

COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE HORMONAS TIROIDEAS ENTRE DOS LÍNEAS DE POLLO DE ENGORDE

José Henry Osorio¹
Diana Marcela Salamanca²
Jorge Enrique Pérez³

RESUMEN

Objetivo: establecer valores de referencia en los niveles de TSH y T_4 libre, para las líneas de pollo de engorde Ross y Cobb, así mismo, comparar los niveles de hormonas tiroideas en suero sanguíneo entre estas dos líneas.

Materiales y métodos: se obtuvo suero en ayunas de 100 pollos de engorde (50 Ross y 50 Cobb) de 35 días de edad y se determinaron los niveles de TSH y T_4 L mediante inmunoensayo enzimático. **Resultados:** los valores de TSH para la línea Ross (μ UI/mL) fueron: promedio 0.00; mínimo 0.06; máximo 0.34 y desviación estándar de 0.07. Para la línea Cobb (μ UI/mL) fueron: promedio 0.01; mínimo 0.08; máximo 0.42 y desviación estándar 0.09. El valor P del test F es superior o igual a 0.05, por tanto, no hay diferencia estadísticamente significativa, con una confianza del 95 % para la TSH entre líneas. Los valores de T_4 L para la línea Ross (ng/dL) fueron: promedio 0.71, mínimo 0.60, máximo 1.15 y desviación estándar de 0.27, mientras que los valores encontrados para la línea Cobb (ng/dL) fueron: promedio 0.76; mínimo 0.20; máximo 1.26 y desviación estándar 0.28. El valor P del test F es superior o igual a 0.05, por ende, no hay diferencia estadísticamente significativa, con una confianza del 95 % para T_4 L entre líneas. **Conclusión:** los niveles de TSH y de T_4 L

entre las dos líneas evaluadas, son similares, lo cual es atribuible a que poseen una respuesta hormonal similar a causa de la selección genética a la que han sido sometidas. Se aportan valores de referencia para las dos líneas comerciales de pollo de engorde evaluados.

Palabras clave: metabolismo, pollo de engorde, TSH, T_4 L.

COMPARISON OF THYROID HORMONE LEVELS BETWEEN TWO LINES OF BROILERS

ABSTRACT

Objective: to establish reference values for TSH and free T_4 in two lines of broilers (Ross and Cobb), and also to compare the thyroid hormone levels in serum of those two lines. **Materials and methods:** after fasting, serum of one-hundred, 35 days of age broilers (50 Ross and 50 Cobb) was obtained, and TSH and free T_4 levels were measured using enzymatic immunoassay. **Results:** the TSH values for the Ross line (μ UI/mL) were: average 0.00; minimum 0.06; maximum 0.34; and 0.07 standard deviation. For the Cobb line (μ UI/mL) the values were: average 0.01; minimum 0.08; maximum 0.42;

¹ Laboratorio de Investigación en Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Universidad de Caldas. Email: jose.osorio_o@ucaldas.edu.co

² Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas.

³ Laboratorio de Microbiología, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Universidad de Caldas.

and 0.09, standard deviation. The P value for the F test is superior or the same as 0.05. As a consequence, there is no statistically significant difference with a confidence level of 95 %. for TSH between the two analyzed lines The free T_4 values for the Ross (ng/dL) line were: average 0.71; minimum 0.60; maximum 1.15; and 0.27 standard deviation, and the values found for the Cobb line were: average 0.76; minimum 0.20; maximum 1.26; and 0.28 standard deviation. The P value for the F test is superior or the same as

0.05. As a consequence there is no statistically significant difference with a confidence level of 95%. for free T_4 between the two analyzed lines. **Conclusion:** levels of TSH and free T_4 are similar for the two lines tested, which can be attributed to a similar hormonal response they have due to the genetic selection they have undergone. Reference values for TSH and free T_4 are presented.

Key words: metabolism, broilers, TSH, free T_4 .

INTRODUCCIÓN

La glándula tiroides en las aves es la encargada de la producción de las hormonas tiroideas, la triyodotironina (T_3), la tiroxina (T_4) (1, 2) y la triyodotironina reversa (rT_3). Para que este proceso se lleve a cabo, en el hipotálamo se produce la hormona liberadora de tiotropina, que ejerce su acción sobre la adenohipófisis permitiendo la liberación de la hormona estimulante de tiroides (TSH) (1). Esta hormona está involucrada en el acoplamiento del yodo obtenido en la dieta y la molécula de tirosina, aminoácido que conforma la tiroglobulina (TGB), formada en la célula folicular (3, 4), unión necesaria para dar origen a las hormonas tiroideas dentro de la glándula (3). Además, actúa sobre las células tiroideas desencadenando la liberación de T_3 y T_4 desde su lugar de almacenamiento en el coloide (5). Luego en los tejidos periféricos, principalmente el hígado y el riñón, la tiroxina es convertida en triyodotironina la cual ejerce la actividad biológica (6, 7, 8).

