa.

El peso del animal en ayunas está expresado en gramos y su contenido en hierro en mg en el animal entero o en μg por gramo de animal.

Cuando en las tablas aparezca el concepto de hierro total, nos referimos al correspondiente hierro no hemínico.

5.- VALORACION ESTADISTICA

Para el estudio estadístico de los datos, se calculó, en primer lugar, el valor medio y el error standard para cada uno de los grupos los cuales se representan en todas las Tablas y Figuras.

Para comparar la media de dos grupos, se utilizó el test de "t" (basado en la distribución t de Student) que es un test paramétrico ya que asume que las observaciones realizadas son independientes y que los grupos estudiados están distribuidos normalmente y tienen desviaciones standard iguales.

Cuando se trataba de comparar simultáneamente las medias de "K" grupos, aplicamos el análisis de la varianza que permite decir si las medias de las variables aleatorias definidas en las "K" poblaciones son iguales o no.

El método consiste en lo siguiente: si tenemos "K" muestras

$$y_{11}, y_{22}, \dots, y_{1n_1}$$

$$y_{21}, y_{22}, \dots, y_{2n_2}$$

$$\dots \dots \dots$$

$$y_{k1}, y_{k2}, \dots, y_{kn_k}$$

$$m = n_1 + n_2 + \dots + n_k$$

y representamos por \bar{y}_i la media de la muestra en la población i y por \bar{y} la media total de todas las variables observadas, el criterio para decidir si las variables tienen la misma media consiste en calcular el estadístico:

$$F = \frac{\sum_{i=1}^K n_i (y_i - \bar{y})^2 / (K - 1)}{\sum_{i \neq 1} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2 / (m - K)}$$

que sigue una distribución F de Fisher-Snedecor con (K - 1, n - K) grados de libertad. Y después fijado ϵ , nivel de significación, se determina F_ϵ tal que $P(F > F_\epsilon) = \epsilon$. Si $F > F_\epsilon$ se rechaza la hipótesis de ser iguales las medias de las poblaciones.

Una vez comprobado que no todas las medias son iguales pasamos a comparar las medias de las poblaciones por el método de comparaciones múltiples entre pares de grupos de Bonferroni, ya que el análisis de la varianza no especifica la diferencia entre grupos, construyendo intervalos de confianza para los parámetros que representaban a la media de la población.

La estimación de los parámetros la realizamos mediante intervalos de confianza que son los valores que pueden tomar los parámetros con probabilidad $1 - \alpha$, siendo α el nivel de significación elegido.

La dependencia lineal entre dos variables la hemos representado a través de rectas de regresión, que nos permiten obtener valores aproximados de una variable en función de la otra. El grado de dependencia lineal se midió con el coeficiente de correlación (66).

Los cálculos estadísticos fueron realizados con el paquete de programas BMDP programa P2V.

Los niveles de significación obtenidos al aplicar ANOVA, Bonferroni y el test de "t" de Student quedan especificados al pie de cada una de las Tablas. En las Figuras se han señalado de la siguiente manera: primeramente se estableció un código asignando una letra en mayúscula: A, B, C, D y E a cada edad y sexo: 4, 8, 13, 18 y 24 semanas respectivamente. Las diferentes iniciales se inscriben en la parte superior de la Figura en orden creciente. Si el análisis de la varianza no da significación las iniciales van acompañadas de las letras NS. Si por el contrario ANOVA da significación se aplicó el test de Bonferroni quedando especificado de la siguiente manera: las letras no subrayadas por una misma línea significa la existencia de diferencias significativas entre los grupos que las representan. Finalmente, las variaciones entre animales de la misma edad y diferentes sexo se analizan por el test de "t" de Student los niveles de significación se representan mediante asteriscos de tal forma que * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$.

SEGUNDA PARTE: PRUEBAS METABOLICAS
=====

1.- ANIMALES Y DIETAS

Los animales fueron adquiridos el mismo día de su nacimiento en una granja avícola comercial.

Las condiciones a las que se sometieron las aves, así como el control de crecimiento y puesta, y las dietas alimenticias, fueron similares a las descritas anteriormente en el apartado 1.2 y 2 de la primera parte.

Las pruebas se realizaron en los siguientes grupos:

- . machos: 4, 8, 13 y 18 semanas
- . hembras: 4, 8, 13 y 18 semanas
- . y hembras en puesta de 24 semanas

El número de ejemplares para cada edad y sexo fue de nueve.

Los pollos permanecieron en jaulas de acero inoxidable con pienso y agua "ad libitum" excepto durante cinco días consecutivos en distintos momentos de su desarrollo en que se colocaron en cajas metabólicas de metacrilato transparente y desmontables. Los dos primeros días sirvieron para que se acostumbraran a su nuevo medio.

2.- CAJAS METABOLICAS

Fue necesario emplear dos tamaños de cajas, ambas semejantes en sus características fundamentales. Las medidas de ancho, largo y alto fueron de: 22 cm X 22 cm X 26 cm para las pequeñas y de 31 cm X 46 cm X 53 cm para las grandes.

La caja pequeña sirvió para las pruebas que realizamos con los animales de 4 y 8 semanas, para el resto de edades (13, 18 y 24 semanas) se utilizó la de mayor tamaño. En ambos casos la capacidad de cada caja era tal que el ave podía permanecer dentro de ella con suficiente olgura.

Las cajas metabólicas (Figura 4) estaban consti-

tuidas por las siguientes piezas:

- a) Cuerpo o armazón
- b) Comedero y bebedero
- c) Suelo
- d) Rejillas

a) Cuerpo o armazón. - Constaba de las cuatro paredes formando un bloque. En una de ellas, a 17 ó 33 cm de altura (dependiendo del tamaño de la caja), existían dos oquedades de 3.5 cm X 3.5 cm en la pequeña y de 7 X 7 cm en la mayor que posibilitaban el paso de la cabeza, con el fin de alcanzar la comida y bebida. A dichas alturas, por el exterior de la caja, se acoplaron dos recipientes que sirvieron uno de comedero y otro de bebedero.

La ventilación del interior de las cajas se logró por medio de unos orificios presentes en las tres paredes restantes, a partir de 6 cm del suelo, así como también por su parte superior.

El diámetro de cada orificio era de 1 cm en ambas cajas y la distancia entre dos orificios consecutivos de 1 y 4 cm respectivamente.

b) Los comederos y bebederos eran idénticos en forma y volumen para cada tamaño de caja, con una capacidad de 250 y 700 cm³ según el caso. Ambos envases permanecieron tapados por la parte exterior a fin de evitar una posible contaminación con el polvo ambiental.

c) El suelo lo formaba una pieza única con una pared a su alrededor de 5 cm de altura, en el extremo de la cual existía una ranura donde se insertaba el armazón.

d) A distintas alturas de la base del suelo, se colocaron dos tipos de rejillas de diferentes características. La más próxima al animal situada a 5 cm de la base, poseía una trama con un paso de luz de 1.5 X 2.8 cm ó de 3.5 X 3 cm y tenía como función, impedir que las patas del ave estuvieran en contacto con sus excrementos. La segunda reji

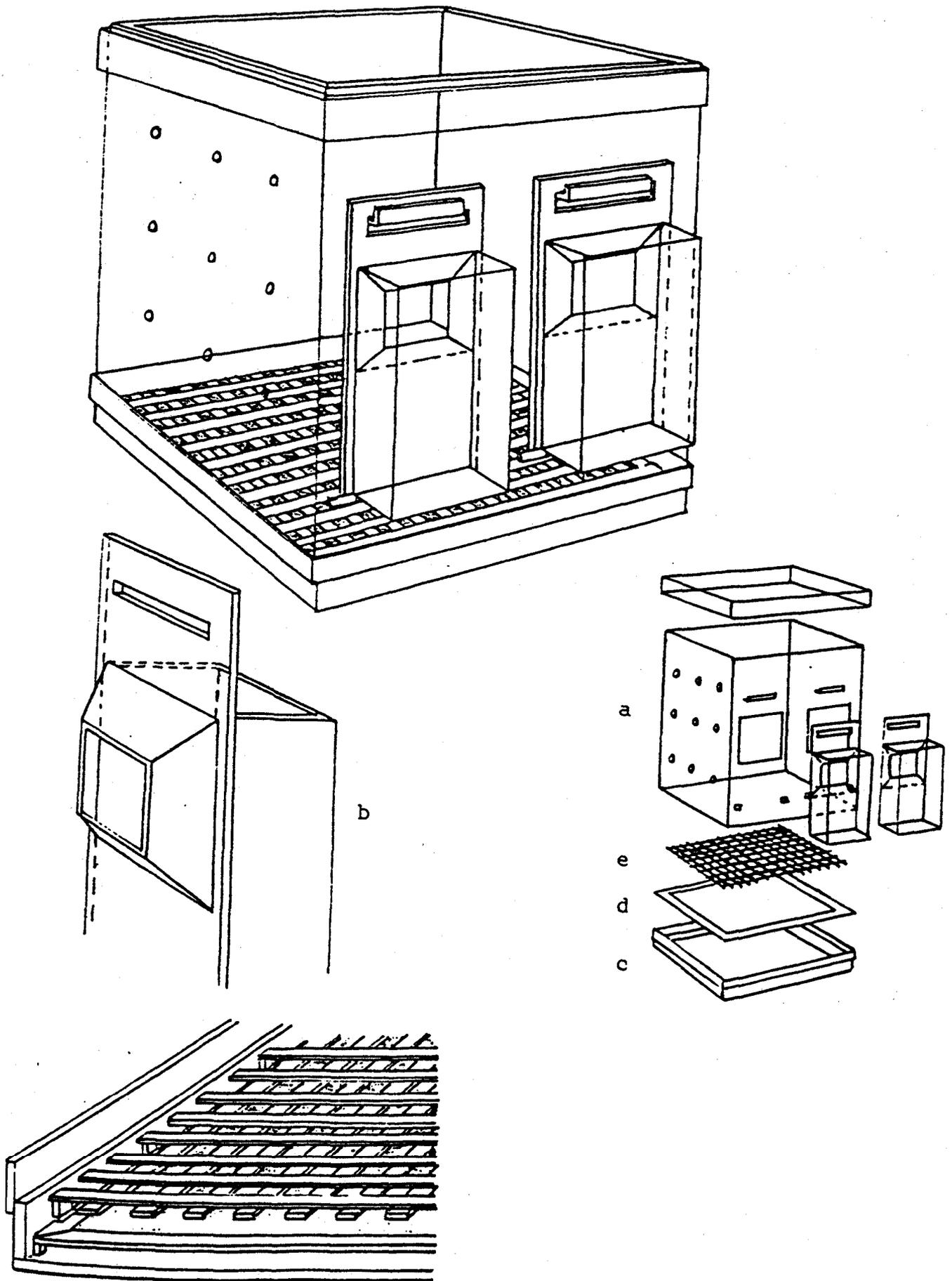


Figura 4 .- Cajas metabólicas: Visión general y de cada una de sus piezas.

lla, igual para las dos cajas, estaba situada a 1 ó 3 cm por debajo de la anterior; era de tela mosquitera plastificada con un paso de luz de 2 mm, a fin de retener los productos de excreción, descamación y plumas desprendidas del cuerpo del animal, sin embargo dejaba pasar el pienso desperdiciado por el ejemplar mientras comía.

La parte superior de la caja se cubría con un papel de filtro sujetándolo mediante un bastidor de plástico. La misión del papel era evitar la contaminación del interior de la caja por el polvo ambiental.

3.- TECNICA EXPERIMENTAL

Una vez montadas las cajas metabólicas y antes de introducir el ave en las mismas, se anotaba siempre a primera hora de la mañana:

- . El peso corporal del animal.
- . El volumen de agua que se ponía en el bebedero.
- . Y la cantidad de pienso disponible en el comedero.

Al cabo de 24 horas se pesaba de nuevo el animal y se medía el agua y el pienso no ingeridos. Si se encontraba pienso caído en el suelo de la caja, se recogía cuidadosamente añadiendo su peso al del comedero a fin de no alterar la cantidad de pienso ingerido. La comida y bebida consumida se podía calcular por diferencia entre las dos pesadas.

En los tres días restantes, se controló además el peso de los excrementos junto con los productos de descamación y plumas desprendidas. A continuación formamos mediante un mortero una masa homogénea añadiendo agua destilada en la proporción 2 : 1 (W / V).

4.- APARATOS

Para obtener la cantidad de alimento ingerido, el peso de los excrementos y de los pollos de 4 y 8 semanas, utilizamos la balanza OHAUS. Las aves de 13, 18 y 24 semanas se pesaron con la balanza semiautomática CELY. Las características de ambas están descritas en el apartado 2.2 de Material y Métodos de la primera parte.

5.- LAVADO DE MATERIAL

Cada 24 horas se realizaba la limpieza de las cajas, comederos y rejillas y del material utilizado para la recogida de excrementos, mediante una solución con detergente Dabeer el cual contiene EDTA. Después de un buen aclarado con agua del grifo se pasaba por agua destilada.

Los tubos donde introduciríamos las muestras, y el mortero, una vez lavados, permanecían en ClH 6N durante un mínimo de 12 horas. Finalmente, se volvían a pasar por agua destilada.

6.- TOMA DE MUESTRAS

6.1.- TIPOS Y TAMAÑO DE LAS MUESTRAS

Diariamente, durante los tres días propiamente de experimentación se determinó el contenido en hierro en muestras por duplicado de:

- a) Agua de la bebida
- b) Pienso teniendo en cuenta su textura se procuró que sus muestras fueran uniformes.
- c) Homogenado formado por: excrementos, productos de descamación, plumas desprendidas y agua destilada.
- d) Huevos si la gallina estaba en época de puesta se valoraba el hierro que contenía el huevo puesto el

día de la prueba. Una vez pesados y hervidos con agua destilada, se separaban sus tres componentes: cáscara, clara y yema. Y se tomaban de cada una de ellas las alícuotas para su análisis.

Los pesos húmedos de las muestras a valorar estaban comprendidos entre 0.5 y 2 gramos dependiendo de su contenido en hierro, y el volumen de agua era de 1 ml.

Todas las materias se pesaban directamente en tubos largos de vidrio Pyrex mediante una balanza analítica (Sartorius), cuyas características se describen en el apartado 3.4.1. de la primera parte de Material y Métodos.

6.2.- SECADO DE LAS MUESTRAS

Las muestras húmedas de cáscara, clara y yema del huevo, permanecieron en una estufa (Selecta) durante un mínimo de 48 horas a 80 °C para deshidratarlas. Al cabo de este tiempo se volvieron a pesar para obtener sus respectivos pesos secos.

7.- DETERMINACION DEL HIERRO

El contenido en hierro, en las diferentes muestras, se llevó a cabo mediante absorción atómica según la técnica señalada por Theron et al. (277) y modificada por nosotros de acuerdo con las necesidades y aparatos disponibles.

La preparación de las muestras se hizo mediante tratamiento con una mezcla de ácido nítrico, ác. perclórico y ác. sulfúrico (Carlo-Erba) en la proporción 3 : 1 : 1 según indicamos en el apartado 3.5.2 de la primera parte de Material y Métodos. Y las determinaciones, se realizaron en el Servicio de Espectroscopía de la Universidad de Barcelona.

La solución standard que se utilizó era tritisol de la casa Merck (1000 µg Fe/ml) y para cada lote de mues-

tras se construyó una recta patrón que contenía los puntos indicados en el apartado 3.5.3 de la primera parte de Material y Métodos.

8.- EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Creemos de gran utilidad definir ciertos conceptos. Así denominamos:

. Ingesta de pienso y de líquido, que se expresan respectivamente en gramos y ml , ó bien en g ó ml / g peso corporal / día. A partir de aquí se valoró la ingestión diaria de hierro.

. Excreción de hierro, al hierro presente en el conjunto de heces y orina, productos de descamación y plumas desprendidas. A este valor se le añadió el hierro presente en el huevo, para el caso de las gallinas de 24 semanas. Se indica en gramos ó en $\mu\text{g/g/día}$.

. Absorción de hierro, a la relación entre balance e ingesta de hierro multiplicada por cien.

. Utilización del alimento, al resultado obtenido al dividir la ganancia de peso por la cantidad de pienso ingerido.

El Balance del hierro se obtiene de restar a los valores de la Ingesta los de la Excreción. Este dato corresponde a la cantidad de hierro que queda incorporado en el animal y se expresa en mg o bien en $\mu\text{g/g/día}$.

La ganancia de peso de los animales se expresa en gramos.

El peso del huevo, así como el de sus tres constituyentes: cáscara, clara y yema están tabulados en gramos. El contenido en hierro en μg ó en $\mu\text{g Fe/g}$ peso seco.

9.- VALORACION ESTADISTICA

La representación de los resultados en Tablas y Figuras, así como la aplicación del análisis de la varian-za, test de Bonferroni y test de "t" de Student se han re-alizado de la misma forma que en los resultados de la pri-mera parte de este trabajo, apartado 5 de la primera parte de Material y Métodos.

TERCERA PARTE: PRUEBAS METABOLICAS Y DISTRIBUCION DEL HIE-
 =====
 RRO EN GALLINAS, EN FUNCION DEL CONTENIDO
 =====
 EN HIERRO EN LAS DIETAS.
 =====

1.- ANIMALES E INSTALACIONES

Las pruebas se realizaron con gallinas de raza Shaver de ambos sexos, las cuales habían permanecido en nues-tro animalario desde el primer día de su nacimiento, con el fin de que todos los ejemplares se desarrollaran bajo las mismas condiciones de ambientación, dietas y controles has-ta las trece semanas de edad. También se siguió la puesta, desde su inicio, aproximadamente a las 20 semanas, hasta su regulación que tenía lugar alrededor de las 24 semanas, tal como ya indicamos en el apartado 2.3 de la primera parte de Material y Métodos.

El número total de animales utilizados fue de 108, distribuidos en 4 grupos, según la alimentación suministra-da:

- . Primera dieta: 45 ppm de hierro en el pienso de crecimiento y 40 ppm en el de ga-llinas en puesta.
- . Segunda dieta: 160 ppm de hierro en el pienso de crecimiento y 150 ppm en el de ga-llinas en puesta. También la deno-minamos dieta basal.

- . Tercera dieta: 350 ppm de hierro en los dos piensos (primera sobredosis).
- . Cuarta dieta: 500 ppm de hierro en los dos piensos (segunda sobredosis).

Las experiencias correspondientes a cada tratamiento alimenticio se realizaron con grupos de:

- . 9 machos de 13 semanas de edad
- . 9 hembras de 13 semanas de edad
- . 9 gallinas en puesta de 24 semanas de edad.

2.- CONTENIDO EN HIERRO EN LAS DIETAS, Y SU PRE- PARACION

2.1.- PRIMERA DIETA

La obtención de pienso de bajo contenido en hierro, fue difícil, por ser costoso y poco rentable para cualquier firma comercial de piensos. Por tal motivo, fue preparado en este Departamento, y no tiene la misma composición que las restantes dietas.

