
COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE HORMONAS TIROIDEAS ENTRE DOS LÍNEAS DE AVES PONEDORAS

José Henry Osorio¹
Diana Marcela Salamanca²
Jorge Enrique Pérez³

RESUMEN

Objetivo. Establecer valores de referencia en los niveles de TSH y T₄ libre, para las líneas de ponedoras Hy-Line W-36 y Lohmann Brown-Classic, asimismo, comparar los niveles de hormonas tiroideas en suero sanguíneo entre estas dos líneas.

Materiales y métodos. Se obtuvo suero en ayunas de 100 gallinas ponedoras (50 Hy-Line W-36 y 50 Lohmann Brown-Classic) de 25 semanas de edad, y se determinaron los niveles de TSH y T₄ libre mediante inmunoensayo enzimático.

Resultados. Los valores de TSH para la línea Hy-Line W-36 (μUI/ml) fueron: promedio, mínimo, máximo y desviación estándar de 0,09, 0,00, 0,82, 0,15, respectivamente. Para la línea Lohmann Brown-Classic (μUI/ml) fueron: 0,29; 0,00; 4,98; 0,78, respectivamente. 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 la TSH entre líneas. Los valores de T₄ libre para la línea Hy-Line W-36 en ng/dl fueron: promedio, mínimo, máximo y desviación estándar de 0,95, 0,11, 2,00, 0,53, respectivamente, mientras que los valores encontrados para la línea Lohmann Brown-Classic en ng/dl fueron: 1,54, 0,21, 2,58, 0,49, respectivamente. El valor P del test F es inferior a 0,05, evidenciando diferencia estadísticamente significativa, con una confianza del 95% para T₄ libre entre líneas.

Conclusión. Se observó diferencia estadística para los niveles de T₄ libre entre las líneas estudiadas; esto podría explicarse ya que la línea semi-pesada (Lohman Brown-Classic) deposita una mayor cantidad de grasa en el organismo, influyendo en el aumento de los niveles de T₄ para esta y no para la línea liviana Hy-Line W-36. Se aportan valores de referencia para las dos líneas comerciales de ponedoras evaluadas.

Palabras clave: gallinas, TSH, T₄ libre, metabolismo.

¹ Laboratorio de Investigación en Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Departamento de Ciencias Básicas de la Salud. Universidad de Caldas. E-mail: 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.

COMPARISON OF THYROID HORMONE LEVELS BETWEEN TWO LINES OF LAYING HENS

ABSTRACT

Objective. To establish reference values for TSH and free T_4 in two lines of laying hens (Hy-Line W-36 and Lohmann Brown-Classic), as well as to compare the thyroid hormone levels in serum between those two lines.

Materials and methods. One hundred, 25 weeks of age laying fasting hens serum (50 Hy-Line W-36 and 50 Lohmann Brown-Classic) was obtained and TSH and free T_4 levels were measured using enzymatic immunoassay.

Results. The values obtained for TSH for High-Line W-36 ($\mu\text{UI/ml}$) were: mean, minimal, maximal, and standard deviation, 0.09, 0.00, 0.82, 0.15 respectively. For the Lohmann Brown-Classic ($\mu\text{UI/ml}$) the values were, 0.29, 0.00, 4.98, 0.78, respectively. The P value of test F

was greater or equal to 0.05 reason why there is not statistical significant difference, with a 95% confidence for TSH between the lines studied. The free T_4 values obtained for Hy-Line W-36 in ng/dl were mean, minimal, maximal, and standard deviation of 0.95, 0.11, 2.00, 0.53 respectively while the values found for the Lohmann Brown-Classic line in ng/dl were 1.54, 0.21, 2.58, 0.49 respectively. The P value for the F test was inferior to 0.05, showing statistically significant difference with a 95% confidence for free T_4 between the lines studied.

Conclusion. Statistical difference was observed for free T_4 between the two studied lines. This could be explained because the semi-heavy line (Lohman Brown-Classic) deposits a higher quantity of fattening in the organism influencing the increase of T_4 levels for this line and not for the light Hy-Line W-36. Reference values for the two laying hens studied lines are presented.