En los pollos de engorde, durante el desarrollo embrionario estas hormonas estimulan el crecimiento y la diferenciación de los tejidos; también regulan la tasa metabólica basal y son esenciales para el mantenimiento de una temperatura corporal alta y constante (9); siendo de vital importancia para el crecimiento normal del ave (10). Dado que la elevación o disminución en los valores de estas hormonas afectan los parámetros productivos de las aves

comerciales y no se tienen valores de referencia para las líneas Ross y Cobb, es necesario establecer los valores de referencia para la T_4 L y la TSH en pollos de engorde.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pollos de engorde de 35 días de edad de las líneas Ross y Cobb, fueron criados en la granja Montelido propiedad de la Universidad de Caldas, a una temperatura promedio de 25°C, fueron alimentados a voluntad durante 15 días con una dieta que contenía el 18 % de proteína, 3.150 Mcal y sin deficiencia de elementos; se tuvieron en jaulas distribuidos de la siguiente manera: 50 de la línea Ross, con un peso promedio de 1.591 gramos y 50 de la línea Cobb, con un peso promedio de 1.701 gramos (en ayuno). Luego de la toma de muestras de sangre mediante sacrificio de las aves, estas fueron depositadas en tubos sin anticoagulante, el suero se obtuvo centrifugando las muestras a 3.000 rpm durante 15 minutos, las muestras fueron refrigeradas y posteriormente analizadas. Para la determinación del T_4 L se utilizó la prueba de Inmunoensayo enzimático competitivo (Accubind T_4 L, Monobind Inc©); brevemente, los sueros fueron colocados en contacto con una fase sólida que contenía anticuerpos contra la T_4 a la cual se le agregó el conjugado compuesto por T_4 L unido a peroxidasa de rábano (HRP); luego de una hora de incubación a temperatura ambiente, se hizo un lavado para liberar aquellas

moléculas no unidas y se agregó el sustrato formado por una mezcla de tetrametil bencidina (TMB) y peróxido de hidrógeno disuelto en buffer de acetato, con una incubación de 15 minutos, tiempo al cabo del cual se detuvo la reacción al agregarle una solución de ácido clorhídrico 1N. La lectura se hizo en un equipo lector de microelisas (Titertek multiscan™) a una absorbancia de 450 nm; las absorbancias obtenidas de los estándares se graficaron junto a las concentraciones y de la curva de calibración se obtuvieron las concentraciones de T_4L de las respectivas muestras. Para la determinación de los niveles de TSH (Hormona estimulante del Tiroides), se utilizó una prueba de Inmunoensayo enzimático colorimétrico tipo sánduche, utilizada para la cuantificación del TSH de origen humano (Accubind TSH-Monobind Inc ®); brevemente, a una placa de 96 pozos que tenía unidos anticuerpos monoclonales contra la TSH en una interacción estreptavidina-biotina, se le agregó una alícuota de suero obtenido de ponedoras y una alícuota de conjugado compuesta de un anticuerpo policlonal contra la TSH unido a la peroxidasa de rábano; se incubó dos horas a temperatura ambiente, al cabo de este tiempo se lavó la placa con una solución de fosfatos para eliminar todas aquellas moléculas no unidas y se agregó el sustrato formado por una mezcla de tetrametil bencidina (TMB) y de peróxido de hidrógeno; gracias a la presencia de la enzima en el complejo inmune previamente formado, se produjo la generación de oxígeno a partir de peróxido de hidrógeno el cual al actuar sobre la tetrametil bencidina generó un cambio de color, cuya intensidad es proporcional a la concentración de la hormona; para detener la reacción enzimática luego de un periodo de incubación de 15 minutos, se agregó ácido clorhídrico 1N

y, posteriormente, se procedió a hacer la lectura en un fotómetro lector de microelisas (Titertek multiscan™) a una longitud de onda de 450 nm; los resultados obtenidos de los estándares se graficaron frente a sus concentraciones, generándose una curva de calibración en la cual se obtuvieron las concentraciones de cada uno de los sueros probados. Para realizar el análisis estadístico, se empleó el programa estadístico Statgraphics Plus, mediante el StatAdvisor, procedimiento que realizó un análisis de la varianza simple, realizando varios test y gráficos para comparar los valores medios (T_4L , TSH) para 2 diferentes niveles de línea (Ross, Cobb).