La composición era la siguiente:

<u>Fórmula básica</u>	<u>Engorde</u>	<u>Puesta</u>
Harina de arroz descascarillada	74.5 %	79.5 %
Caseina láctica	17.0 %	12.0 %
Aceite de maiz	3.0 %	3.0 %
Celulosa micronizada	3.0 %	3.0 %
Metionina	0.1 %	0.1 %
Sal	0.4 %	0.4 %
Carbonato Cálcico	1.0 %	1.0 %
Fosfato Cálcico	1.0 %	1.0 %

Corrector: Vitaminas, minerales y aditivos (Lab. Maymó, Barcelona).

	<u>Engorde</u>	<u>Puesta</u>
Vitamina A estabilizada	10.000.000 U.I.	7.000.000 U.I.
Vitamina D ₃ estabilizada	2.000.000 U.I.	1.500.000 U.I.
Vitamina E estabilizada	500.000 U.I.	1.000 U.I.
Vitamina B ₁	1 g	500 mg
Vitamina B ₂	5 g	2 g
Vitamina B ₆	6 g	1 g
Vitamina B ₁₂	25 mg	10 mg
Vitamina C estabilizada	----	15 mg
Vitamina K ₃	4 g	3 g
Acido fólico	600 mg	---
Acido nicotínico	33 g	10 g
D-Calcio Pantotenato	18 g	5 g
Cobre	12 mg	---
Zinc	110 mg	98 mg
Iodo	0.8 mg	0.4 mg
Manganeso	75 mg	70 mg
Cloruro de colina puro	150 g	150 g
D.L. Metionina	150 g	100 g
Antioxidante	125 g	---
Bacitracina de Zinc	250.000 U.I.	---
Excipiente c.s.h.	1 Kg	1 Kg

El contenido en fibra, proteína y grasa bruta era la siguiente:

Fibra bruta	3.3 %	3.3 %
Proteína bruta	20.1 %	16.2 %
Grasa bruta	3.4 %	3.4 %

Por gentileza de los laboratorios Maymó de Barcelona obtuvimos los correctores con bajo contenido en hierro, para pollos y para gallinas en puesta. La harina de arroz descascarillada, así como la mezcla final de todos los ingredientes, fue llevada a cabo por Piensos Pagés (Tordera, Barcelona).

Lógicamente cabía esperar que la cantidad de hierro presente en este pienso fuese debido única y exclusivamente a dos factores: hierro presente en los materiales con los que se fabricó (harina de arroz descascarillada, caseína, aceite de maíz, celulosa y correctores) y contaminación a partir de los instrumentos empleados para su fabricación.

Una vez analizada dicha dieta, resultó que la cantidad de hierro presente era, aproximadamente, de 45 ppm para animales en crecimiento y de 40 ppm para gallinas en puesta.

2.2.- SEGUNDA DIETA (DIETA BASAL)

Los ejemplares que formaban los grupos controles fueron alimentados con una dieta comercial de pienso en polvo marca Hens cuya composición se ha hecho constar en el apartado 2.1. de la primera parte de Material y Métodos. La concentración de hierro en el pienso para las aves en crecimiento era de 160 ppm y de 150 ppm el correspondiente a gallinas en período de puesta.

2.3.- TERCERA Y CUARTA DIETA

Respecto a la sobrecarga de hierro, se prepararon dos dietas con sobredosis a partir de la basal (dieta Hens). Ambas se obtuvieron añadiendo $\text{SO}_4\text{Fe} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), hasta unas concentraciones totales de hierro de 350 ppm para la primera y de 500 ppm para la segunda sobredosis.

Los dos piensos se prepararon en nuestras dependencias.

cias Kilo por Kilo por separado, procediendo más tarde a la mezcla final, procurando que ésta resultara lo más homogénea posible.

3.- CAMBIOS DE DIETA

Todos los animales, objeto de nuestro estudio, permanecieron en cajas individuales de acero inoxidable alimentándose con la dieta basal correspondiente, y agua "ad libitum" hasta 15 días antes de las experiencias.

El paso de una dieta con contenido normal en hierro a otra de más concentración, se realizó directamente, no así cuando el paso iba a ser de dieta basal a dieta de menor contenido en hierro. Este cambio fue gradual, ya que al ser el pienso más blanquecino, aunque poseía aproximadamente el mismo sabor, de entrada, las aves presentaban reparo para alimentarse. A tal fin dos días antes (17 días antes de realizar la experiencia) se espolvoreaba una pequeña cantidad de pienso de menor contenido en hierro, sobre la dieta basal.

4.- ANALISIS HEMATICOS

Una vez sometidos los animales al cambio de dieta, se les extrajo en días alternos 1 ml de sangre por punción de la vena alar mediante una jeringa previamente heparinizada (siempre a primera hora de la mañana), con el fin de seguir las posibles variaciones existentes en el hematocrito, hemoglobina y sideremia, puesto que es una de las formas de saber (sin sacrificar el animal), si los ejemplares pasan por el proceso de deficiencia o de sobrecarga en hierro.

Las técnicas utilizadas fueron las mismas que han quedado descritas en el apartado 3.1. de la primera parte de Material y Métodos.

5.- TECNICA EXPERIMENTAL

Después de 15 días de alimentación de las aves con los distintos tipos de pienso, se colocaron en cajas metabólicas individuales construidas especialmente para ellas (Figura 4), durante cinco días consecutivos. Los dos primeros sirvieron para que el animal se acostumbrase al nuevo hábitaculo, siendo los tres días siguientes los correspondientes a las experiencias propiamente dichas.

La manera de proceder para la obtención de datos se hizo exactamente igual a lo señalado en el apartado 6 de la segunda parte de Material y Métodos.

6.- DISTRIBUCION DEL HIERRO TOTAL

Una vez realizadas las pruebas metabólicas, los animales fueron sometidos a un ayuno de 24 horas disponiendo de agua "ad libitum".

A fin de extraer algunos órganos y tejidos del animal para posteriores determinaciones de hierro total y de hierro ferritínico, se procedió al desangrado del ave mediante perfusión con paso continuo de un volumen conocido de suero fisiológico a una velocidad de 11.7 ml/minuto.

La determinación de hierro total se llevó a cabo en:

- . Hígado
- . Bazo
- . Intestino: duodeno, yeyuno e íleon
- . Músculo pectoral

A las gallinas en puesta alimentadas con la Primera dieta (40 ppm de hierro) por observarse variaciones en el hematocrito y hemoglobina en el transcurso del período que duró dicha alimentación, se determinó además el contenido de este metal en:

- . Riñones
- . Corazón
- . Plumas
- . Carcasa

La extracción de órganos y la toma de muestras se llevó a cabo tal como se indicó en el apartado 3.4. de la primera parte de Material y Métodos.

Las valoraciones de hierro en las muestras de agua de la bebida, pienso, material excretado y huevos, cuando era el caso, y de los diferentes órganos y tejidos, se llevaron a cabo mediante espectroscopía de absorción atómica previa digestión ácida en baño de arena, en las mismas condiciones y con los mismos aparatos descritos en los apartados: 3.5. y 6. de la primera y segunda parte respectivamente de Material y Métodos.

La recta patrón para la valoración del hierro se construyó a partir de una solución de Tritisol de la casa Merck (1000 $\mu\text{g Fe / ml}$) la cual se diluyó a 50 $\mu\text{g/ml}$. Dicha recta sufrió una pequeña modificación cuando hubo que valorar muestras procedentes de animales alimentados con menor contenido o con sobrecarga de hierro, con el fin de que todas las absorbancias cayeran dentro y lo más centrado posible de la recta; por esta razón se añadieron tres puntos más a la recta quedando ésta de la siguiente manera:

6.25 12.5 25.0 50.0 100.0 200.0 400.0 $\mu\text{g/ml}$

Los microgramos de hierro por gramo de peso seco se calcularon a partir de la siguiente equivalencia:

$$\frac{X \text{ ppm} / 20 \text{ ml}}{\text{Peso seco muestra (g)}} = \mu\text{g Fe} / \text{g peso seco}$$

7.- DETERMINACION DEL HIERRO FERRITINICO EN HIGADO Y BAZO

Para este análisis se siguió el método utilizado por Hill en 1931 (148) y posteriormente (1965) modificado por Drysdale y Munro (83) como ya describimos en el apartado 3.6 de la primera parte de Material y Métodos.

8.- EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Las unidades en que han sido expresados los resultados de esta tercera parte han sido las mismas que constan en los apartados 4 y 8 de la primera y segunda parte respectivamente de Material y Métodos.

Para la representación de las Tablas y Figuras también se ha tomado el mismo sistema que en la primera y segunda parte. Así pues, en las Tablas se incluyen los valores absolutos de los distintos parámetros estudiados; por el contrario en las Figuras se expresan estos valores de forma relativa, respecto a gramo de peso seco.

9.- VALORACION ESTADISTICA

A los resultados obtenidos en esta tercera parte se aplicó: el análisis de la varianza, el test de Bonferro-ni y el test de "t" de Student en la misma forma que en los resultados anteriores según consta en el apartado 5 de la primera parte de Material y Métodos.

RESULTADOS

PRIMERA PARTE: DISTRIBUCION DE HIERRO EN ORGANOS
 =====

Presentamos bajo forma de Tabla los valores ponderales de órganos, el contenido en hierro total para cada órgano o tejido estudiado y en su caso el contenido en hierro ferritínico y la relación entre éste y el hierro total. En las Figuras mostramos generalmente el contenido en hierro o en hierro ferritínico por gramo de peso seco de órgano o tejido.

1.- EVOLUCION DEL PESO

La Figura 5 nos indica el aumento del peso corporal en gallinas de ambos sexos en función de la edad. Podemos observar que la media del peso de los machos es estadísticamente superior a la de las hembras en los grupos de 13 y 18 semanas. A esta última edad, se alcanzan valores de 1505 y 1236 gramos en machos y hembras respectivamente.

2.- VALORES HEMATICOS

Previo a la realización de los experimentos, se comprobaron los siguientes valores hemáticos: hematocrito, hemoglobina y sideremia, con la idea de descartar los ejemplares con valores anómalos, si a su vez concordaban con un irregular contenido en hierro en los diferentes órganos y tejidos del animal.

Los resultados, en función de la edad y del sexo, están expuestos en la Tabla I.

2.1.- HEMATOCRITO

Podemos apreciar cómo los valores del hematocrito,

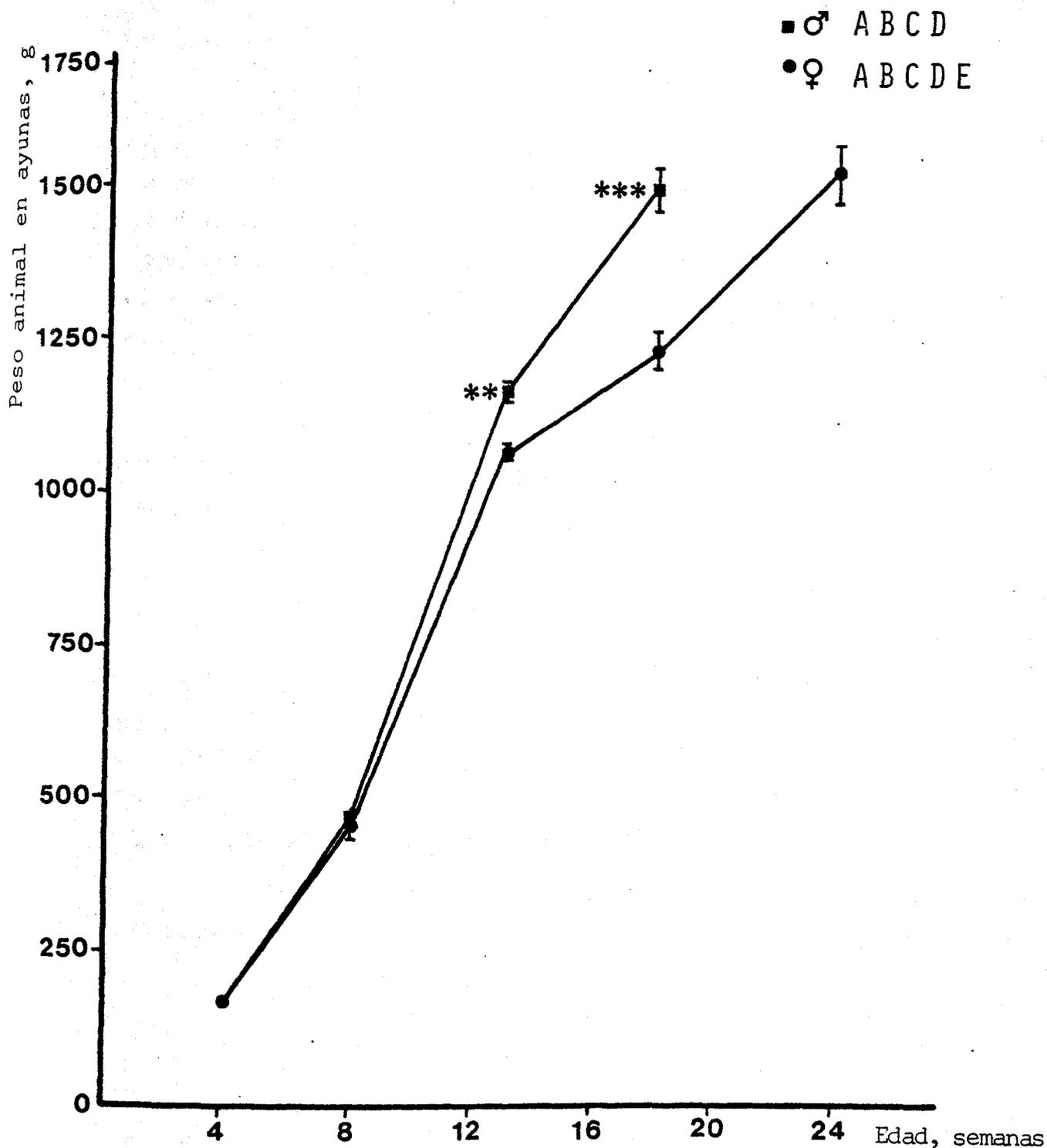


Figura 5 .- Curvas de crecimiento de pollos machos (■) y hembras (●) de raza Shaver en función de la edad.

Las iniciales A,B,C,D y E representan animales de 4,8,13,18 y 24 semanas respectivamente y se agrupan en orden creciente. La ausencia de significación por el test de ANOVA ($p < 0.05$) se indica por NS. En caso afirmativo se aplicó el test de Bonferroni ($p < 0.05$) y los grupos incluidos bajo una misma línea no son estadísticamente significativos en este test. Diferencias entre grupos de la misma edad y diferente sexo se analizaron mediante el test de "t" de Student ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$ y $***p < 0.001$).

en el caso de los machos, se mantienen más o menos constantes en las tres primeras edades, aumentando dicho valor a las 18 semanas de edad. Para el caso de las hembras, tal porcentaje aumenta ligeramente hasta las 13 semanas. A partir de este momento, el hematocrito tiende a disminuir siendo significativas las diferencias solo al comparar animales de 13 semanas con las gallinas en período de puesta.

Estudiando machos y hembras de la misma edad, se observan diferencias importantes entre los ejemplares de 18 semanas ($p < 0.05$).

2.2.- HEMOGLOBINA

La concentración de hemoglobina en los machos experimenta un aumento al pasar los animales de 4 a 8 semanas y estos valores permanecen constantes al aumentar la edad. La hemoglobina en las hembras se mantiene más o menos estable, produciéndose un pequeño aumento a las 13 semanas.

No se observan diferencias estadísticamente significativas en función del sexo.

2.3.- SIDEREMIA

La concentración de hierro en el plasma de gallinas de ambos sexos hasta las 13 semanas tiende a disminuir, siendo significativas dichas diferencias para los machos y no para las hembras. A partir de esta edad, se detectan aumentos importantes debiendo destacar el alto valor que se alcanza en las gallinas en período de puesta ($384 \mu\text{g Fe} / 100 \text{ ml de plasma}$), lo que representa una concentración en hierro tres veces más alta a la de las pollitas de 4 semanas ($122 \mu\text{g Fe} / 100 \text{ ml de plasma}$).

En función del sexo, se aprecian diferencias significativas únicamente entre los animales más jóvenes, 4 semanas ($p < 0.05$).

Tabla I

Valores del hematocrito, hemoglobina y sideremia en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, Semanas	Sexo	Hematocrito, %	Hemoglobina, g / 100 ml	Sideremia, µg Fe / 100 ml
4	♂	28.8 ± 0.76 (a)	9.1 ± 0.32 (a)	168.0 ± 12.13 (a)*
	♀	27.5 ± 1.39 (a,b)	8.1 ± 0.37	122.2 ± 17.18 (a)
8	♂	30.6 ± 1.03 (a,b)	11.8 ± 0.62 (b)	141.5 ± 12.13 (a,b)
	♀	30.5 ± 1.73 (a,b)	9.9 ± 0.82	116.0 ± 5.35 (a)
13	♂	29.7 ± 1.54 (a)	10.6 ± 0.94 (a,b)	106.9 ± 9.47 (b)
	♀	33.0 ± 1.01 (a)	12.1 ± 1.62	102.4 ± 3.06 (a)
18	♂	38.4 ± 2.30 (b)*	10.6 ± 0.25 (b)	139.1 ± 11.93 (a)
	♀	31.0 ± 1.42 (a,b)	9.7 ± 0.64	185.5 ± 31.12 (a)
24	♀	27.7 ± 0.98 (b)	9.4 ± 0.85	383.9 ± 30.90 (b)

Las medias de los animales de una misma columna y del mismo sexo que no están seguidas de la misma letra (a,b,c,d,e) son significativamente diferentes por el análisis de la varianza (p<0.05) y por el test de Bonferroni (p<0.05); las medias no seguidas por letras no son significativamente distintas por el ANOVA. Las diferencias entre animales de la misma edad y diferente sexo se analizan mediante el test de "t" de Student (*p<0.05, **p<0.01 y ***p<0.001).

3.- HIGADO

3.1.- VALORES PONDERALES

El peso total del hígado (Tabla II), tanto húmedo como seco, aumenta con la edad en machos y en hembras, pero en el caso de los primeros, se estabiliza a partir de las 13 semanas. Únicamente se observan diferencias sexuales significativas en los grupos de 4 ($p < 0.01$) y 18 ($p < 0.05$) semanas.

El cociente entre el peso húmedo y el peso seco es constante en todos los grupos estudiados situándose alrededor de 3.5, lo que representa aproximadamente un 70 % de contenido en agua, no existiendo por consiguiente diferencias significativas en función de la edad ni del sexo a excepción de los grupos de 18 semanas ($p < 0.05$).

El peso relativo del hígado disminuye con la edad en los dos sexos, reduciéndose a la mitad al alcanzar las hembras las 18 semanas, respecto el valor que presentaban las pollitas de 4 semanas. En las gallinas de puesta se observa no obstante un ligero aumento. El sexo influye en esta variable, siendo estadísticamente significativas las diferencias en los grupos de 4 y 18 semanas ($p < 0.001$), con valores más altos para las hembras.