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

INTRODUCCIÓN

En las aves, la glándula tiroidea es la encargada de la producción de las hormonas tiroideas, tanto triyodotironina (T_3) como tiroxina (T_4). Para que este proceso se lleve a cabo, esta glándula está regulada primeramente por el hipotálamo, donde 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 (2, 3), unión necesaria para dar origen a las hormonas tiroideas dentro de la glándula (2). Además, actúa sobre las células tiroideas desencadenando la liberación de T_3 y T_4 desde su almacenamiento en el coloide (4). Seguidamente,

en los tejidos la tiroxina es convertida en triyodotironina, la cual ejerce la actividad biológica (5, 6). En las ponedoras, estas hormonas juegan un papel importante en el metabolismo y el desarrollo embrionario, además son fundamentales para el desarrollo del ovario y la producción de huevo (7). Estas hormonas actúan a través de receptores nucleares implicados en la regulación del eje hipofiso-ovárico y los procesos asociados con el crecimiento y la maduración del folículo (8). Siendo necesarias, también, para el desarrollo del cerebro de las aves (9). Debido a que la elevación o disminución de los valores de estas hormonas afectan los parámetros productivos de las aves comerciales de forma negativa, se crea la necesidad de comparar las líneas genéticas comerciales que se utilizan en nuestro país, tratando de establecer los valores de referencia para T_4 libre y TSH en ponedoras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Gallinas ponedoras de las líneas Hy-Line W-36 y Lohmann Brown-Classic, fueron criadas en la Granja Montelindo, propiedad de la Universidad de Caldas, a una temperatura promedio de 25°C y 13 horas de luz aproximadamente. Fueron alimentadas hasta la semana 24 de edad con una dieta comercial para gallinas ponedoras, junto con todo el lote de aves. Se eligieron completamente al azar las aves a estudiar, manteniéndose en el mismo galpón, y durante las semanas 25 y 26 de edad se alimentaron con una dieta a base de maíz y torta de soya (Tabla 1).

La producción para la semana 26 de las gallinas escogidas (50 de cada línea) fue del 96% en las gallinas Hy-Line W-36, con un peso promedio de 1.444 g, y 98% en las gallinas Lohman Brown-Classic, con un peso promedio de 1.851 g. Se les realizó un ayuno de 16 h y se tomaron 20 cm de sangre directamente de la yugular, a todos los animales a las 8 de la mañana. La sangre se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos y el suero se congeló a -30°C. Las muestras se llevaron a una temperatura de 37°C por 10 minutos.

Para la determinación del T₄ libre se utilizó la prueba de inmunoensayo enzimático competitivo (Accubind T4L, Monobind Inc®); brevemente, los sueros fueron colocados en contacto con una fase sólida que contenía anticuerpos contra la T₄ a la cual se le agregó el conjugado compuesto por T₄ libre unido a peroxidasa de rábano (HRP); luego de 1 hora de incubación a temperatura ambiente, se hizo un lavado para liberar aquellas moléculas no unidas y se agregó el substrato 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 microELISA (Titertek Multiscan™) a una absorbancia de 450 nm; las absorbancias obtenidas de los estándares

se graficaron junto con las concentraciones, y de la curva de calibración se obtuvieron las concentraciones de T₄ libre 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 sándwich, 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, tiempo al cabo del cual se lavó la placa con una solución de fosfatos para eliminar todas aquellas moléculas no unidas, y se agregó el substrato 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 microELISA (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 pudieron obtener 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 tests y gráficos para comparar

los valores medios (T_4 libre, TSH) para 2 diferentes niveles de línea (Hy-Line W-36 y Lohmann Brown-Classic). 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_4 libre en las dos líneas de ponedoras, 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_4 libre entre líneas, el valor P del test F es inferior a 0,05, evidenciando diferencia estadísticamente significativa, con una confianza del 95%.

Tabla 1. Valores de TSH (μ UI/mL) en dos líneas comerciales de gallinas ponedoras.

	Promedio	Mínimo	Máximo	SD
Hy-Line W-36	0,09	0,00	0,82	0,15
Lohmann Brown-Classic	0,29	0,00	4,98	0,78

Tabla 2. Valores de T_4 libre (ng/dL) en dos líneas comerciales de gallinas ponedoras.