El F-test en la tabla de ANOVA simple, comprobó la existencia o no de diferencias significativas entre las medias. Para todas las inferencias se estipularon $\alpha = 5 \%$, por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad entre grupos. La probabilidad fiducial, se evaluó por intervalos de confianza (IC $\pm 95 \%$). Las estadísticas paramétricas incluyen estimadores de tendencia central (media aritmética) y dispersión (desviación estándar).

RESULTADOS

Las tablas 1 y 2 muestran los valores obtenidos para los niveles de TSH y T_4L en las dos líneas de pollos de engorde, respectivamente. Al evaluar los niveles de TSH entre líneas, el valor P del test F es mayor o igual a 0.05, por lo cual no hay diferencia estadísticamente significativa, con una confianza del 95 %. Para T_4L entre líneas, el valor P del test F es mayor o igual a 0.05, evidenciando, que no hay diferencia estadísticamente significativa, con una confianza del 95 %.

Tabla 1. Valores de TSH ($\mu UI/mL$) en dos líneas comerciales de pollos de engorde.

	Promedio	Mínimo	Máximo	SD
Ross	0.00	0.06	0.34	0.07
Cobb	0.01	0.08	0.42	0.09

Tabla 2. Valores de T_4L (ng/dL) en dos líneas comerciales de pollo de engorde.

	Promedio	Mínimo	Máximo	SD
Ross	0.71	0.60	1.15	0.27
Cobb	0.76	0.20	1.26	0.28

DISCUSIÓN

Los niveles de las hormonas tiroideas en las aves pueden ser modificados por diferentes factores, como la temperatura ambiental; en altas temperaturas la tasa metabólica de los pollos de engorde aumenta, debido a que el animal gasta energía en un intento por regular su temperatura corporal, también aumenta la pérdida de agua llevando a deshidratación y/o muerte (11); debido a que las aves regulan la producción de hormonas tiroideas según las variaciones ambientales a las que se encuentren sometidas, si la temperatura aumenta la secreción disminuye y viceversa (12, 13). Otros estudios, han mostrado que los pollos de engorde, codornices y pavos que son sometidos a estrés calórico aumentan sus niveles de T_3 y T_4 , con lo cual se evidencia que, las líneas de engorde que son genéticamente seleccionadas tienen una respuesta hormonal diferente a los cambios en las condiciones ambientales; lo que parece explicar este hecho, es que las aves comerciales al tener un mayor tamaño corporal se les dificulta la adecuada disipación del calor comparado con aves sin selección genética. Una respuesta de las hormonas tiroideas constante a través del tiempo en aves sometidas a cambios en la temperatura ambiental, permite la obtención de una mejor calidad de carne; ya que estas, están involucradas en la regulación del calcio en el musculo esquelético (14). Otro factor de vital importancia es la dieta, la inclusión de yodo en ella, es esencial para la formación de estas hormonas, su deficiencia y/o exceso pueden generar bocio (aumento de la glándula tiroides) tanto en aves como en mamíferos; dicha afección provoca problemas respiratorios, como resultado de la presión ejercida por la glándula sobre la tráquea (11, 15). La deficiencia

de aminoácidos esenciales limita la síntesis de tiroglobulina, que es una glicoproteína esencial para la síntesis hormonal, disminuyendo los niveles de T_3 y T_4 circulantes (3). Dietas con niveles de proteína menor al 24 % generan un aumento de los niveles plasmáticos de T_3 y una disminución en los de T_4 (16, 17) esto puede explicarse, debido a que la T_3 plasmática sufre un aclaramiento más rápido que la T_4 , por lo que no requiere unirse a proteínas plasmáticas, al haber deficiente proteína en la dieta la T_4 no puede unirse a estas, con lo cual se altera el proceso, disminuyéndose así sus niveles (18); caso contrario ocurre cuando se adicionan a la dieta altos porcentajes de proteína cruda (19). En aves sometidas a ayuno los niveles de TRH y T_4 aumentan mientras los de T_3 y TSH disminuyen (20), estos cambios se deben, a que durante el ayuno la actividad de las desyodasas varia; la D1 no presenta una fluctuación significativa en condiciones de restricción alimenticia, en contraste la actividad de la D2 disminuye y la D3 se incrementa significativamente (2). El estrés puede ser causado por múltiples factores como el aislamiento, cambios climáticos, miedo, hambre y manejo; en dicho proceso se evidencia un aumento en los niveles de corticosterona la cual afecta el eje tiroideo, induciendo una disminución en las concentraciones plasmáticas de TSH (20, 21).