3.2.- CONTENIDO EN HIERRO

En la Tabla III observamos cómo en ambos sexos, los valores del hierro ferritínico y del hierro total aumentan con la edad hasta llegar al estado adulto (18 semanas), para luego experimentar, las gallinas en puesta, una marcada disminución, de manera que en éstas, el hierro ferritínico se sitúa en 627 μg y el hierro total en 3.7 mg lo que representa un descenso respecto a los animales de 18 semanas del 59 y 20 % respectivamente. El contenido en hierro ferritínico presenta diferencias significativas entre sexos en los grupos de 4, 13 y 18 semanas con un



Tabla II

Valores ponderales del hígado en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Peso húmedo, g	Peso seco, g	$\frac{\text{Peso húmedo}}{\text{Peso seco}}$	Peso relativo, %
4	♂	4.8 ± 0.20 (a)**	1.4 ± 0.08 (a)**	3.42 ± 0.090 (a)	2.82 ± 0.127 (a)***
	♀	7.5 ± 0.50 (a)	2.2 ± 0.17 (a)	3.39 ± 0.089	4.35 ± 0.215 (a)
8	♂	12.7 ± 0.61 (b)	3.6 ± 0.16 (b)	3.54 ± 0.103 (a)	2.70 ± 0.116 (a)
	♀	12.8 ± 0.75 (b)	3.5 ± 0.25 (b)	3.69 ± 0.076	2.89 ± 0.189 (b)
13	♂	23.7 ± 0.94 (c)	6.5 ± 0.21 (c)	3.64 ± 0.049 (a)	2.05 ± 0.099 (b)
	♀	21.7 ± 1.01 (c)	6.1 ± 0.30 (c)	3.57 ± 0.086	2.02 ± 0.074 (c)
18	♂	23.8 ± 1.41 (c)	6.3 ± 0.35 (c)*	3.80 ± 0.114 (a)*	1.58 ± 0.075 (c)***
	♀	26.2 ± 1.08 (c)	7.8 ± 0.46 (c,d)	3.41 ± 0.097	2.12 ± 0.062 (c)
24	♀	36.6 ± 2.58 (d)	11.7 ± 1.14 (d)	3.25 ± 0.208	2.38 ± 0.120 (b,c)

Valoración estadística: ver Tabla I

de significación igual para los tres lotes (5 %), con valores más altos para las hembras a excepción de los animales de 4 semanas.

Por diferencia entre hierro total y hierro ferritínico se obtiene el valor del hierro no ferritínico, el cual aumenta con la edad y no difiere según el sexo, con la única excepción de que en las hembras en puesta se aprecian los mismos niveles que en las hembras de 18 semanas (3 mg por ejemplar).

La relación entre el contenido en hierro ferritínico y en hierro total en los machos, disminuye con la edad sin presentar significación. En las hembras, por el contrario, se pasa de valores de 0.11 a las 4 semanas a valores de 0.34 a las 18 semanas, para luego descender un 50 % durante la puesta, alcanzándose en este momento valores ligeramente más altos a los que presentan las pollitas de 4 semanas. También en esta variable se ve que las diferencias sexuales quedan significativamente marcadas en los grupos de 4 y 18 semanas con unos niveles de significación $p < 0.01$ y $p < 0.001$ respectivamente.

La concentración de hierro ferritínico expresada por gramo de peso seco (Figura 6), en los machos desciende con la edad hasta las 13 semanas, pasando de valores de 132 $\mu\text{g Fe/gramo}$ a 66 $\mu\text{g Fe / gramo}$ para luego experimentar un aumento a las 18 semanas con la media más alta y próxima a la de los animales de 4 semanas. Las hembras, por el contrario, presentan dos marcadas subidas: una a las 8 y otra a las 18 semanas, bajando rápidamente en el período de puesta reduciéndose a la tercera parte (62 $\mu\text{g Fe / gramo}$) el valor que adquirió en la prepuesta (200 $\mu\text{g Fe / gramo}$). El sexo presenta diferencias significativas a las 4 ($p < 0.01$), 13 ($p < 0.01$) y 18 ($p < 0.05$) semanas. Los valores más altos los presentan las hembras a excepción de los ejemplares de 4 semanas.

Si el contenido en hierro total en hígado lo expresamos por gramo de peso seco (Figura 7) desaparece la

Tabla III

Contenido en hierro ferritínico, en hierro total y relación entre ambos parámetros, en hígados de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Hierro ferritínico, μg	Hierro total, μg	$\frac{\text{Hierro ferritínico}}{\text{Hierro total}}$
4	♂	191.2 \pm 32.53 (a)*	600.2 \pm 58.64 (a)	0.31 \pm 0.042**
	♀	55.3 \pm 7.37 (a)	522.2 \pm 55.76 (a)	0.11 \pm 0.016 (a)
8	♂	406.3 \pm 40.60 (b)	1581.2 \pm 163.04 (b)	0.26 \pm 0.017
	♀	420.7 \pm 55.92 (b)	1723.3 \pm 158.29 (b)	0.26 \pm 0.035 (b,c,d)
13	♂	441.3 \pm 79.82 (a,b)*	2570.3 \pm 214.98 (c)	0.18 \pm 0.043
	♀	678.8 \pm 66.27 (b)	2873.6 \pm 177.52 (c)	0.23 \pm 0.014 (b)
18	♂	924.0 \pm 133.92 (c)*	4501.4 \pm 404.35 (d)	0.21 \pm 0.026***
	♀	1514.5 \pm 59.74 (c)	4602.6 \pm 260.49 (d)	0.34 \pm 0.015 (c)
24	♀	627.1 \pm 117.73 (b)	3670.5 \pm 474.03 (c,d)	0.17 \pm 0.012 (a,d)

Valoración estadística: ver Tabla I

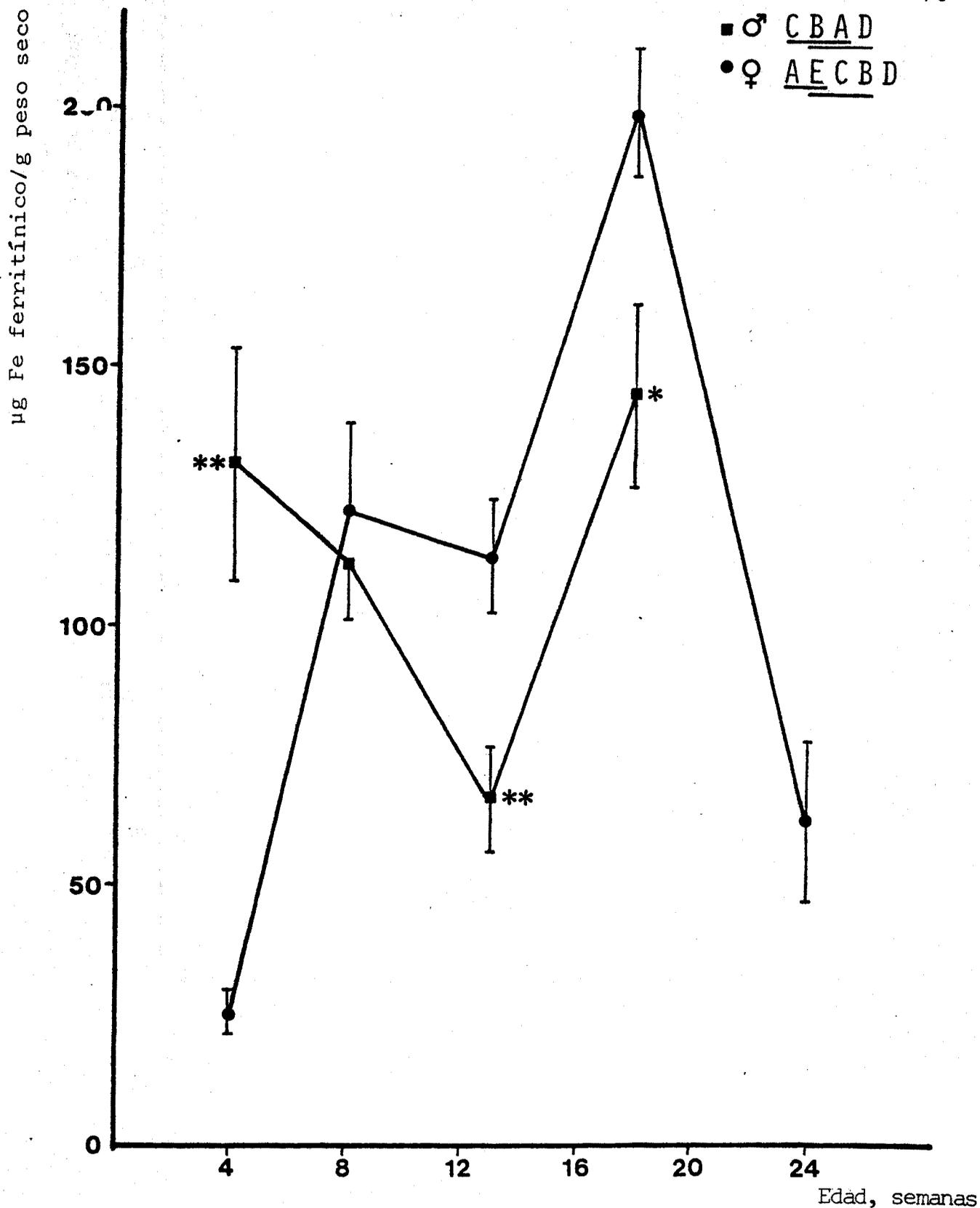


Figura 6 .- Contenido en hierro ferritínico por gramo de peso seco en hígado de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

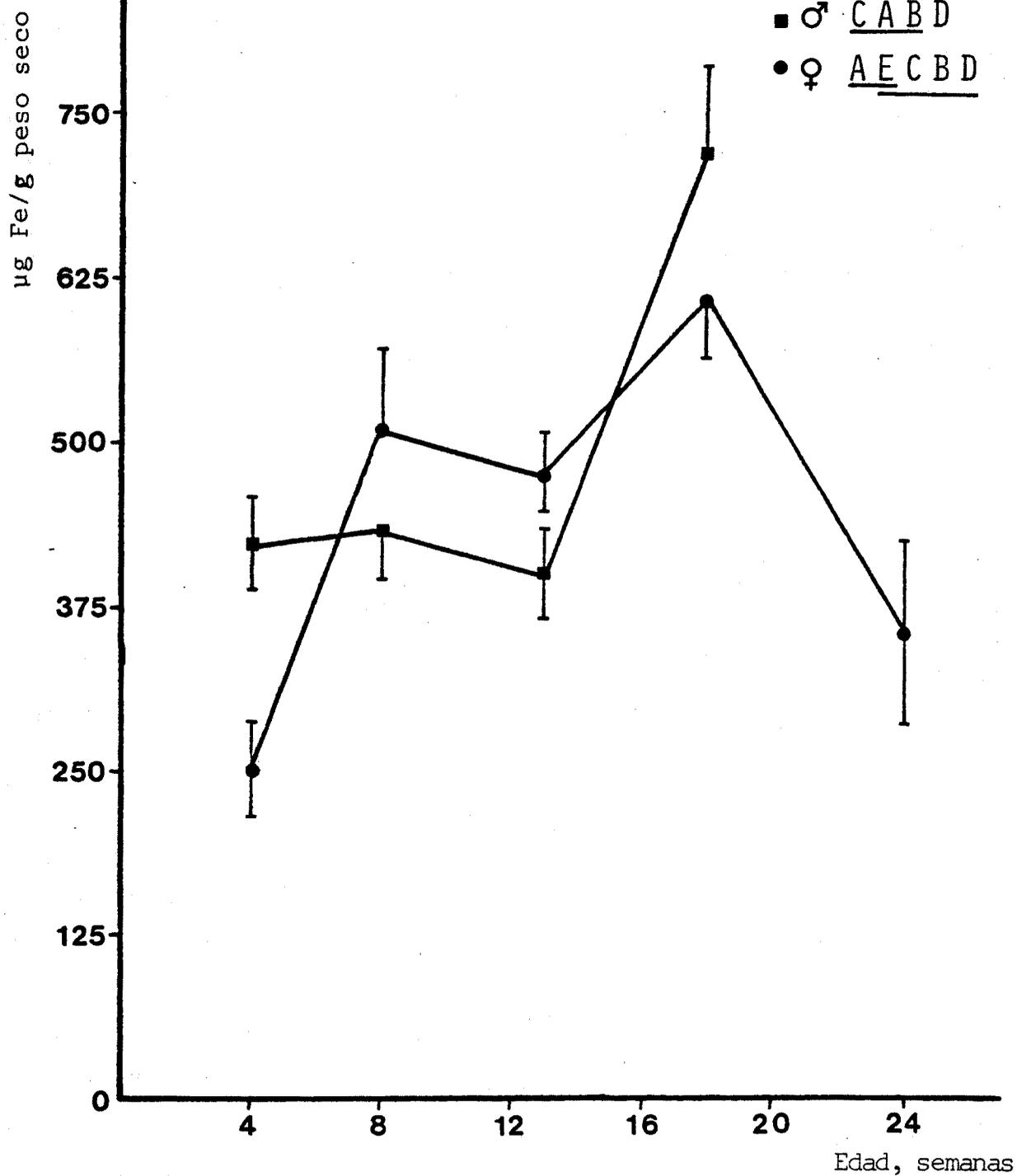


Figura 7 .- Contenido en hierro por gramo de peso seco en hígado de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

significación estadística entre machos de 4 y 13 semanas.

En las hembras, se detecta una subida a las 8 semanas que se mantiene hasta las 18 para adquirir a las 24 semanas de edad un nivel aproximado al que presentaba el grupo de 4 semanas. Al comparar machos y hembras entre sí, no se observan diferencias significativas.

3.3.- CORRELACIONES

Hemos comprobado la existencia de las siguientes correlaciones:

. Entre la cantidad de hierro ferritínico y hierro total en hígado en los dos sexos con $r = 0.7757$ para los machos y $r = 0.8840$ para las hembras y con un valor de $p < 0.001$ en ambos casos.

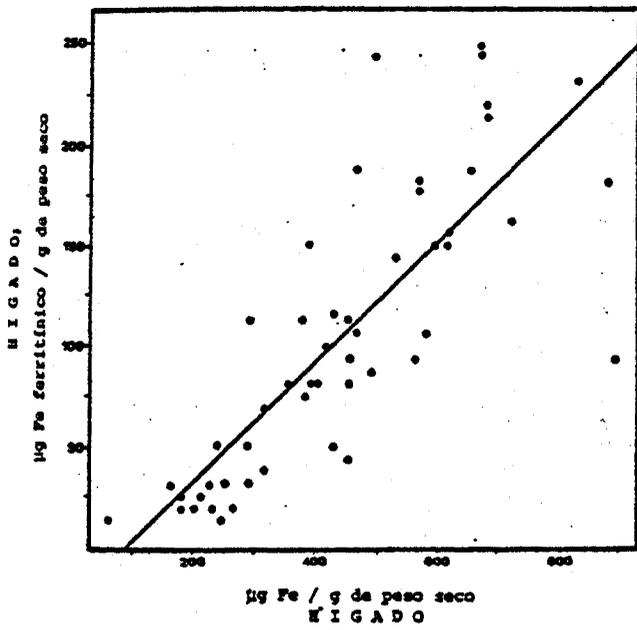
. Entre el contenido en hierro ferritínico por gramo de peso seco del hígado y el contenido en hierro total por gramo de peso seco en los dos sexos (Figura 8).

. Entre el hierro ferritínico por gramo de peso seco y el hierro no ferritínico por gramo de peso seco, solo en las hembras (Figura 9).

4.- BAZO

4.1.- VALORES PONDERALES

El peso del bazo (Tabla V), a igual que el del hígado aumenta con la edad en los machos, hasta las 13 semanas, reduciéndose un 30 % de su peso húmedo al llegar a las 18 semanas (para el peso seco, esta reducción es del 43 %). En el caso de las hembras, el aumento continúa levemente hasta la prepueta (18 semanas) para reducirse a la mitad al llegar a la puesta (en pesos secos esta reducción se traduce en un 42 %). Las diferencias del peso húmedo del bazo en función del sexo son significativas en todas las edades ($p < 0.05$);

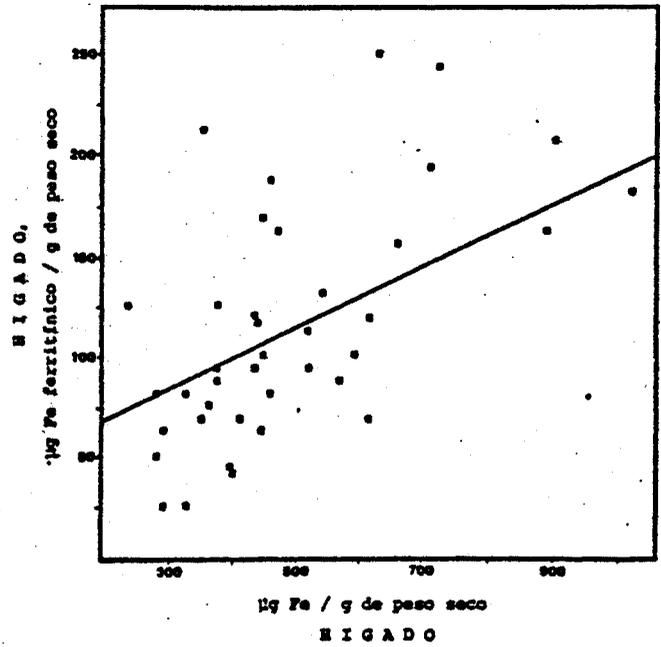


♀

$$r = 0.8008$$

$$p < 0.001$$

$$y = 0.29280x - 23.954$$



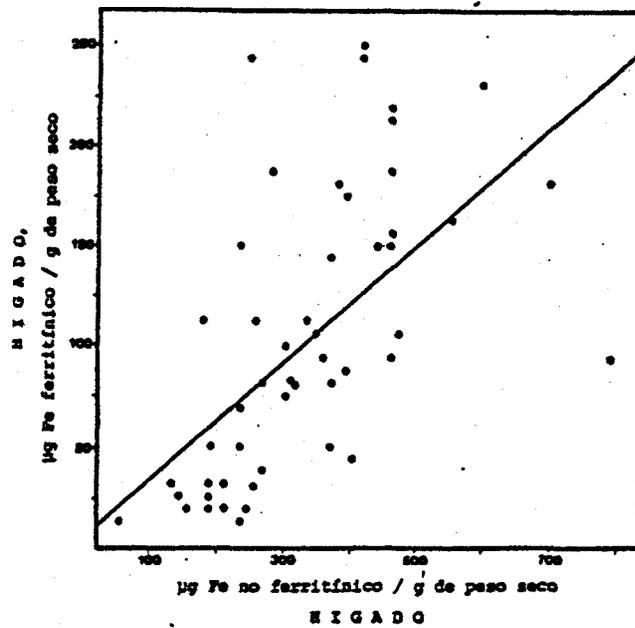
♂

$$r = 0.5310$$

$$p < 0.001$$

$$y = 0.15817x + 35.771$$

Figura 8 .- Correlación entre la concentración de hierro ferritínico y hierro total en hígado de gallinas hembras (♀) y machos (♂) de raza Shaver.