	Promedio	Mínimo	Máximo	SD
Hy-Line W-36	0,95	0,11	2,00	0,53
Lohmann Brown-Classic	1,54	0,21	2,58	0,49

DISCUSIÓN

Se conoce que las hormonas tiroideas juegan un papel importante para el desarrollo del ovario y la producción de huevo (7, 10). En las aves, estas hormonas son modificadas por diferentes factores como la temperatura ambiental, ya que las aves regulan la producción de hormonas tiroideas según las variaciones ambientales a las que se encuentren sometidas, de esta manera si la temperatura aumenta la secreción disminuye y viceversa (11). La dieta es otro factor importante que puede alterarlas, ya que el yodo es esencial para la formación de estas hormonas, su deficiencia y/o exceso conlleva a la presentación de bocio (aumento de la glándula tiroides) tanto

en aves como en mamíferos. Las manifestaciones clínicas de esta afección están directamente relacionadas con problemas respiratorios como resultado de la presión ejercida por la glándula sobre la tráquea (12). Además, la deficiencia de aminoácidos esenciales limita la síntesis de tiroglobulina glicoproteína esencial para su síntesis, disminuyendo la T_3 y T_4 circulantes (2); generando así un crecimiento lento (5). Por otro lado, el ayuno provoca en las aves disminución de T_3 y TSH y aumento de la T_4 (6, 13), esta además se mantiene elevada a nivel hepático después del suministro del alimento (5). Estos cambios son debidos a que durante este estado, la actividad de las deydodas varía (14).

Al ser evaluadas las concentraciones de TSH en la hipófisis, se evidencia que su concentración más baja se encuentra 5 horas después de la ovulación y la más alta 20 horas después de la misma, por otro lado el contenido mínimo de tiroxina (T_4) en el suero sanguíneo se presenta 10 horas después de la ovulación y el máximo 15 horas después de esta (15). Durante el pico de producción los niveles plasmáticos de T_3 y T_4 disminuyen, mientras que durante el proceso de muda los niveles de T_4 aumentan y los de T_3 disminuyen (16). Este periodo se alarga si los niveles de T_4 están disminuidos (17). Si a nivel productivo hay un aumento en la densidad de población los valores de las hormonas tiroideas no se ven afectados (16).

Los fotoperiodos, pueden ser causa de cambios en los niveles de hormonas tiroideas. En hembras sometidas a fotoperiodos cortos (8 horas de luz), no se observan cambios significativos en las concentraciones plasmáticas de T_3 , mientras que al exponerlas a fotoperiodos largos (16 horas de luz) la T_3 aumenta, sin que se evidencien cambios en la T_4 plasmática en ninguno de los fotoperiodos (18). En nuestro caso, los animales no estuvieron expuestos a fotoperiodos largos, y la toma de muestras se realizó en todos los animales, en horas de la mañana, luego de una exposición a dos horas de luz aproximadamente, buscando con esto evitar el posible efecto de la luz en los niveles de hormonas tiroideas, aunque no encontramos información relacionada con posibles cambios de los niveles de hormonas tiroideas en horas de la mañana.

Sesabe que durante el replume, las concentraciones plasmáticas de T_3 aumentan, mas no cambian las de T_4 ; esto demuestra la participación de la T_3 al promover la fotosensibilización y disminuir la fotorrefratariedad en la muda inducida por fotoperiodos cortos (18). Se ha evidenciado que no es necesario un cambio en las hormonas tiroideas para que ocurra la fotosensibilización (19). Luego de la fotosensibilización los niveles

de T_3 disminuyen y los de T_4 aumentan (20, 21) y permanecen estables. Las concentraciones plasmáticas de T_3 y T_4 , en hembras y machos sometidos a fotosensibilización y con una restricción alimenticia, se mantienen estables en hembras, mientras en machos varían semana a semana²². Durante el periodo de oscuridad, la liberación hormonal desde la glándula tiroidea es mucho mayor, aunque la conversión extratiroidea de T_4 a T_3 se eleva en el periodo de luz. El pico en la concentración plasmática de T_4 ocurre en el periodo de oscuridad, mientras que el de la T_3 se da en el de luz (1). Asimismo durante el estrés, el cual puede ser causado por múltiples factores como el aislamiento, cambios climáticos, miedo, hambre y manejo, se observa aumento en los niveles de corticosterona la cual afecta el eje tiroideo, induciendo una disminución en las concentraciones plasmáticas de TSH (22, 23).

Los depósitos de grasa estimulan la producción de T_3 a partir de la T_4 , entre más abundantes sean dichos depósitos más elevados estarán los niveles de la T_4 total (24, 25); y de T_4 libre, en este estudio los resultados indican que hay una diferencia estadística para los niveles de T_4 libre entre las líneas comparadas; esto podría explicarse ya que la línea semi-pesada (Lohman Brown-Classic) deposita una mayor cantidad de grasa en el organismo, influyendo en el aumento de los niveles de T_4 para esta y no para la línea liviana Hy-Line W-36. La gran mayoría de trabajos encontrados miden valores totales de T_3 y T_4 , del mismo modo, la gran mayoría de determinaciones son hechas en pollos de engorde, bajo múltiples condiciones experimentales, sin embargo, algunos autores (26), han reportado valores de TSH y T_4 libre en ponedoras Hisex Brown Line a las 30 semanas de edad, por el método de electroquimioluminiscencia, con resultados, de alguna manera, similares a los nuestros así: TSH (mU/ml) $0,07 \pm 0,006$ y T_4 libre (ng/dl) $4,35 \pm 0,378$.