La mayoría de estudios que se han realizado para medir las concentraciones de hormonas tiroideas en pollos de engorde, lo hacen bajo diferentes situaciones experimentales que no permiten tener claro, cuáles son los valores normales o de base para dichas hormonas; a esto se le suma que no hay datos hasta el momento sobre la TSH y no se conocen estudios que midan la T_4L . En un experimento realizado en

pollos Cobb de dos semanas de edad, los niveles obtenidos para la T_4 fueron de $23.6 \pm 2.7\text{ng/ml}$ (22); luego se reportó que los valores de la T_4 en broilers Cobb de 3 días de edad, eran de $4.09 \pm 0.53\text{ng/ml}$ (23); por su parte, un estudio previo, publicó que los valores totales para la T_4 en pollos adultos sin diferenciar su línea, eran de 22.0 a 27.0 nM (24). En pollos de la línea Ross de 36 días de edad, se reportaron valores de 2.03 pmol/ml para la T_4 (25); cabe aclarar que todos estos son valores totales de la hormona, ninguno ha reportado valores de $T_4\text{L}$ como tal. Como podemos observar los resultados obtenidos en nuestro estudio no se pueden comparar con los de otros autores, debido a que nuestros valores hacen referencia a la $T_4\text{L}$ y a la TSH, los cuales no se han reportado hasta el momento. Por ende, estos resultados pueden servir como una referencia base en cuanto a los valores de $T_4\text{L}$ y TSH, debido a que los pollos fueron mantenidos en condiciones normales y se les suministro una dieta balanceada sin ninguna deficiencia o exceso de elementos.

Actualmente, los parámetros productivos de cualquier especie pueden ser modificados,

la industria avícola no se ha quedado atrás y durante las últimas décadas ha realizado una selección más minuciosa en cuanto a las líneas genéticas que se utilizan hoy en día, todo en pro de satisfacer las diferentes necesidades de la demanda. La elección que hace el productor a la hora de usar una u otra línea, se basa en los estudios previos que se tengan de las mismas y su eficiencia productiva con respecto a las demás líneas existentes, esto lo demuestran claros estudios que comparan diferentes factores entre líneas no solo de pollo de engorde, sino también de ponedoras (26, 27, 28). Esta selección genética afecta no sólo los rasgos de producción, sino también el patrón de desarrollo del embrión y su metabolismo (29, 30).