♀

$$r = 0.5877$$

$$p < 0.001$$

$$y = 0.29027x + 7.5486$$

Figura 9.- Correlación entre la concentración de hierro ferritínico y no ferritínico en hígado de gallinas hembras (♀) de raza Shaver.

a las 8 y 13 semanas estas diferencias son a favor de los machos y en el resto de grupos a favor de las hembras.

La relación entre el peso húmedo y peso seco del bazo en función de la edad se mantiene constante e igual en ambos sexos. El contenido en agua de este órgano es del orden del 75 %.

El peso relativo del bazo en los machos aumenta algo a las 8 semanas y disminuye a las 18 semanas. Las hembras por el contrario, experimentan dos descensos, uno en el paso de 4 (0.25 %) a 8 semanas y otro en el paso de prepueta a puesta (0.07 %). En el resto de edades esta variable se mantiene constante. En función del sexo existen diferencias significativas a las 4 ($p < 0.05$) y 18 semanas ($p < 0.001$) a favor de las hembras y a las 8 ($p < 0.05$) semanas a favor de los machos.

4.2.- CONTENIDO EN HIERRO

El contenido en hierro ferritínico y hierro total y la relación entre ambas variables, están expresados en la Tabla VI. Los μg de hierro ferritínico aumentan en los dos sexos a medida que crece el animal observándose una disminución del 71 % al pasar las gallinas de prepueta (75 μg Fe ferritínico) a puesta (21 μg Fe ferritínico). En esta variable el sexo influye a las 4, 8 y 18 semanas con niveles de significación del 1 %, 5 % y 1 % respectivamente y los valores más altos los presentan las hembras, a excepción del lote de 8 semanas que está superado por los machos.

Los μg de hierro total en machos aumentan significativamente hasta las 13 semanas, no así en las hembras en las que el aumento continúa hasta la prepueta para luego experimentar un descenso del 50 % al llegar a la puesta. Los animales de 13 semanas presentan diferencias sexuales ($p < 0.05$) a favor de los machos.

El cociente de los dos parámetros anteriores ex-

Tabla V

Valores ponderales del hazo en gallinas de raza Shaver, en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Peso húmedo, g	Peso seco, g	$\frac{\text{Peso húmedo}}{\text{Peso seco}}$	Peso relativo, %
4	♂	0.28 ± 0.140 (a)*	0.06 ± 0.004 (a)*	4.71 ± 0.425	0.16 ± 0.008 (a)*
	♀	0.44 ± 0.056 (a)	0.13 ± 0.029 (a)	3.58 ± 0.413	0.25 ± 0.032 (a)
8	♂	1.00 ± 0.085 (b)*	0.24 ± 0.023 (b)	4.36 ± 0.274	0.21 ± 0.017 (a,b)*
	♀	0.76 ± 0.039 (b)	0.20 ± 0.031 (a,c)	4.33 ± 0.397	0.17 ± 0.008 (a)
13	♂	2.49 ± 0.122 (c)*	0.59 ± 0.048 (c)*	4.29 ± 0.143	0.21 ± 0.010 (b)
	♀	1.98 ± 0.142 (c)	0.46 ± 0.034 (b)	4.38 ± 0.107	0.18 ± 0.013 (a)
18	♂	1.76 ± 0.141 (d)*	0.34 ± 0.034 (b)*	5.32 ± 0.343	0.12 ± 0.008 (c)***
	♀	2.20 ± 0.139 (c)	0.47 ± 0.031 (b)	4.72 ± 0.187	0.18 ± 0.010 (a)
24	♀	1.14 ± 0.084 (d)	0.27 ± 0.021 (c)	4.25 ± 0.206	0.07 ± 0.005 (b)

Valoración estadística: ver Tabla I

Tabla VI

Contenido en hierro ferritínico, en hierro total y relación entre ambos parámetros, en bazos de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Hierro ferritínico, μg	Hierro total, μg	$\frac{\text{Hierro ferritínico}}{\text{Hierro total}}$
4	♂	4.5 ± 0.19 (a)**	33.9 ± 2.34 (a)	0.14 ± 0.010 (a)*
	♀	7.6 ± 0.84 (a)	49.7 ± 10.37 (a)	0.19 ± 0.024 (a,b)
8	♂	24.9 ± 4.85 (b)*	122.9 ± 14.95 (b)	0.21 ± 0.031 (a)*
	♀	9.8 ± 0.68 (a)	87.8 ± 11.86 (a)	0.13 ± 0.017 (a)
13	♂	36.6 ± 2.82 (b)	316.5 ± 33.14 (c)*	0.13 ± 0.014 (a)
	♀	39.8 ± 3.58 (b)	216.1 ± 22.30 (b,d)	0.20 ± 0.022 (a,b)
18	♂	41.7 ± 3.41 (b)***	299.3 ± 50.31 (c)	0.16 ± 0.015 (a)**
	♀	74.7 ± 6.06 (c)	335.6 ± 21.45 (c)	0.22 ± 0.009 (b)
24	♀	21.4 ± 2.56 (d)	168.7 ± 20.87 (d)	0.14 ± 0.017 (a)

Valoración estadística: ver Tabla I

perimenta pequeñas oscilaciones en los dos sexos a medida que crece el animal, presentando unos valores medios alrededor de 0.17. Destacamos, aquí también, que en el paso de prepuesta a puesta este cociente queda reducido un 36 % y que se observan diferencias sexuales en los mismos grupos mencionados para el contenido en hierro ferritínico.

La concentración de hierro ferritínico expresada por gramo de peso seco de órgano (Figura 10) experimenta hasta las 13 semanas cambios inversos en los dos sexos, produciéndose en ambos casos un aumento significativo en el paso de 13 a 18 semanas seguido de un descenso hasta 78 μ g de hierro. En función del sexo las diferencias se presentan a las 8 semanas ($p < 0.05$), con valores más altos para los machos, y a las 13 ($p < 0.01$) semanas con valores más altos para las hembras.

Si expresamos (Figura 11) el contenido en hierro por gramo de peso seco del órgano en función de la edad, observamos que hasta las 13 semanas los valores se mantienen para cada sexo, seguido de un aumento al llegar a adultos. En las gallinas, en el paso de prepuesta a puesta se contempla una disminución no significativa. En función del sexo los valores más altos en este caso, lo presentan los machos, siendo significativas dichas diferencias únicamente a las 4 semanas ($p < 0.05$).

4.3.- CORRELACIONES

En la Figura 12 observamos la existencia de correlación entre el contenido en hierro total y hierro ferritínico por gramo de peso seco de bazo en los dos casos, así como también entre el contenido en hierro ferritínico y hierro no ferritínico por gramo de peso seco en las hembras (Figura 13).

Si el estudio de las correlaciones lo hacemos entre bazo e hígado, encontramos que:

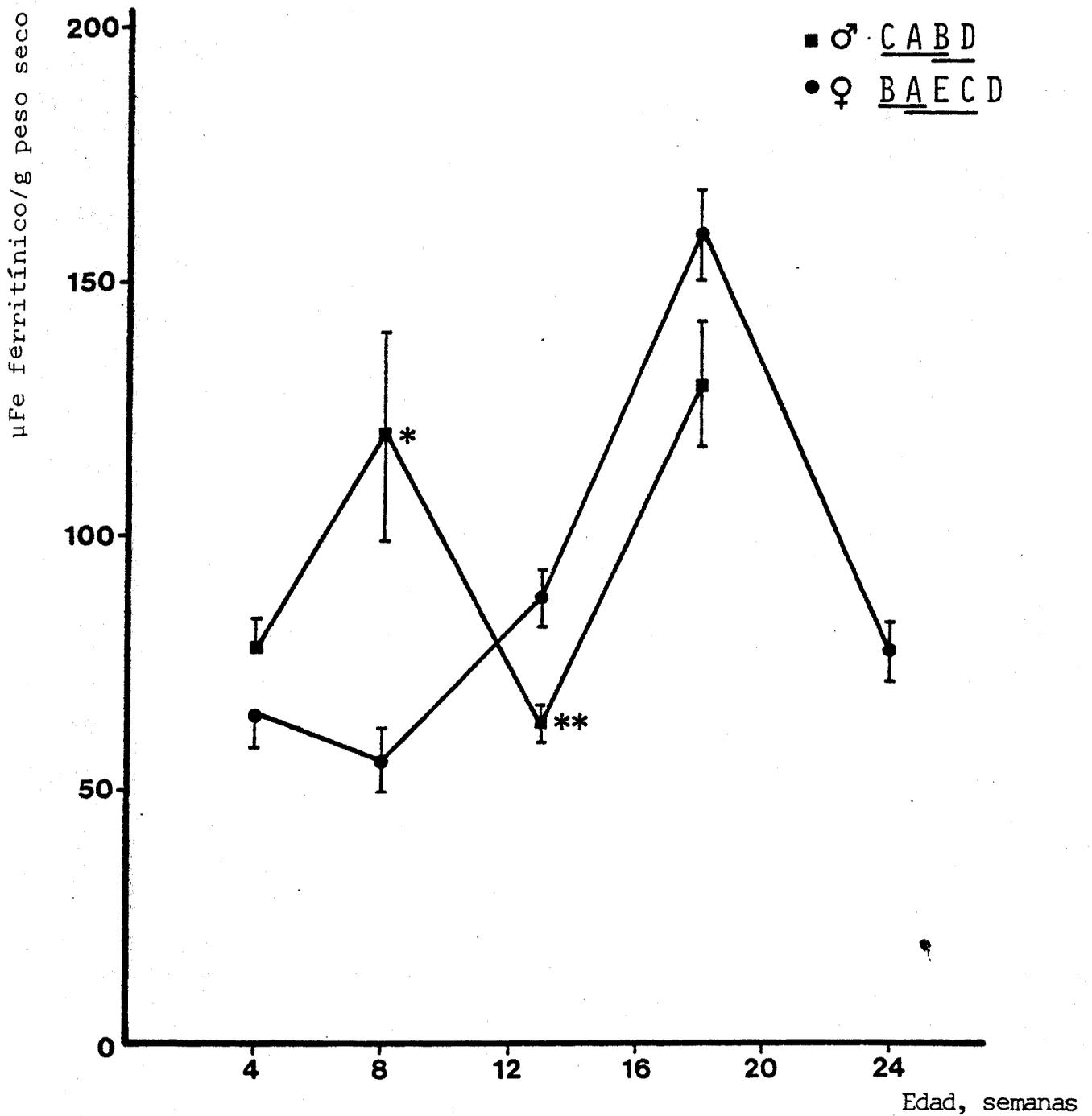


Figura 10 .- Contenido en hierro ferritínico por gramo de peso seco en bazo de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

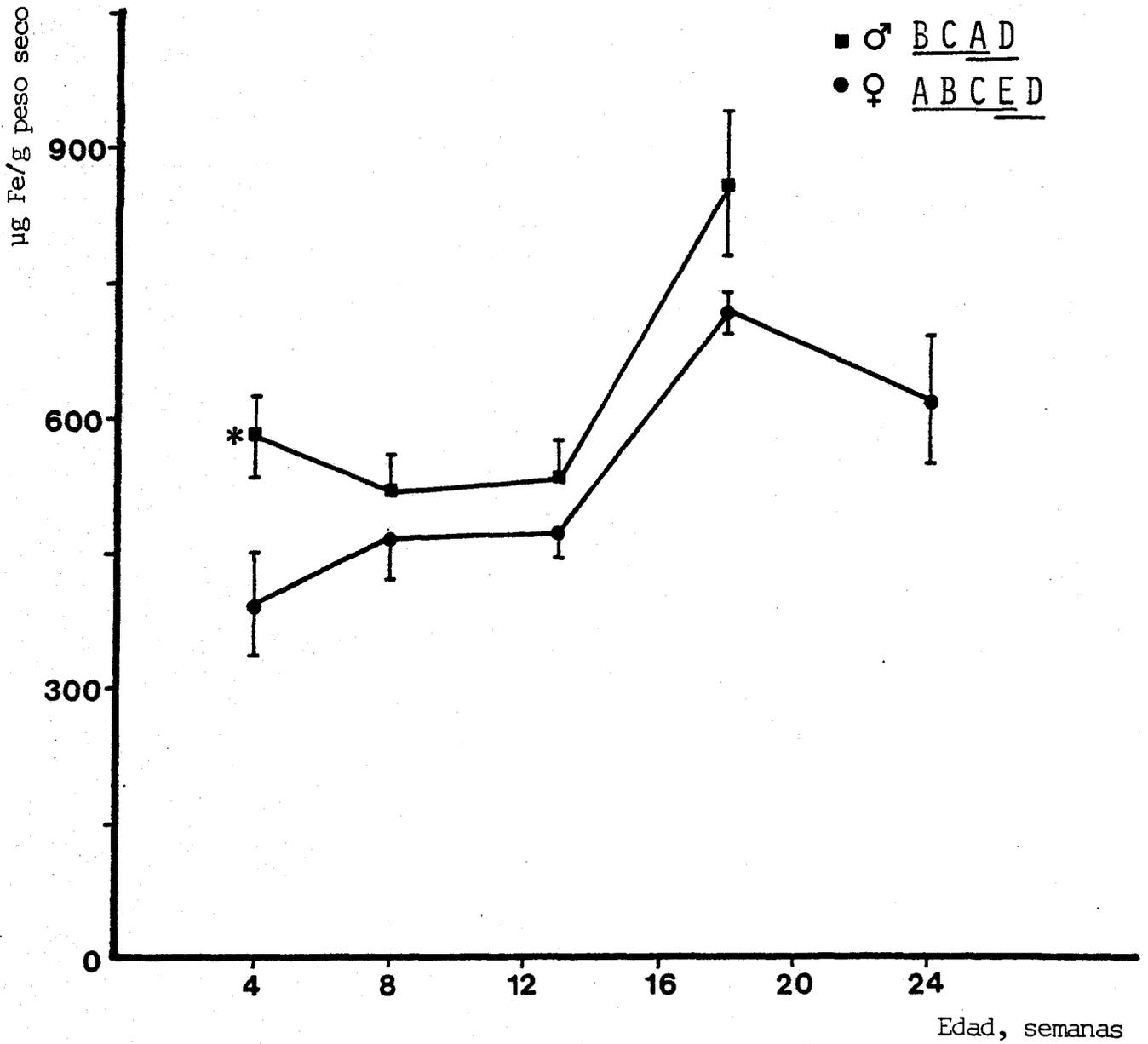
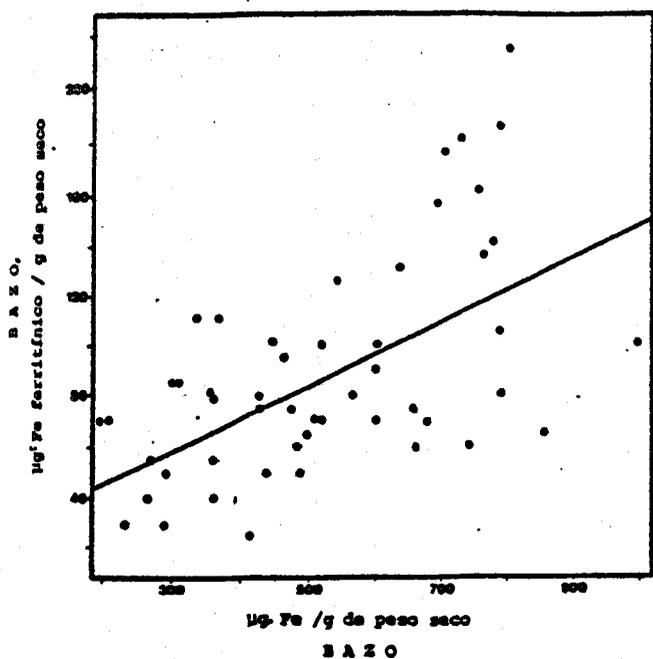


Figura 11.- Contenido en hierro por gramo de peso seco en bazo de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo .

Valoración estadística; ver Figura 5

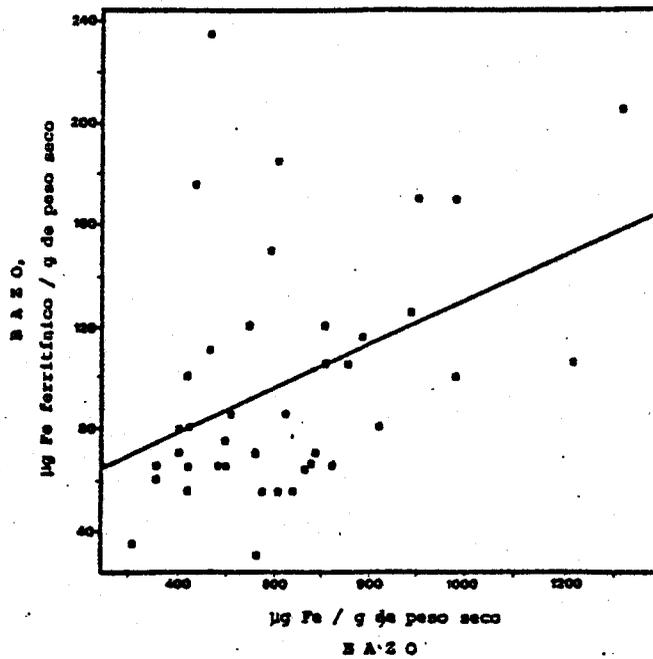


♀

$$r = 0.5761$$

$$p < 0.001$$

$$y = 0.12838x + 20.777$$



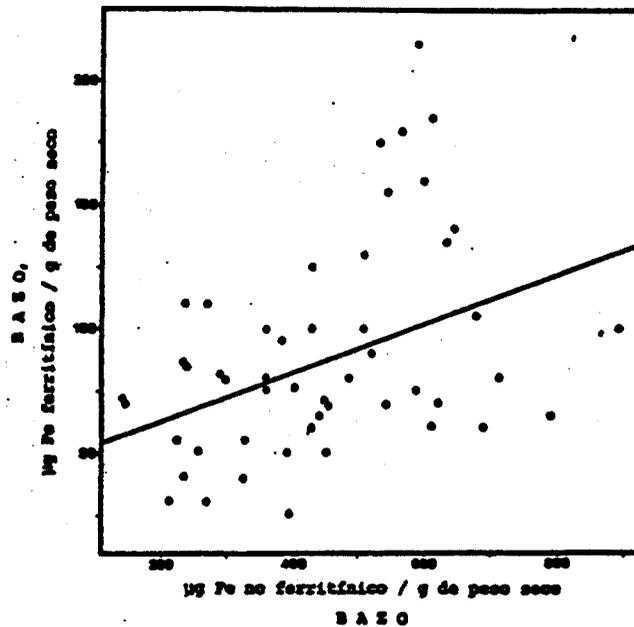
♂

$$r = 0.4155$$

$$p < 0.01$$

$$y = 0.08699x + 43,435$$

Figura 12.- Correlación entre la concentración de hierro ferritínico y hierro total en bazo de gallinas hembras (♀) y machos (♂) de raza Shaver.



♀

$$r = 0.3967$$

$$p < 0.01$$

$$y' = 0.09928x + 45.191$$

Figura 13.- Correlación entre la concentración de hierro ferritínico y no ferritínico en bazo de gallinas hembras(♀) de raza Shaver.

. Existe correlación entre la cantidad de hierro total del bazo y el hierro total en el hígado, siendo los valores de $r = 0.6845$ ($p < 0.001$) y $r = 0.7324$ ($p < 0.001$) en machos y hembras respectivamente.

. Entre el hierro ferritínico de bazo y el hierro ferritínico del hígado en machos y hembras, siendo $r = 0.6433$ ($p < 0.001$) para los primeros y $r = 0.8393$ ($p < 0.001$) para los segundos.

. Entre el contenido en hierro ferritínico por gramo de peso seco de bazo y el detectado en el hígado, en los dos sexos (Figura 14).

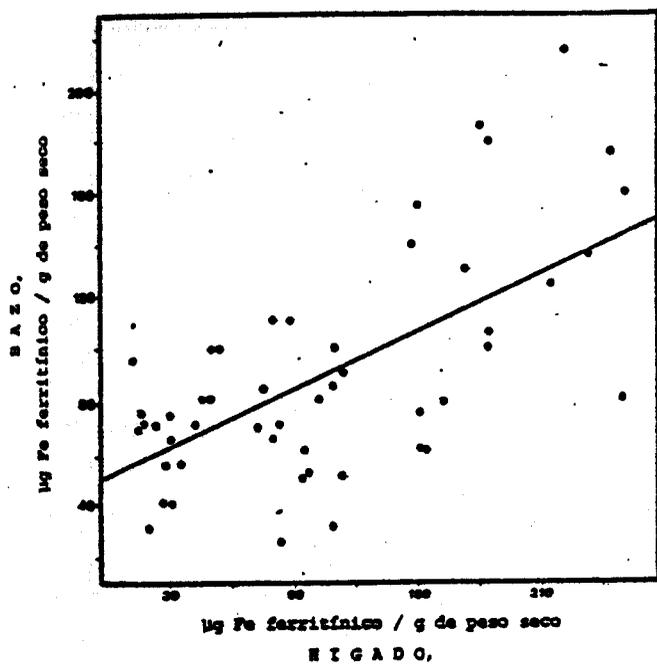
. Entre el hierro total por gramo de peso seco de bazo y el observado en el hígado, también en los dos sexos (Figura 15).

5.- RIÑONES

5.1.- VALORES PONDERALES

Al observar la Tabla VII vemos que el peso húmedo y el peso seco de estos órganos aumentan con la edad tanto en machos como en hembras, siendo no significativos en el paso de 13 a 18 semanas. Comparando los valores presentados en machos y en hembras a las 4 y 18 semanas, deducimos que se han multiplicado aproximadamente por 4; en cambio en las gallinas de puesta el factor es de 6. En función del sexo se observan diferencias significativas a las 18 semanas de edad cuando se calcula en peso seco ($p < 0.01$) el valor de estos órganos.

La relación entre peso húmedo y peso seco adquiere valores relativamente similares en todos los grupos situándose su valor medio en 4.5 aunque aparecen diferencias sexuales a las 8 semanas ($p < 0.05$) a favor de las hembras y a las 18 semanas ($p < 0.01$) a favor de los machos.

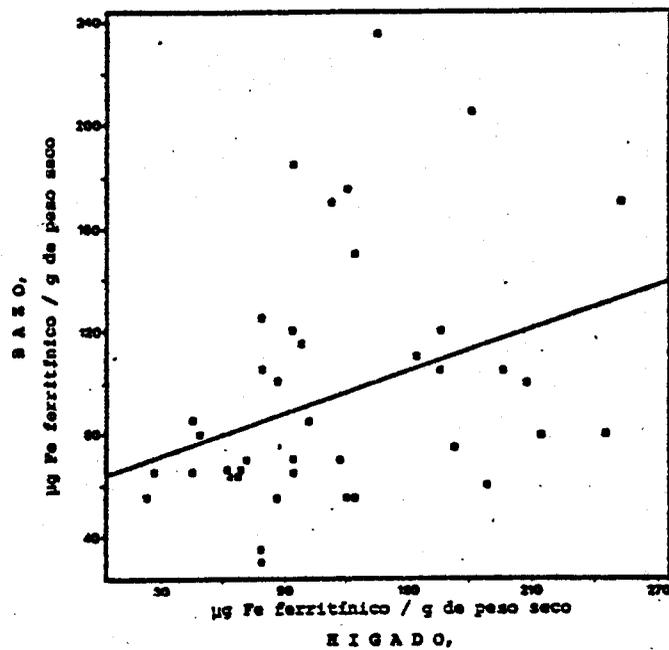


♀

$$r = 0.6427$$

$$p < 0.001$$

$$y = 0.38375x + 49.178$$



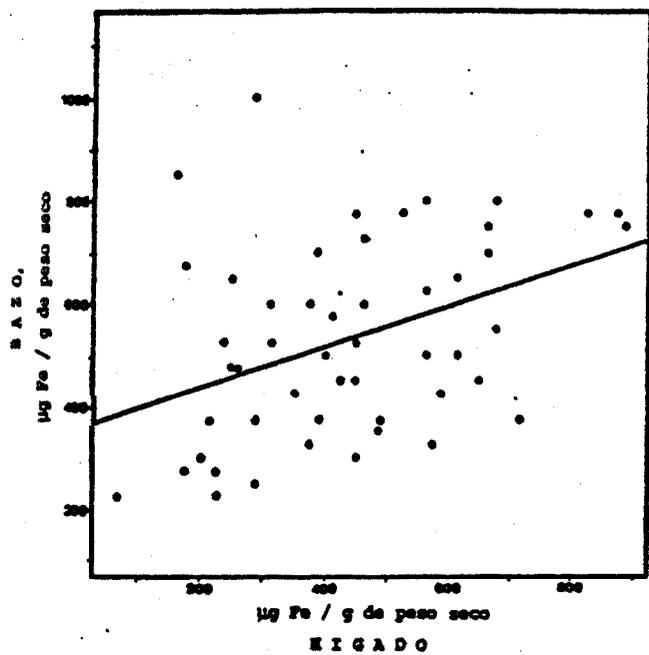
♂

$$r = 0.3360$$

$$p < 0.05$$

$$y = 0.27611x + 66.078$$

Figura 14.- Correlación entre la concentración de hierro ferritínico en bazo y en hígado de gallinas hembras (♀) y machos (♂) de raza Shaver.

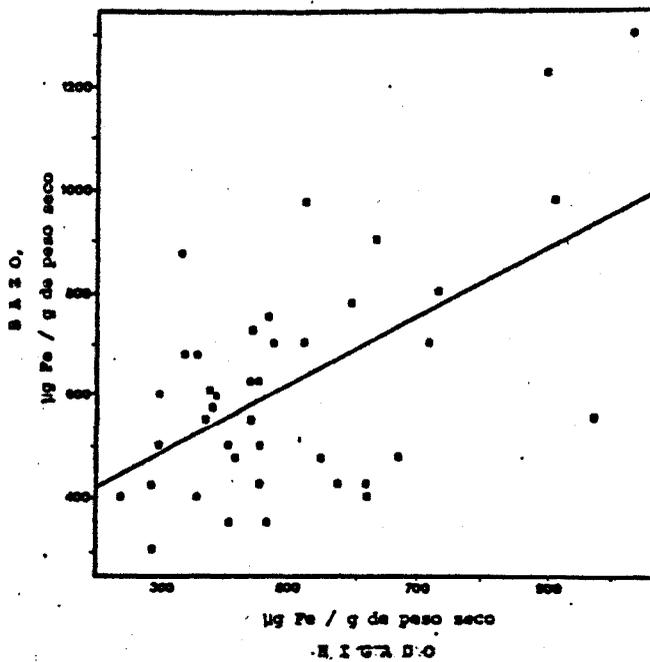


♀

$$r = 0.3766$$

$$p < 0.01$$

$$y = 0.36895x + 372.09$$



♂

$$r = 0.5779$$

$$p < 0.001$$

$$y = 0.67551x + 287.76$$

Figura 15.- Correlación entre la concentración de hierro en bazo y en hígado de gallinas hembras (♀) y machos (♂) de raza Shaver.

El peso relativo de los riñones desciende con la edad y es ligeramente superior en las hembras. Los valores de machos y de hembras difieren significativamente a las 13 ($p < 0.05$) y a las 18 semanas ($p < 0.001$).

5.2.- CONTENIDO EN HIERRO

También en la Tabla VII están expuestos en la última columna el contenido total en hierro en los dos riñones. El aumento en los machos carece de significación estadística en el paso de 13 a 18 semanas, y en las hembras entre las 4 y 8 semanas, y entre la prepuesta y puesta. No aparecen diferencias sexuales.

La edad según el análisis de la varianza influye en el contenido en hierro por gramo de peso seco de estos órganos (Figura 16) aunque los valores son muy parecidos en ambos sexos y no se detectan cambios importantes con el crecimiento.

5.3.- CORRELACIONES

Hemos estudiado la correlación entre la cantidad de hierro total en riñón y el hierro total en hígado siendo $r = 0.7498$ ($p < 0.001$) para los machos y $r = 0.6668$ ($p < 0.001$) para las hembras. También existe correlación en machos entre la cantidad de hierro por gramo de peso seco en riñones y la existente en el hígado siendo el valor de $r = 0.4115$ ($p < 0.01$).

6.- CORAZON

6.1.- VALORES PONDERALES

En la primera columna de la Tabla VIII observamos como el peso del corazón en ambos sexos aumenta con la edad,

Tabla VII

Valores ponderales y contenido total en hierro en riñones, en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Peso húmedo, g	Peso seco, g	$\frac{\text{Peso húmedo}}{\text{Peso seco}}$	Peso relativo, %	Hierro total, μg
4	♂	1.83 ± 0.066 (a)	0.44 ± 0.021 (a)	4.23 ± 0.087 (a)	1.07 ± 0.032 (a)	153.3 ± 12.00 (a)
	♀	1.79 ± 0.077 (a)	0.41 ± 0.016 (a)	4.13 ± 0.079	1.04 ± 0.024 (a)	117.3 ± 13.13 (a)
8	♂	3.98 ± 0.033 (b)	0.92 ± 0.036 (b)	4.39 ± 0.164 (a) [*]	0.85 ± 0.013 (b)	245.7 ± 21.07 (b)
	♀	4.13 ± 0.141 (b)	0.85 ± 0.032 (b)	4.87 ± 0.093	0.93 ± 0.034 (a)	229.0 ± 35.89 (a)
13	♂	6.89 ± 0.113 (c)	1.52 ± 0.030 (c)	4.53 ± 0.086 (a)	0.59 ± 0.011 (c) [*]	448.8 ± 23.22 (c)
	♀	7.30 ± 0.434 (c)	1.79 ± 0.198 (c,d)	4.25 ± 0.234	0.68 ± 0.036 (b)	432.8 ± 33.08 (c)
18	♂	7.34 ± 0.413 (c)	1.33 ± 0.093 (c) ^{**}	5.61 ± 0.246 (b) ^{**}	0.49 ± 0.024 (d) ^{***}	558.3 ± 58.41 (c)
	♀	7.82 ± 0.233 (c)	1.71 ± 0.085 (c)	4.65 ± 0.197	0.64 ± 0.019 (b)	685.2 ± 67.23 (c)
24	♀	11.19 ± 0.530 (d)	2.57 ± 0.168 (d)	4.43 ± 0.189	0.73 ± 0.026 (b)	956.0 ± 108.90 (c)

Valoración estadística: ver Tabla I

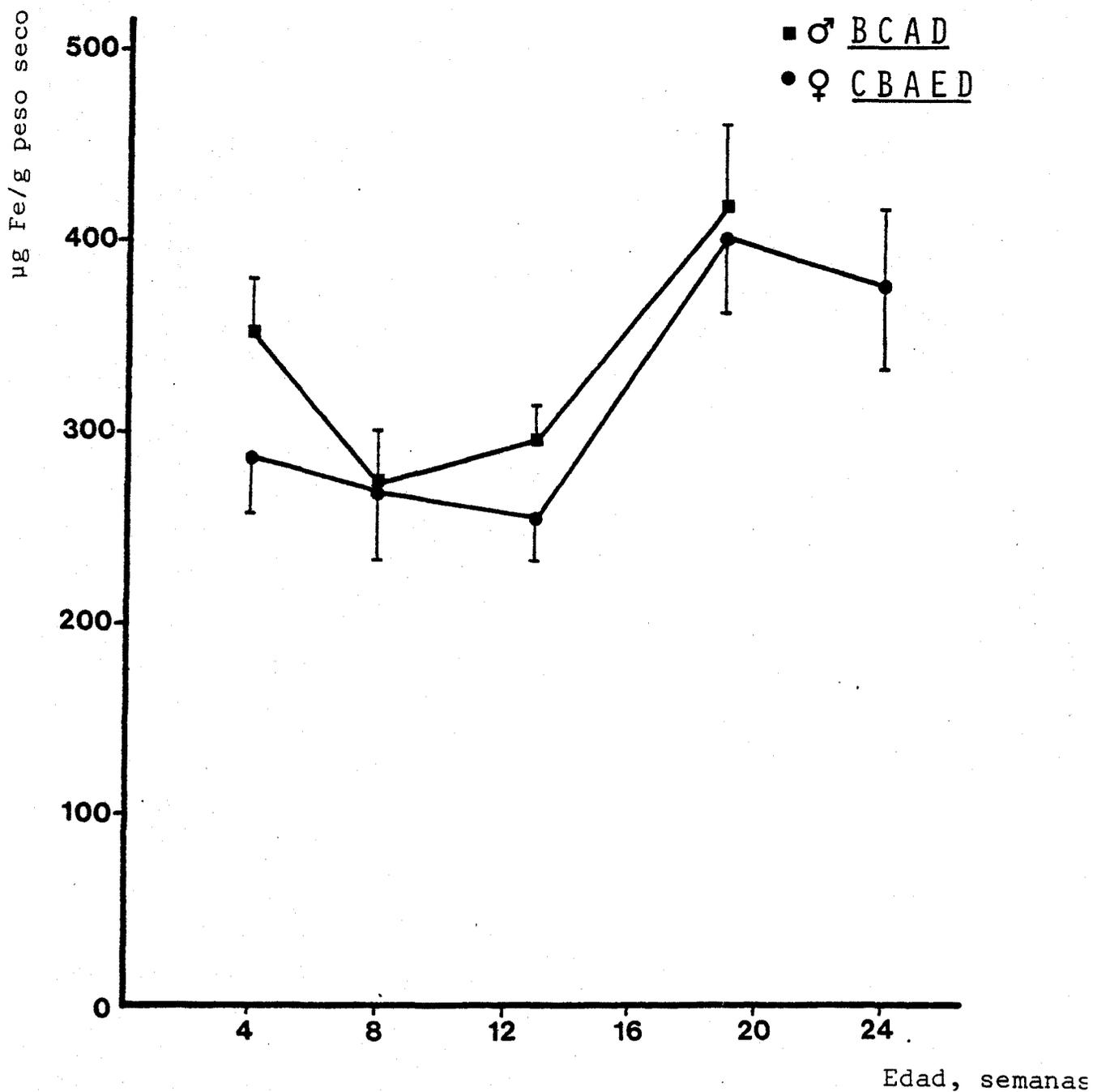


Figura 16 .- Contenido en hierro por gramo de peso seco en los riñones de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

siendo significativas las diferencias de valores en las tres primeras edades, así como entre gallinas de 18 y 24 semanas. A partir de las 13 semanas es cuando se observan diferencias sexuales ($p < 0.01$). La evolución de los pesos secos del órgano se ajusta prácticamente a lo dicho para el peso húmedo, aunque las diferencias entre sexos aparecen a las 8 semanas ($p < 0.05$).

El cociente entre el peso húmedo y el peso seco, varía muy poco en función de la edad y del sexo, existiendo únicamente diferencias entre machos y hembras a las 8 semanas ($p < 0.05$).

El peso relativo tiende a disminuir hasta las 13 semanas, para luego estabilizarse en 0.4 no apreciándose diferencias significativas según el sexo de los animales.

6.2.- CONTENIDO EN HIERRO

Los μg de hierro que contiene el tejido cardíaco están expresados en la quinta columna de esta misma tabla. Se observa un aumento progresivo hasta las 13 y 24 semanas en machos y hembras respectivamente, llegando a la puesta con un contenido en hierro 5 veces superior al que presentaban las pollitas más jóvenes (de 59 μg Fe se pasó a 318 μg Fe). El sexo no influye en el contenido en hierro en dicho órgano, tanto si lo expresamos por totales (Tabla VIII) como si lo expresamos por gramo de peso seco (Figura 17). En esta Figura no se detectan para uno cualquiera de los sexos diferencias estadísticamente significativas en función de la edad.