CONCLUSIÓN

Los niveles de las hormonas tiroideas en las dos líneas evaluadas no difieren significativamente entre sí, esto se debe a la minuciosa selección genética que se ha hecho a las líneas de pollo de engorde en la búsqueda de suplir las necesidades de la industria avícola.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anne McNabb FM. Sturkie's avian physiology. 5 ed. USA: Academic press; 1999. p. 455-10.
2. Györfy A, Sayed-Ahmed A, Zsarnovszky A, Frenyó VI, Decuypere E, Bartha T. Effects of energy restriction on thyroid hormone metabolism in chickens. *Acta Vet Hungarica* 2009; 57(2):319-11.
3. Dickson WM, Feldman EC, Hedge GA, Martin R, McDonald LE. Fisiología veterinaria cunningham. In: Cunningham JG, eds. Las glándulas endocrinas y su función. 3 ed. Madrid: Elsevier España S.A; 2003. p. 342-42.
4. Banks WJ. Histología veterinaria aplicada. 1 ed. Ciudad de México: el manual moderno SA de C.V. 1986. p. 583-8.
5. Lumeij JT. Avian medicine: principles and application. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR, eds. *Endocrinology wingers pub.* Lake Worth, Florida; 1994.
6. Reyns GE, Janssens KA, Buyseb J, Kühn ER, Darras VM. Changes in thyroid hormone levels in chicken liver during fasting and refeeding. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2002; 132:239-6.
7. Decuypere E, Van Asa P, Van der Geyten S, Darras VM. Thyroid hormone availability and activity in avian species: A review. *Domestic Animal Endocrinology* 2005; 29:63-14.
8. Sandoval GL, Terraes JC, Esquivel de Luchi GP, Revidatti FA, Fernández RJ, Sotelo NS, Maruñak SL. Hormonas tiroideas, inmovilidad tónica, peso vivo y eficiencia alimenticia en pollos criados en temporadas estival e invernal de zona subtropical, con hacinamiento e inversión corporal. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas* 2004.
9. Darras VM, Van der Geyten S, Kühn ER. Thyroid hormone metabolism in poultry. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 2000; 4:13-20.
10. Scanes CG. Perspectives on the endocrinology of poultry growth and metabolism. *General and Comparative Endocrinology* 2009; 163:24-32.
11. Julian RJ. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry: A review. *The Veterinary Journal* 2005; 169:350-19.
12. Silva JE. The thermogenic effect of thyroid hormone and its clinical implications. *Annals of Internal Medicine* 2003; 139:205-8.
13. Tao X, Zhang ZY, Dong H, Zhang H, Xin H. Responses of thyroid hormones of market-size broilers to thermoneutral constant and warm cyclic temperatures. *Poult Sci* 2006; 85:1520-8.
14. Chiang W, Booren A, Strasburg G. The effect of heat stress on thyroid hormone response and meat quality in turkeys of two genetic lines. *Meat Science* 2008; 80:615-7.
15. Macwhirter P, Avian Medicine: principles and application. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR, eds. *Malnutrition wingers pub.* Lake Worth, Florida. 1994. p. 859.
16. Keagy EM, Carew LB, Alster FA, Tyzbir RS. Thyroid function, energy balance, body composition and organ growth in protein-deficient chicks. *J. Nutr* 1987; 117:1532-8.
17. Carew LB, Alster FA. Dietary carbohydrate and fat do not alter the thyroid response to protein deficiency in chicks (Abstract). *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 215(1):82-6.
18. Hutchins MO, Newcomer WS. Metabolism and excretion of thyroxine and triiodothyronine in chickens (Abstract). *General and Comparative Endocrinology* 1966; 6(2):239-9.

19. Rosebrough RW. Dietary protein levels and the responses of broilers to single or repeated cycles of fasting and refeeding. *Nutrition Research* 2000; 20(69):877-9.
20. Geris KL, Berghman LR, Kühn ER, Darras VM. The drop in plasma thyrotropin concentrations in fasted chickens is caused by an action at the level of the hypothalamus: role of corticosterone. *Domestic Animal Endocrinology* 1999; 16(4):231-6.
21. Hudelson KS, Hudelson P. Endocrine considerations. In: Clinical avian medicine Harrison G.J. Lightfoot T.L, eds. internet publisher: international veterinary information service, Ithaca NY; 2009.
22. Lauterio TJ, Scanes CG. Hormonal responses to protein restriction in two strains of chickens with different growth characteristics. *J. Nutr.* 1987; 117:758-5.
23. Piestun Y, Shinder D, Ruzal M, Halevy O, Yahav S. The effect of thermal manipulations during the development of the thyroid and adrenal axes on in-hatch and post-hatch thermoregulation. *Journal of Thermal Biology* 2008; 33:413-5.
24. Hulbert AJ. Thyroid hormones and their effects: a new perspective. *Biol. Rev.* 2000; 75:519-112.
25. Ferrini G, Manzanilla EG, Menoyo D, Esteve-Garcia E, Baucells MD, Barroeta AC. Effects of dietary n-3 fatty acids in fat metabolism and thyroid hormone levels when compared to dietary saturated fatty acids in chickens. *Livestock Science* 2010; 131:287-4.
26. Tona K, Onagbesan OM, Jegu Y, Kamers B, Decuypere E, Bruggeman V. Comparison of embryo physiological parameters during incubation, chick quality, and growth performance of three lines of broiler breeders differing in genetic composition and growth rate. *Poult Sci* 2004; 83(3):507-6.
27. Davis GS, Anderson KE, Carroll AS. The effects of long-term caging and molt of Single Comb White Leghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. *Poult Sci* 2000; 79(4): 514-4.
28. Druyan S. The effects of genetic line (broilers vs. layers) on embryo development. *Poult Sci* 2010; 89:1544-4.
29. Lien RJ, Siopes TD. Effects of short-term thyroxine administration during the laying period on egg production and moulting by Turkeys. *Brit Poult Sci* 1993; 34(2):405-416.
30. Lien RJ, Siopes TD. Effects of thyroidectomy on egg production, molt, and plasma thyroid hormone concentrations of turkey hens. *Poult Sci* 1989; 68(8):1126-32.