6.3.- CORRELACIONES

En nuestro estudio también hemos comprobado la existencia de correlación entre el hierro total del corazón y el hierro total en hígado en machos y en hembras siendo

Tabla VIII

Valores ponderales y contenido total en hierro en corazón, en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Peso húmedo, g	Peso seco, g	$\frac{\text{Peso húmedo}}{\text{Peso seco}}$	Peso relativo, %	Hierro total, μg
4	♂	1.18 ± 0.044 (a)	0.27 ± 0.017 (a)	4.37 ± 0.190 (a)	0.69 ± 0.024 (a)	60.0 ± 3.20 (a)
	♀	1.16 ± 0.059 (a)	0.24 ± 0.011 (a)	4.73 ± 0.097 (a,b)	0.67 ± 0.025 (a)	58.8 ± 4.58 (a)
8	♂	2.49 ± 0.061 (b)	0.53 ± 0.021 (b) [*]	4.72 ± 0.205 (a,b) [*]	0.52 ± 0.016 (b)	153.2 ± 10.24 (b)
	♀	2.47 ± 0.077 (b)	0.47 ± 0.010 (b)	5.24 ± 0.128 (a)	0.55 ± 0.019 (b)	157.5 ± 17.47 (b)
13	♂	5.65 ± 0.190 (c) ^{**}	1.18 ± 0.057 (c)	4.82 ± 0.132 (a,b)	0.49 ± 0.018 (b,c)	323.9 ± 68.37 (b,c)
	♀	4.72 ± 0.188 (c)	1.06 ± 0.071 (c)	4.55 ± 0.182 (a,b)	0.44 ± 0.016 (c)	221.9 ± 26.97 (b,c)
18	♂	6.70 ± 0.332 (c) ^{**}	1.31 ± 0.087 (c)	5.15 ± 0.117 (b)	0.44 ± 0.017 (c)	303.7 ± 25.90 (c)
	♀	5.34 ± 0.146 (c)	1.10 ± 0.059 (c)	4.92 ± 0.179 (a,b)	0.43 ± 0.011 (c)	301.1 ± 22.36 (c)
24	♀	6.13 ± 0.179 (d)	1.37 ± 0.067 (c)	4.54 ± 0.155 (b)	0.41 ± 0.015 (c)	318.3 ± 17.46 (c)

Valoración estadística: ver Tabla I

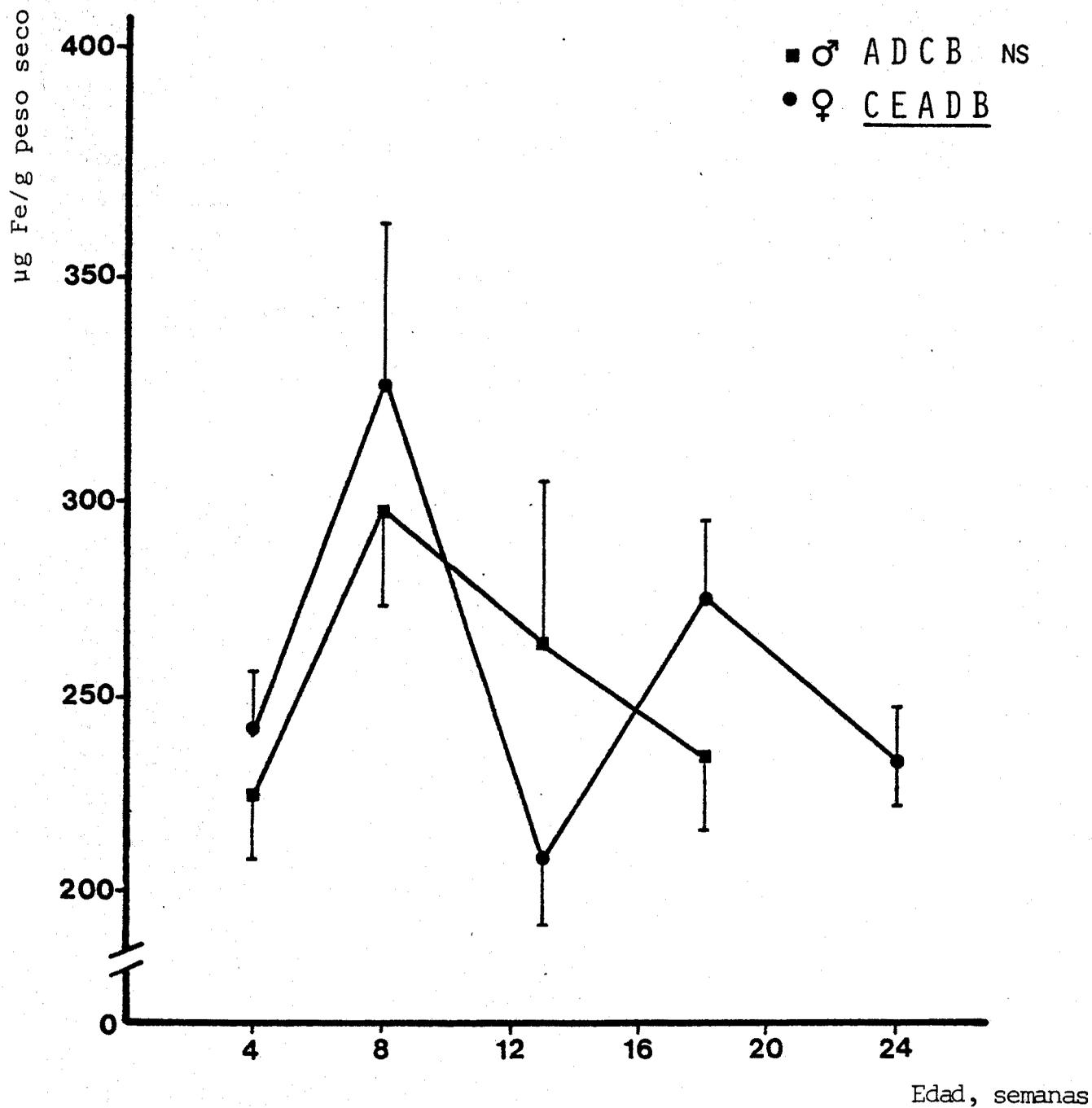


Figura 17.- Contenido en hierro por gramo de peso seco en corazón de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

los valores de $r = 0.5321$ ($p < 0.001$) y $r = 0.6841$ ($p < 0.001$) respectivamente.

7.- MUSCULO PECTORAL

7.1.- CONTENIDO EN HIERRO

En la Figura 18 están representados gráficamente los μg de hierro que contiene un gramo de músculo pectoral deshidratado, según la edad y el sexo.

Observamos hasta las 13 semanas unos valores similares en los dos sexos. A partir de aquí los machos se mantienen más o menos estables ($30 \mu\text{g Fe/g}$ peso seco) mientras que las hembras experimentan una subida a las 18 semanas ($68 \mu\text{g Fe/g}$ peso seco) para descender (en este caso el 50 %) en la época de puesta aunque estas oscilaciones no son significativas.

El grado de humedad de este tejido es del 73 %.

7.2.- CORRELACIONES

En el estudio de las correlaciones, detectamos en hembras, correspondencia entre el contenido en hierro por gramo de peso seco del hígado y el encontrado por gramo de peso seco de músculo pectoral, con un coeficiente de correlación de $r = 0.4907$ ($p < 0.001$).

8.- INTESTINO

8.1.- DUODENO

8.1.1.- VALORES PONDERALES Y CONTENIDO EN HIERRO

TOTAL

El duodeno en los pollos es fácil de delimitar.



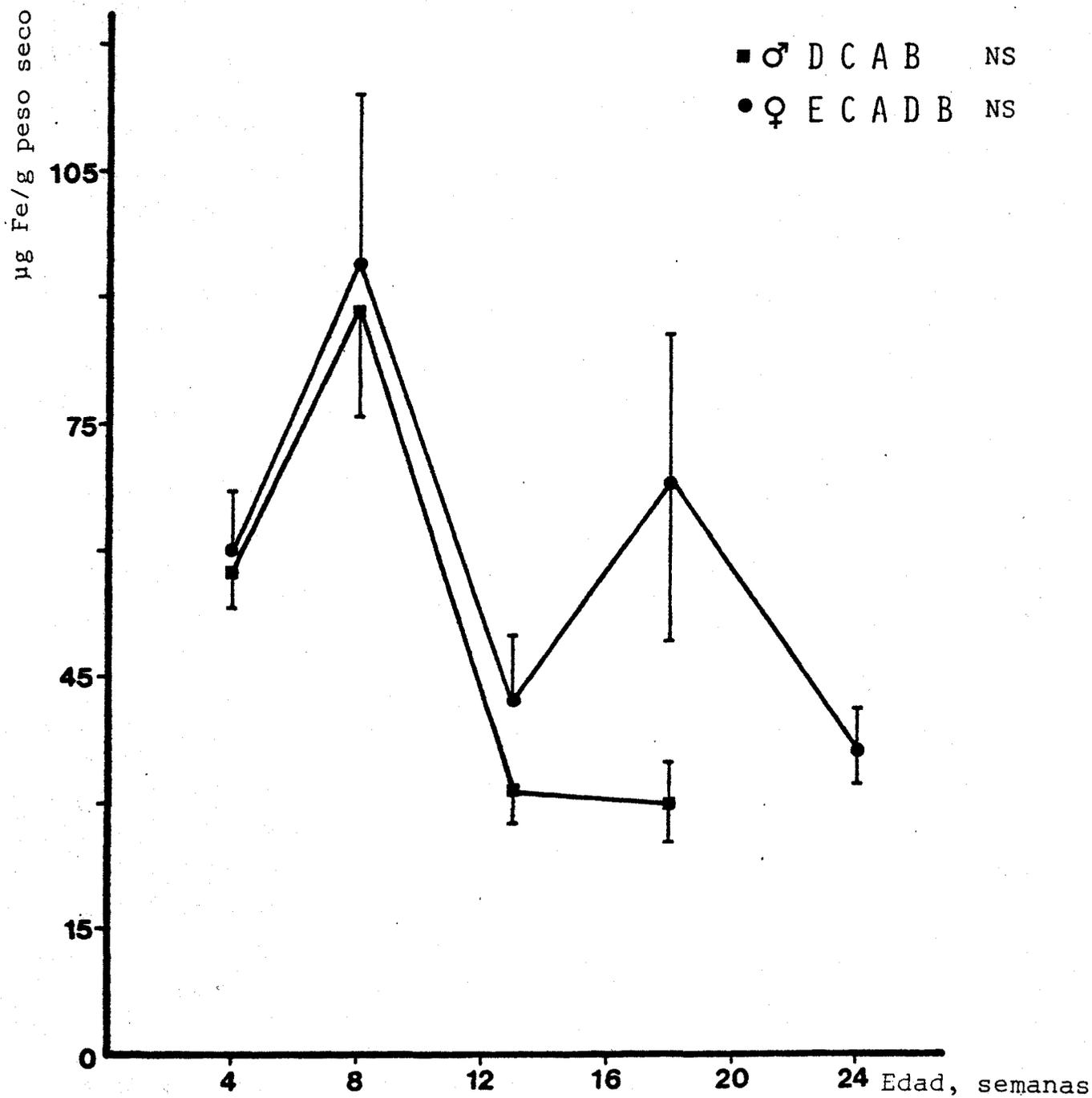


Figura 18.- Contenido en hierro por gramo de peso seco en músculo pectoral de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

los valores medios del peso húmedo y peso seco de este tramo intestinal, así como también la relación entre ambas variables han quedado tabulados en la Tabla IX. El peso húmedo de duodeno en los dos sexos, aumenta con la edad hasta las 18 ó 24 semanas en machos y hembras respectivamente, a excepción del grupo de hembras de 13 semanas. En general los valores son ligeramente más altos en los machos existiendo diferencias significativas a las 4 y 13 semanas. Si expresamos esta variable en peso seco, aparece una nueva significación sexual a las 8 semanas ($p < 0.05$). La relación entre peso húmedo y peso seco presenta pequeñas oscilaciones en función de la edad, observándose diferencias sexuales en las cuatro edades estudiadas con un nivel de significación $p < 0.001$ en todas ellas.

La longitud, la relación entre peso húmedo y longitud, el diámetro y el contenido total en hierro del duodeno están ordenados en la Tabla X. El parámetro longitud experimenta un ligero aumento en ambos sexos en función de la edad, y se observan diferencias sexuales significativas a las 4 ($p < 0.01$) y a las 13 semanas ($p < 0.001$). El duodeno de las hembras alcanza una longitud de 31 cm al estabilizarse la puesta.

El cociente entre el peso húmedo y la longitud aumenta, en machos y en hembras, sensiblemente entre la edad de 4 y 8 semanas. Los machos volverán a experimentar otro aumento entre las 13 y 18 semanas y las hembras mantendrán más o menos estable el valor adquirido a las 8 semanas. Diferencias sexuales se detectan solo en animales adultos.

El diámetro exterior en este tramo intestinal varía muy poco en las primeras edades, y es únicamente en el grupo de 18 semanas cuando se detectan diferencias sexuales ($p < 0.05$).

El contenido en hierro total tiende a disminuir con la edad en los machos hasta las 13 semanas para luego aumentar. En el caso de las hembras el proceso en función de la edad es diferente presentando alternancias y figuran-

Tabla IX

Valores ponderales del duodeno en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Peso húmedo, g	Peso seco, g	$\frac{\text{Peso húmedo}}{\text{Peso seco}}$
4	♂	4.7 ± 0.24 (a)***	1.2 ± 0.06 (a)***	3.81 ± 0.003 (a)***
	♀	3.5 ± 0.16 (a)	0.8 ± 0.04 (a)	4.25 ± 0.005 (a)
8	♂	6.2 ± 0.24 (b)	1.5 ± 0.06 (b)*	4.21 ± 0.003 (b)***
	♀	6.0 ± 0.27 (b)	1.3 ± 0.06 (b)	4.68 ± 0.003 (b)
13	♂	7.4 ± 0.25 (c)***	1.7 ± 0.06 (c)*	4.24 ± 0.002 (c)***
	♀	5.7 ± 0.30 (b)	1.5 ± 0.08 (b)	3.86 ± 0.002 (c)
18	♂	9.1 ± 0.43 (d)	2.0 ± 0.10 (c)	4.44 ± 0.002 (d)***
	♀	7.9 ± 0.47 (c)	2.0 ± 0.12 (c)	3.97 ± 0.002 (d)
24	♀	9.3 ± 0.42 (c)	2.3 ± 0.10 (c)	4.08 ± 0.001 (e)

Valoración estadística: ver Tabla I

Tabla X

Valores anatómicos y contenido total en hierro en duodeno en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Longitud, cm	Peso húmedo Longitud	Diámetro, cm	Hierro total, µg
4	♂	20.5 ± 0.69 (a)**	0.23 ± 0.011 (a)	0.61 ± 0.010 (a)	460.3 ± 23.09 (a)***
	♀	17.6 ± 0.49 (a)	0.20 ± 0.009 (a)	0.56 ± 0.031 (a)	208.5 ± 9.70 (a)
8	♂	22.6 ± 0.64 (a,b)	0.28 ± 0.010 (b)	0.60 ± 0.040 (a,b)	414.3 ± 16.26 (a)**
	♀	21.1 ± 0.79 (b)	0.29 ± 0.015 (b)	0.63 ± 0.037 (a,b)	335.8 ± 15.30 (b)
13	♂	25.8 ± 0.86 (b)***	0.29 ± 0.010 (b)	0.77 ± 0.037 (b,c)	307.0 ± 10.43 (b)***
	♀	20.2 ± 0.72 (a,b)	0.28 ± 0.012 (b)	0.75 ± 0.017 (b,c)	229.8 ± 12.25 (a)
18	♂	24.6 ± 0.79 (b)	0.37 ± 0.014 (c)**	0.91 ± 0.046 (c)*	411.0 ± 19.43 (a)
	♀	25.8 ± 1.15 (c)	0.31 ± 0.012 (b)	0.75 ± 0.030 (b,c)	455.1 ± 27.26 (c)
24	♀	30.7 ± 1.01-(d)	0.30 ± 0.011 (b)	0.86 ± 0.031 (c)	650.5 ± 29.28 (d)

Valoración estadística: ver Tabla I

do los valores más bajos en las pollitas de 4 semanas (208.5 μg) y los más elevados en las gallinas de puesta (650.5 μg). El sexo en este caso presenta influencia a las 4 ($p < 0.001$), 8 ($p < 0.01$) y 13 semanas ($p < 0.001$).

Si expresamos la concentración de hierro por gramo de peso seco (Figura 19) se detectan oscilaciones parecidas a la variable anterior, ahora bien las diferencias sexuales que observamos al expresar dicha concentración por totales (Tabla X) desaparecen casi todas, permaneciendo una pequeña diferencia significativa ($p < 0.05$) en los ejemplares de 4 semanas.

8.2.- YEUUNO

8.2.1.- VALORES PONDERALES Y CONTENIDO EN HIERRO TOTAL

Como ya hemos citado en el apartado 3.4.1.2. de la primera parte de Material y Métodos, es difícil delimitar en los pollos, el yeyuno y el íleon por lo que la longitud que se indica fue convencional. Para estos dos fragmentos de intestino delgado los valores anatómicos realmente de interés son los cocientes entre peso húmedo y peso seco, entre peso húmedo y longitud y el diámetro externo.

Los márgenes en que se mantienen los cocientes entre peso húmedo y peso seco (Tabla XI) son muy estrechos (3.9 - 4.3 y 3.6 - 4.7 machos y hembras respectivamente), pero presentan diferencias a causa del sexo en todas las edades, con un mismo nivel de significación ($p < 0.001$).

En la Tabla XII se expresan también algunos valores anatómicos y el contenido total en hierro. Tanto la relación entre peso húmedo y longitud como el diámetro externo tienden a aumentar con la edad, con valores en algunos casos ligeramente más elevados en los machos.

El contenido en hierro total aumenta solo significativamente a las 18 semanas, pero aparecen diferencias

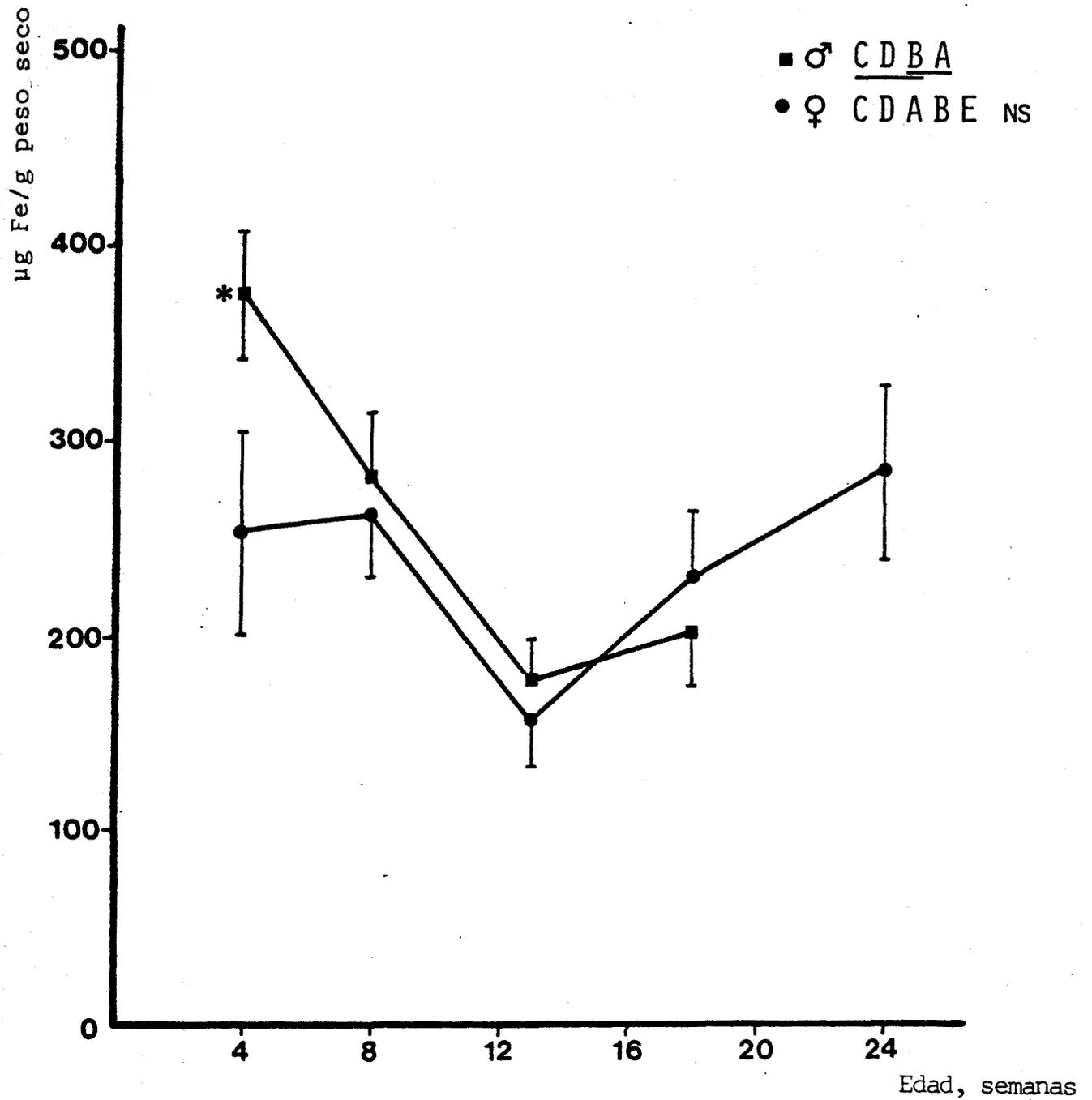


Figura 19.- Contenido en hierro por gramo de peso seco en duodeno de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

Tabla XI

Valores ponderales del yeyuno, en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Peso húmedo, g	Peso seco, g	$\frac{\text{Peso húmedo}}{\text{Peso seco}}$
4	♂	4.5 ± 0.22 (a)*	1.2 ± 0.06 (a)**	3.87 ± 0.003 (a)***
	♀	3.9 ± 0.13 (a)	0.9 ± 0.03 (a)	4.27 ± 0.005 (a)
8	♂	7.1 ± 0.29 (b)	1.7 ± 0.07 (b)	4.19 ± 0.003 (b)***
	♀	7.0 ± 0.37 (b)	1.5 ± 0.08 (b)	4.71 ± 0.003 (b)
13	♂	9.0 ± 0.62 (b,c)	2.3 ± 0.16 (c)	3.97 ± 0.001 (c)***
	♀	8.0 ± 0.33 (b,c)	2.2 ± 0.09 (c)	3.68 ± 0.001 (c)
18	♂	11.3 ± 0.73 (c)*	2.6 ± 0.17 (c)	4.31 ± 0.001 (d)***
	♀	9.0 ± 0.23 (c,d)	2.3 ± 0.10 (c,d)	3.89 ± 0.004 (d)
24	♀	10.1 ± 0.48 (d)	2.8 ± 0.13 (d)	3.64 ± 0.001 (e)

Valoración estadística: ver Tabla I

Tabla XII

Valores anatómicos y contenido total en hierro en yeyuno, en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Longitud, cm	$\frac{\text{Peso húmedo}}{\text{Longitud}}$	Diámetro, cm	Hierro total, μg
4	♂	30.0 ± 0.00 (a)	0.15 ± 0.007 (a)*	0.52 ± 0.020 (a)	278.8 ± 13.30 (a)**
	♀	30.0 ± 0.00 (a)	0.13 ± 0.004 (a)	0.52 ± 0.013 (a)	217.9 ± 7.40 (a)
8	♂	39.0 ± 0.50 (b)	0.18 ± 0.005 (b)	0.54 ± 0.027 (a,b)	289.8 ± 11.73 (a)***
	♀	39.5 ± 0.50 (b)	0.18 ± 0.009 (b)	0.52 ± 0.036 (a,b)	218.9 ± 11.52 (a)
13	♂	44.3 ± 1.73 (b)*	0.20 ± 0.008 (b)	0.62 ± 0.025 (b)	247.7 ± 17.14 (a)
	♀	39.6 ± 0.40 (b)	0.20 ± 0.008 (b,c)	0.59 ± 0.023 (a,b,c)	255.0 ± 10.60 (a)
18	♂	40.0 ± 0.00 (a,b)	0.28 ± 0.018 (c)*	0.79 ± 0.023 (c)***	395.0 ± 25.66 (b)*
	♀	40.0 ± 0.00 (a,b)	0.23 ± 0.006 (c)	0.65 ± 0.017 (b,c)	327.8 ± 8.44 (b)
24	♀	44.0 ± 1.63 (b)	0.23 ± 0.007 (c)	0.69 ± 0.031 (c)	422.5 ± 20.24 (c)

Valoración estadística: ver Tabla I

sexuales en casi todas las edades. Las gallinas de puesta han aumentado casi un 100 % (422 μg Fe) el valor observado a las 4 semanas (218 μg Fe).

En la Figura 20 tenemos expresada esta misma variable por gramo de tejido seco. Los machos y hembras siguen un proceso semejante sin variaciones significativas entre grupos en función de la edad o del sexo.

8.3.- ILEON

8.3.1.- VALORES PONDERALES Y CONTENIDO EN HIERRO

El cociente entre peso húmedo y peso seco (Tabla XIII) en machos disminuye sensiblemente hasta las 13 semanas para luego aumentar adquiriendo un valor próximo al que presentaban los ejemplares jóvenes (4 semanas). Esta relación en las hembras oscila con la edad. En función del sexo se observan diferencias significativas a las 13 y 18 semanas ($p < 0.01$).

La relación entre peso húmedo y longitud (Tabla XIV) experimenta un ligero aumento en función de la edad, quedando el valor duplicado, a las 18 semanas, respecto al observado en los animales más jóvenes. Solamente existen diferencias sexuales significativas en el grupo de 4 semanas con un nivel de significación de $p < 0.05$.

El diámetro externo de este tramo intestinal en las tres primeras edades estudiadas no presentan variación significativa en ninguno de los dos sexos, es a partir de las 13 semanas que experimenta un aumento considerable. El sexo influye solamente en el grupo de 18 semanas de edad con un nivel de significación $p < 0.001$ a favor de los machos.

La concentración de hierro total en el íleon, presenta oscilaciones en función de la edad dándose a las 13 semanas, un pequeño descenso tanto en machos como en hembras. Comparando el aumento experimentado desde las 4 semanas hasta las 18, es menos acusado en los machos que en las hembras

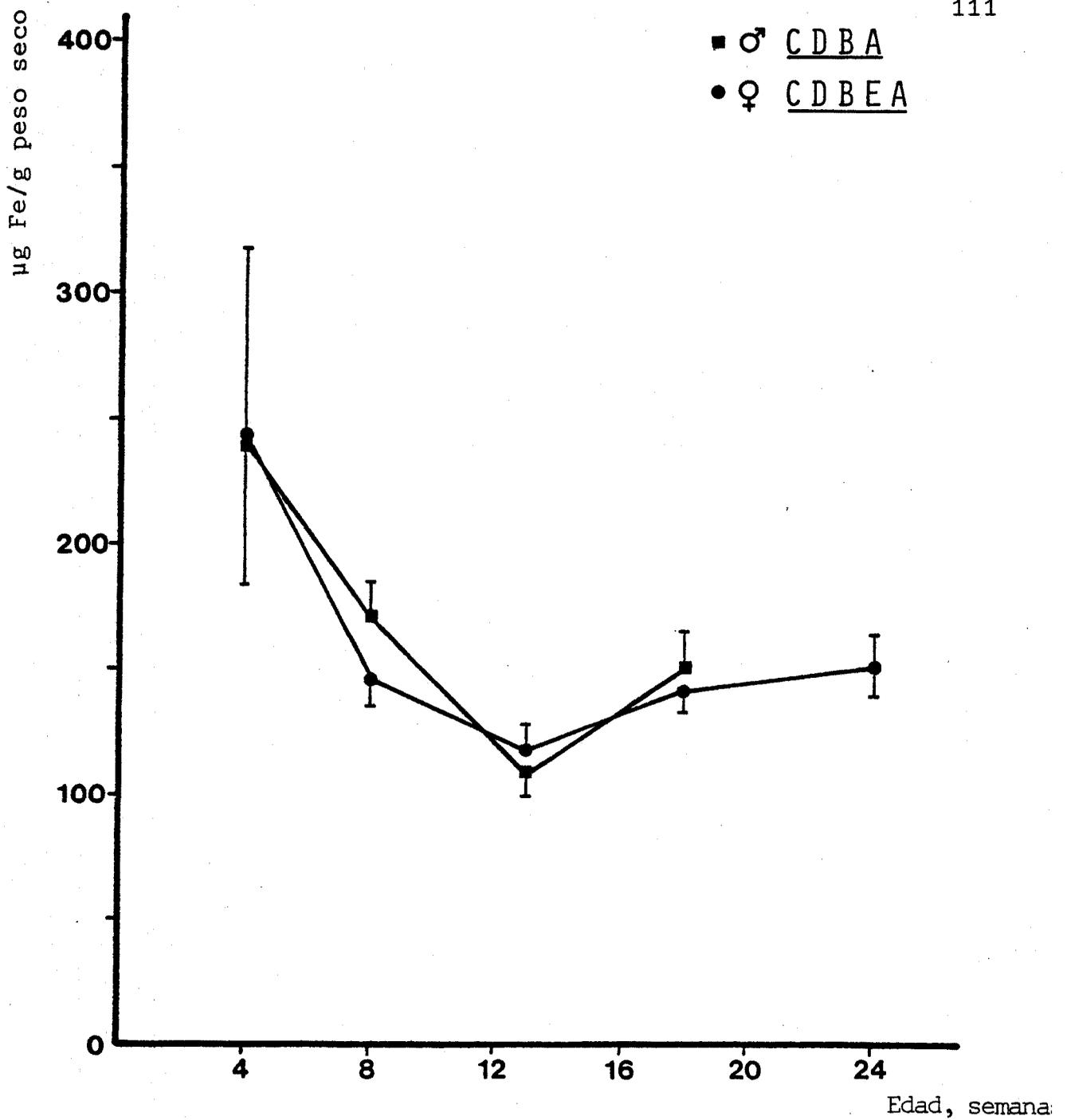


Figura 20.- Contenido en hierro por gramo de peso seco en yeyuno de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

Tabla XIII

Valores ponderales del íleon en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Peso húmedo, g	Peso seco, g	$\frac{\text{Peso húmedo}}{\text{Peso seco}}$
4	♂	3.7 ± 0.22 (a) ^{***}	0.9 ± 0.06 (a) ^{***}	3.99 ± 0.005 (a)
	♀	2.3 ± 0.14 (a)	0.6 ± 0.03 (a)	3.86 ± 0.103 (a)
8	♂	5.5 ± 0.43 (b)	1.4 ± 0.11 (b) ^{**}	3.87 ± 0.003 (b)
	♀	4.3 ± 0.33 (b)	0.8 ± 0.12 (a,b)	4.22 ± 0.232 (a,c)
13	♂	5.5 ± 0.52 (b) [*]	1.5 ± 0.14 (b)	3.65 ± 0.003 (c) ^{***}
	♀	4.0 ± 0.21 (b)	1.3 ± 0.07 (b)	3.16 ± 0.002 (b)
18	♂	6.9 ± 0.16 (b)	1.7 ± 0.15 (b)	4.29 ± 0.175 (a,b) ^{***}
	♀	7.0 ± 0.66 (c)	2.0 ± 0.19 (c)	3.42 ± 0.002 (c)
24	♀	9.4 ± 0.59 (c)	3.2 ± 0.20 (d)	2.96 ± 0.001 (d)

Valoración estadística: ver Tabla I

(23 % y 146 % respectivamente), para las gallinas de puesta esos valores representan 3.6 veces más que a las 4 semanas. Se observan diferencias debido al sexo en animales de 4 y 8 semanas de edad ($p < 0.001$). Si esta misma variable la expresamos por gramo de peso seco (Figura 21) los machos presentan una pequeña subida de 4 a 8 semanas y otra, más acentuada, de 13 a 18 semanas. El descenso que se produce en el intervalo de tiempo de 8 a 13 semanas es bastante notorio reduciéndose su contenido a la mitad. La gráfica correspondiente a las hembras presenta una disminución paulatina en las tres primeras edades para luego presentar unas pequeñas oscilaciones hasta llegar a la puesta. A pesar de que los cambios son más notables en los machos que en las hembras, no se detectan diferencias significativas.

8.4.- VALORES PONDERALES Y CONTENIDO EN HIERRO EN EL INTESTINO DELGADO

En la Tabla XV exponemos los valores de longitud, peso húmedo y μg de hierro del intestino delgado. La longitud en los machos, varía muy poco en función de la edad, estabilizándose prácticamente a las 13 semanas (110 cm). En las hembras sigue aumentando hasta alcanzar valores de 127.6 cm en las gallinas de puesta. Observamos que el factor sexo influye significativamente a las 4 ($p < 0.001$) y a las 13 semanas ($p < 0.01$) siendo en los dos casos a favor de los machos.

El peso total del intestino aumenta con la edad hasta las 18 y 24 semanas según sea machos o hembras. En esta variable como en el caso anterior hay diferencias significativas entre machos y hembras a las 4 ($p < 0.001$) y 13 semanas ($p < 0.05$).

Los microgramos de hierro presentes en el conjunto del intestino en los dos sexos incrementan con la edad excepto en los animales de 13 semanas. Las gallinas en puesta contienen en el intestino unos 1386 microgramos de hie-

Tabla XIV

Valores anatómicos y contenido total en hierro en íleon, en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo,

Edad, semanas	Sexo	Longitud, cm	Peso húmedo / Longitud	Diámetro, cm	Hierro total, µg
4	♂	35.6 ± 1.37 ^{***}	0.10 ± 0.006 (a) [*]	0.41 ± 0.018 (a)	159.5 ± 9.53 (a) ^{***}
	♀	26.9 ± 1.65 (a)	0.09 ± 0.002 (a)	0.41 ± 0.018 (a)	86.0 ± 4.96 (a)
8	♂	40.8 ± 2.28	0.13 ± 0.004 (b)	0.40 ± 0.021 (a)	268.2 ± 21.04 (b) ^{***}
	♀	35.2 ± 1.97 (b)	0.12 ± 0.007 (b)	0.40 ± 0.026 (a)	106.3 ± 15.53 (a)
13	♂	40.1 ± 2.71 [*]	0.14 ± 0.006 (b)	0.44 ± 0.016 (a)	110.7 ± 10.38 (c)
	♀	31.4 ± 1.92 (a,b)	0.13 ± 0.006 (b)	0.43 ± 0.021 (a,b)	97.9 ± 5.10 (a)
18	♂	34.5 ± 2.38	0.20 ± 0.018 (c)	0.62 ± 0.020 (b) ^{***}	196.9 ± 18.03 (a,b)
	♀	41.1 ± 3.66 (b,c)	0.17 ± 0.008 (c)	0.51 ± 0.018 (b)	211.5 ± 19.90 (b)
24	♀	52.9 ± 2.73 (c)	0.18 ± 0.006 (c)	0.51 ± 0.028 (a,b)	313.0 ± 19.70 (c)

Valoración estadística: ver Tabla I

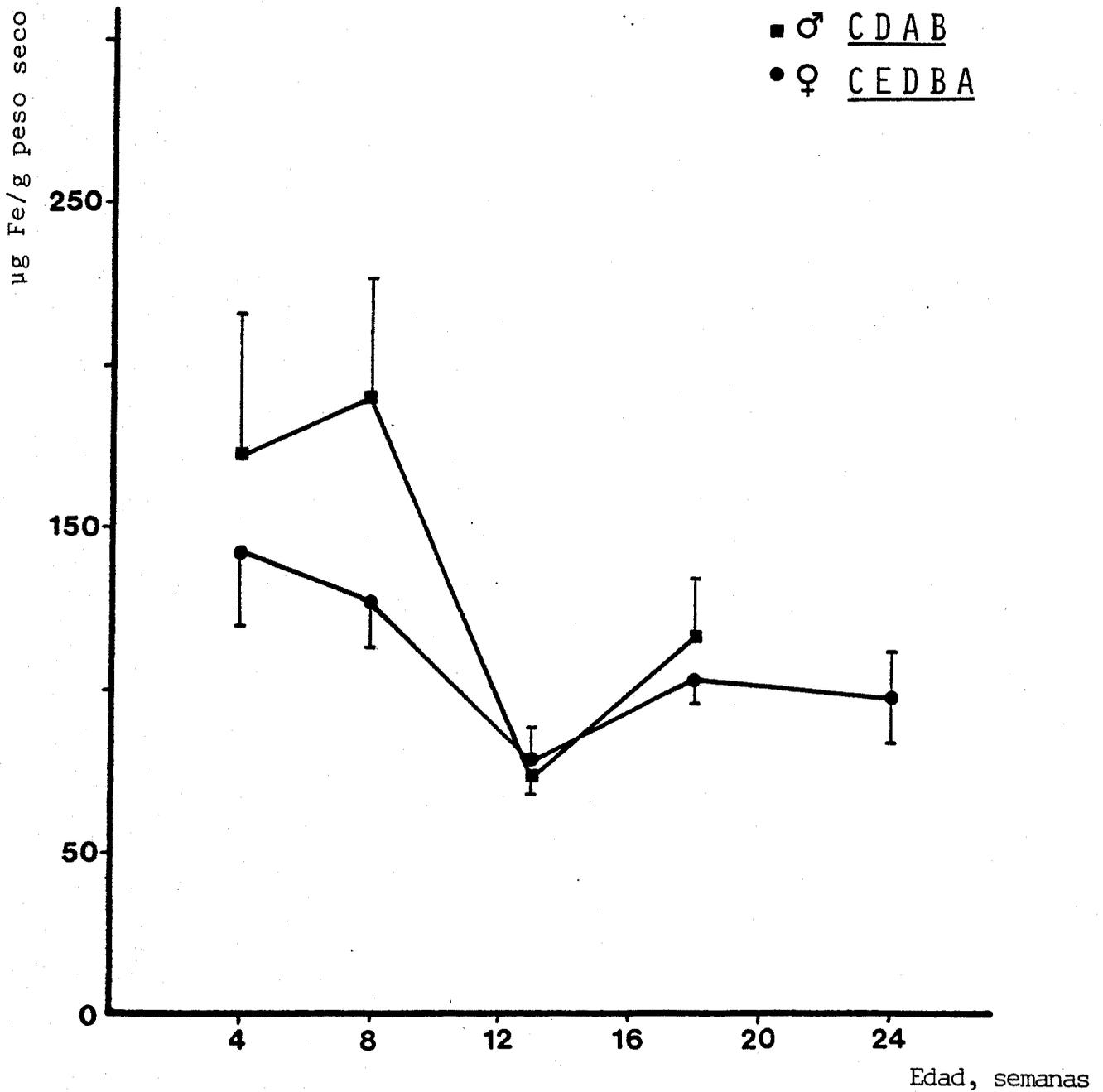


Figura 21.- Contenido en hierro por gramo de peso seco en íleon de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

Tabla XV

Valores ponderales y contenido total en hierro en intestino total, en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Longitud, cm	Peso, g	Hierro total, µg
4	♂	86.1 ± 1.32(a)***	12.9 ± 0.50(a)***	898.6 ± 34.83(a)***
	♀	74.5 ± 1.81(a)	9.7 ± 0.33(a)	512.4 ± 17.72(a)
8	♂	102.4 ± 3.34(b)	18.7 ± 0.87(b)	972.3 ± 44.59(a)***
	♀	95.8 ± 2.85(b)	17.3 ± 0.73(b)	661.0 ± 25.75(b)
13	♂	110.1 ± 3.37(b)**	21.9 ± 0.94(b,c)*	665.4 ± 27.01(b)*
	♀	91.2 ± 2.63(b)	17.6 ± 0.72(b)	582.6 ± 24.33(a,b)
18	♂	99.0 ± 1.59(b)	27.3 ± 1.54(c)	1002.9 ± 54.16(a)
	♀	106.9 ± 4.57(b)	23.8 ± 1.09(c)	994.3 ± 46.08(c)
24	♀	127.6 ± 2.84(c)	28.8 ± 0.97(d)	1386.0 ± 47.62(d)

Valoración estadística: ver Tabla I

rro. Detectamos diferencias sexuales a las 4, 8 y 13 semanas siendo los niveles de significación de $p < 0.001$ para las dos primeras edades y de $p < 0.05$ para la tercera edad y los machos acusan siempre los valores más altos.

9.- PLUMAS

9.1.- VALORES PONDERALES

Los valores ponderales correspondientes a plumas y el contenido en μg de hierro total correspondiente al mismo tejido, han quedado tabulados numéricamente en la Tabla XVI.

A medida que crecen los animales, el peso húmedo y seco de las plumas aumenta significativamente. En función del sexo detectamos diferencias importantes a las 4 y 8 semanas.

El cociente entre peso húmedo y peso seco en ambos sexos no varía sensiblemente hasta las 13 semanas, observándose a continuación un descenso. El contenido en agua oscila desde un 16 % en la puesta a un 44 % en los machos de 13 semanas. Existen diferencias sexuales a las 8 y 18 semanas con niveles de significación $p < 0.05$ y $p < 0.01$ respectivamente.

El peso relativo de las plumas aumenta con el crecimiento de los animales, presentando los valores más altos las hembras, a excepción de los animales jóvenes, y siendo a esta edad cuando el nivel de significación es mayor ($p < 0.001$).

9.2.- CONTENIDO EN HIERRO

Los mg de hierro total presentes en las plumas también aumentan con la edad, observándose en el caso de los machos que la concentración que presentaban los más jóvenes (1.2 mg Fe) ha aumentado 4 veces a las 18 semanas (4.9 mg Fe).

Tabla XVI

Valores ponderales y contenido total en hierro en plumas, en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Peso húmedo, g	Peso seco, g	$\frac{\text{Peso húmedo}}{\text{Peso seco}}$	Peso relativo, %	Hierro total, mg
4	♂	11.2 ± 0.36 (**)	7.1 ± 0.28 (*)	1.58 ± 0.025 (a)	6.56 ± 0.204 (***)	1.2 ± 0.09 (a)
	♀	9.3 ± 0.41 (a)	6.0 ± 0.33 (a)	1.56 ± 0.069 (a)	5.39 ± 0.178 (a)	1.1 ± 0.19 (a)
8	♂	33.0 ± 0.82 (*)	19.8 ± 0.56 (**)	1.67 ± 0.053 (*)	7.02 ± 0.160 (a,b)*	3.1 ± 0.22 (b)
	♀	38.2 ± 1.73 (b)	25.6 ± 1.46 (b)	1.51 ± 0.054 (a)	8.51 ± 0.259 (b,c)	5.2 ± 1.02 (b)
13	♂	98.1 ± 10.96 (c)	54.9 ± 3.96 (c)	1.80 ± 0.131 (a,b)	8.38 ± 0.844 (a,b)	3.9 ± 0.35 (b)*
	♀	98.0 ± 2.27 (c)	65.4 ± 3.78 (c)	1.53 ± 0.070 (a)	9.16 ± 0.219 (b)	5.4 ± 0.56 (b)
18	♂	123.4 ± 4.79 (c)	89.7 ± 4.27 (d)	1.38 ± 0.034 (**)	8.27 ± 0.451 (b)*	4.9 ± 0.73 (b)
	♀	117.1 ± 3.01 (d)	90.3 ± 3.89 (d)	1.31 ± 0.044 (a,b)	9.52 ± 0.328 (b)	6.3 ± 0.48 (b)
24	♀	111.9 ± 5.22 (c,d)	93.4 ± 3.68 (d)	1.20 ± 0.033 (b)	7.37 ± 0.347 (c)	11.1 ± 1.24 (c)

Valoración estadística: ver Tabla I

En las hembras los valores son más elevados alcanzándose 11.1 mg Fe en el momento de la puesta. A la temprana edad de 4 semanas los machos y hembras presentan casi la misma concentración de hierro total y a partir de ésta los valores más altos se detectaban en las hembras, dichas diferencias toman significación estadística únicamente en el grupo de 13 semanas ($p < 0.05$). Al expresar la concentración de hierro total por gramo de peso seco de plumas (Figura 22), observamos un descenso con la edad significativo en los machos. No existen diferencias sexuales.

9.3.- CORRELACIONES

Realizamos el estudio de correlaciones, entre el contenido en hierro total presente en las plumas y el contenido en hierro total en hígado en los dos sexos ($r = 0.5778$) ($p < 0.001$) y $r = 0.6696$ ($p < 0.001$) machos y hembras respectivamente), y entre el contenido en hierro total por gramo de peso seco entre los dos tejidos citados, pero solo fue significativo en los machos ($r = 0.4103$ $p < 0.001$).

10.- HIERRO EN EL LIQUIDO DE PERFUSION Y EN CARCASA

Antes de presentar la Tabla XVIII que expresa el contenido en hierro del animal entero, nos hemos visto obligados a indicar la cantidad de hierro existente en el líquido de perfusión (Tabla XVII) (sangre más ClNa al 0.9 %) y en la carcasa (resto del animal una vez extraídos todos los órganos, intestino completo y plumas), pues aunque en nuestro caso carezca de significación, si se quisiera calcular el contenido total de hierro sumando las concentraciones parciales no cuadrarían los resultados con lo expuesto en la Tabla XVIII.

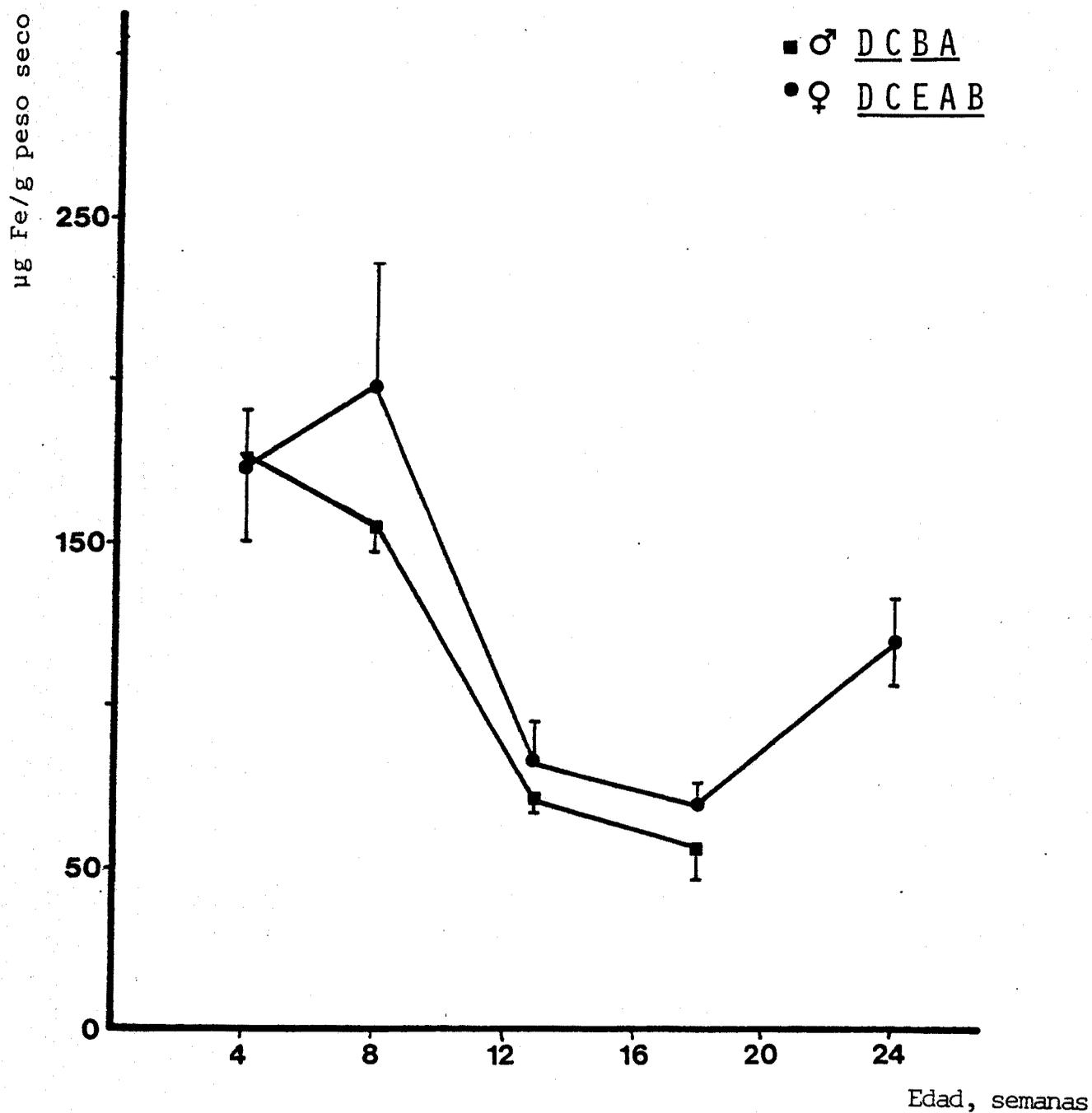


Figura 22 .- Contenido en hierro por gramo de peso seco en plumas de gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

Tabla XVII

Contenido en hierro en sangre perfundida con NaCl al 0.9% y en carcasa, en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Fe en sangre+NaCl 0.9%, mg	Fe en carcasa, mg
4	♂	2.01 ± 0.20(a)	12.72 ± 1.39(a)
	♀	2.73 ± 0.43(a)	14.26 ± 2.31(a)
8	♂	7.80 ± 0.57(b)	23.50 ± 2.57(b)
	♀	8.30 ± 0.84(b)	33.41 ± 7.34(b)
13	♂	16.69 ± 1.86(c)	40.19 ± 5.20(c)
	♀	15.60 ± 1.24(c)	30.74 ± 1.59(b)
18	♂	27.50 ± 2.60(d)	42.09 ± 4.05(c)
	♀	19.04 ± 1.21(d)	34.86 ± 3.70(b)
24	♀	21.36 ± 1.39(d)	45.72 ± 2.22(c)

Valoración estadística: ver Tabla I

11.- CONTENIDO TOTAL EN HIERRO DEL ANIMAL

En la Tabla XVIII hemos expuesto el contenido medio en hierro que presentan los animales en función de la edad y del sexo.

Los miligramos aumentan con la edad en los dos sexos y son más pronunciados en los machos (18 mg Fe a las 4 semanas y 81 mg Fe a las 18 semanas) que en las hembras (19 mg Fe a las 4 semanas y 67 mg a las 18 semanas), estabilizándose prácticamente entre las 8 semanas y la puesta. No existen diferencias significativas atendiendo al sexo.

El contenido en hierro por gramo de peso del animal, Figura 23, disminuye con la edad, hasta las 13 semanas y a partir de este momento se mantiene. Tampoco en este caso el sexo ejerce ninguna influencia estadísticamente significativa. Así frente a una cantidad entre 105 y 116 ppm Fe, con evidentes diferencias sexuales hasta las 13 semanas, posteriormente ambos sexos tienden a uniformizarse alrededor de 52 - 55 ppm Fe.

12.- PORCENTAJES DE HIERRO EN LOS DISTINTOS ORGANOS Y TEJIDOS ESTUDIADOS

En la Tabla XIX se representa la distribución de hierro en los diferentes órganos y tejidos mencionados, en función de la edad y sexo expresados en porcentaje respecto al animal entero. Obsérvese también que tanto para el hígado como para el bazo se ha distinguido el contenido no ferritínico del ferritínico.

Vemos que en los machos la mayor proporción en el contenido total en hierro se da en los dos primeros grupos de edades (16.5 %), a las 13 semanas disminuye un 4 % para luego aumentar un 2 % a las 18 semanas. En las hembras por el contrario, aumenta la aportación de hierro con la edad

Tabla XVIII

Contenido total en hierro en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Edad, semanas	Sexo	Peso animal, g	Hierro total, mg
4	♂	171.4 ± 2.85(a)	17.8 ± 1.42(a)
	♀	172.2 ± 4.90(a)	19.4 ± 2.61(a)
8	♂	470.4 ± 7.60(b)	37.4 ± 3.00(b)
	♀	447.5 ± 8.52(b)	49.9 ± 8.65(a,b)
13	♂	1165.0 ± 16.55(c)**	65.0 ± 6.14(c)
	♀	1071.0 ± 14.33(c)	56.1 ± 2.28(b)
18	♂	1505.7 ± 36.67(d)***	81.3 ± 6.39(c)
	♀	1236.0 ± 29.11(d)	67.2 ± 4.50(b,c)
24	♀	1526.0 ± 50.80(e)	84.8 ± 3.66(c)

Valoración estadística: ver Tabla I

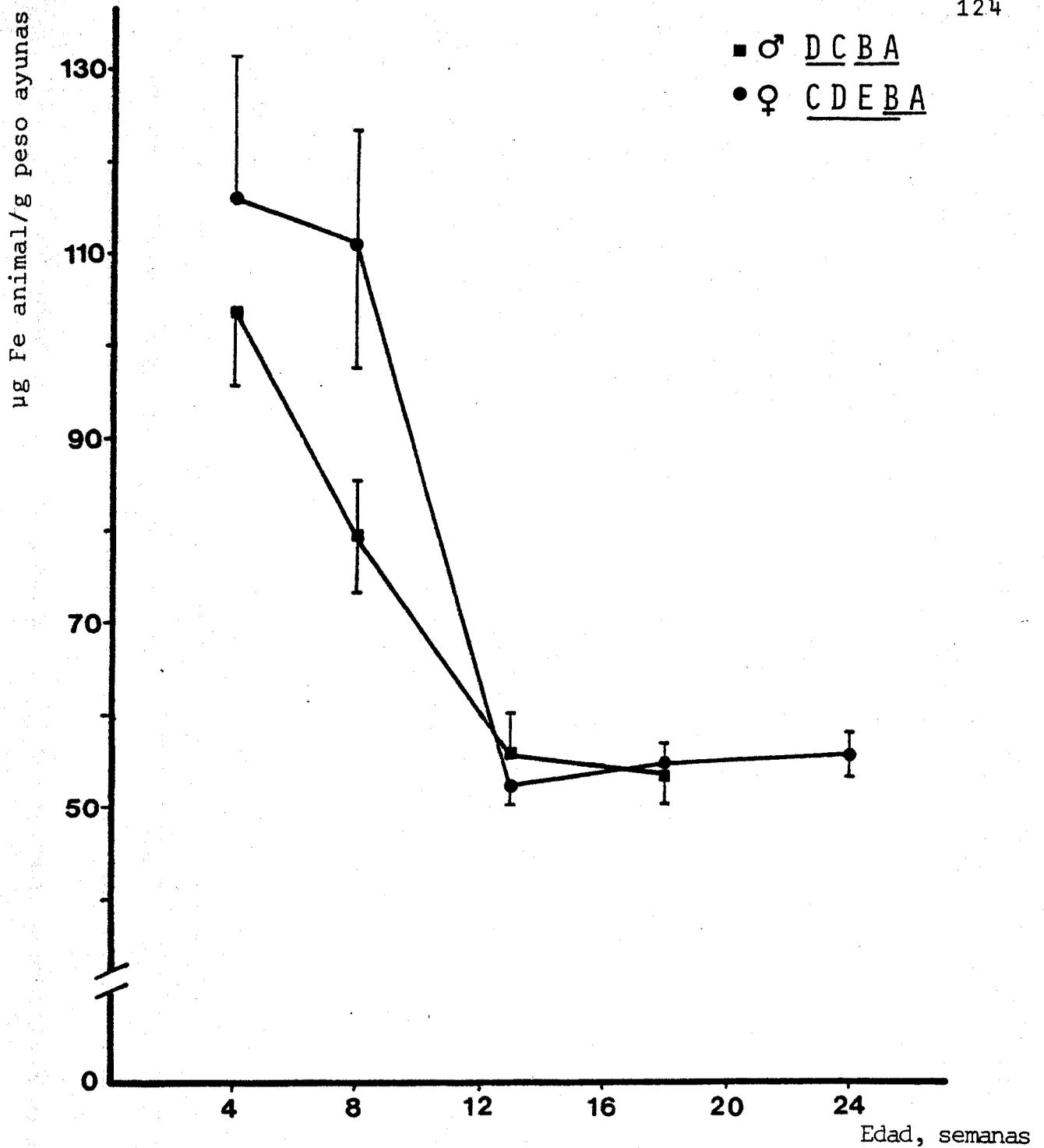


Figura 23.- Contenido total en hierro por gramo de peso corporal en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo.

Valoración estadística: ver Figura 5

Tabla XIX

Distribución de hierro en los distintos órganos estudiados en gallinas de raza Shaver en función de la edad y del sexo. Los valores se expresan en porcentajes de hierro en cada órgano respecto al total del animal.

Edad, semanas	Sexo	Fe en higado, %		Fe en bazo, %		Riñón, Corazón, Intestino, Plumas, órganos,		Total Σ % Fe				
		No ferrit.	Ferrit.	Total	No ferrit.	Ferrit.	Total		% Fe	% Fe	% Fe	
4	♂	3.30	1.07	3.37	0.17	0.03	0.20	0.86	0.34	5.05	6.74	16.56
	♀	2.41	0.29	2.70	0.22	0.04	0.26	0.60	0.30	2.64	5.67	12.17
8	♂	3.14	1.09	4.23	0.26	0.07	0.33	0.66	0.41	2.60	8.29	16.52
	♀	2.61	0.84	3.45	0.16	0.02	0.18	0.46	0.32	1.32	10.42	16.15
13	♂	3.28	0.68	3.96	0.43	0.06	0.49	0.69	0.41	1.02	6.00	12.57
	♀	3.91	1.21	5.12	0.31	0.07	0.38	0.77	0.40	1.04	9.63	17.34
18	♂	4.40	1.14	5.54	0.32	0.05	0.37	0.69	0.37	1.23	6.03	14.23
	♀	4.60	2.25	6.85	0.39	0.11	0.50	1.02	0.45	1.48	9.38	19.68
24	♀	3.59	0.74	4.33	0.17	0.03	0.20	1.13	0.38	1.63	13.09	20.76

siendo de un 12 % a las 4 semanas para ir subiendo hasta un 20.8 % a las 24 semanas de edad.

El sexo también influye, de manera que en las gallinas jóvenes (4 semanas) es mayor en los machos, a las 8 semanas quedan igualados y a partir de esta edad el porcentaje es superior en las hembras.

SEGUNDA PARTE: PRUEBAS METABOLICAS =====

El peso corporal de los animales y los valores de los productos metabólicos en función de la edad y sexo están expuestos en la Tabla XX.

1.- EVOLUCION DEL PESO

El peso corporal de las gallinas aumenta con el tiempo, siendo mayor, para una misma edad en los machos, existiendo diferencias estadísticamente significativas solo a las 13 semanas ($p < 0.01$). Observamos en los dos sexos cómo hasta este momento, los animales duplican el peso que presentaban en la edad anterior; este aumento es más amplio en machos que en hembras y a las 18 semanas alcanzan 1410 y 1336 gramos respectivamente.

2.- PARAMETROS METABOLICOS

2.1.- INGESTA DIARIA DE AGUA

El volumen de agua ingerida diariamente, aumenta con la edad en los dos sexos, y luego se estabiliza aunque las gallinas de puesta experimentan otro fuerte aumento, llegando a niveles de 280 ml.