Los parámetros productivos pueden ser modificados, ya que en las últimas décadas la avicultura ha realizado una selección más minuciosa en cuanto a las líneas genéticas que utiliza. Aunque se les conocía como razas, las gallinas que actualmente hacen parte del sistema productivo son líneas genéticas cuyos nombres comerciales son fijados por las compañías que las producen. 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 ponedoras sino también de pollos de engorde (16, 27, 28). Esta selección genética afecta no solo los rasgos de producción, sino también el patrón de desarrollo del embrión y su metabolismo (29, 30).

CONCLUSIÓN

Debido a que la elevación o disminución de los valores de hormonas tiroideas afecta los parámetros productivos de las aves comerciales de forma negativa (cuando los niveles de T_4 aumentan o disminuyen se produce un cese de la producción de huevo, efecto que puede ser transitorio) (28, 29), se hace necesario comparar líneas genéticas, en nuestro caso líneas comerciales que se utilicen en nuestro país, abriendo las puertas a nuevos estudios que corroboren los cambios bioquímicos y fisiológicos de las hormonas tiroideas al implicar en ellos todos estos factores que las alteran. Con lo cual, se lograrán establecer los valores de referencia del perfil tiroideo específicamente T_4 libre y TSH para las líneas Hy-Line W-36 y Lohman Brown-Classic. Se crea así, la iniciativa de seguir experimentando con las demás líneas y con todos los posibles factores que las pueden modificar para conseguir el mejor rendimiento en producción aviar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anne Mcnabb FM. Sturkie's avian physiology. 5 ed. USA: Academic Press; 1999. p. 455-10.
2. Dickson WM, Feldman EC, Hedge GA, Martin R, McDonald LE. Fisiología veterinaria cunningham. In: Cunningham JG, editors. Las glándulas endocrinas y su función. 3 ed. Madrid: Elsevier España S.A.; 2003. Chapter 33, p. 342-42.
3. Banks WJ. Histología veterinaria aplicada. 1 ed. Ciudad de México: El Manual Moderno S.A. de C.V.; 1986. p. 583-8.
4. Lumeij, J. T. Endocrinology. In: Ritchie, B. W., G. J. Harrison, and L. R. Harrison, editors. Avian Medicine: Principles and Application. Lake Worth, Florida: Wingers Publishing; 1994. p. 582-606.
5. 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.
6. 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.
7. Winchester CF. Influence of thyroid on egg production [Abstract]. *Endocrinology* 1939; 24(5):697-4.
8. Sechman A, Pawlowska K, Rzasa J. Thyroid hormone receptor expression in chicken ovarian follicles. *Domestic Animal Endocrinology* 2009; 37:61-12.
9. Darras VM, Van Herck SLJ, Geysens S, Reyns GE. Involvement of thyroid hormones in chicken embryonic brain development. *General and Comparative Endocrinology* 2009; 163:58-4.
10. Blivaiss BB. Development of secondary sexual characters in thyroidectomized brown Leghorn hens. *Journal of Experimental Zoology* 1947; 104(3):267-42.
11. Silva JE. The thermogenic effect of thyroid hormone and its clinical implications. *Annals of Internal Medicine* 2003; 139:205-8.
12. Macwhirter P. Avian Medicine: Principles and application. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR, editors. Malnutrition. Lake Worth, Florida: Wingers Publishing; 1994. Chapter 31, p. 859.
13. Julian RJ. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry: A review. *The Vet Jour* 2005; 169:350-19.
14. Gyorffy 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.
15. Soliman FA, Saleh SY. Thyroid-Ovary Relationship in Laying Hens. *Zentralblatt für Veterinärmedizin* 1980; 27(7):544-10.
16. 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; 79:514-4.
17. Hangalapura BN, Nieuwland MGB, Buyse J, Kemp B, Parmentier HK. Effect of duration of cold stress on plasma adrenal and thyroid hormone levels and immune responses in chicken lines divergently selected for antibody responses. *Poult Sci* 2004; 83:1644-5.
18. Siopes TD. Circulating thyroid hormone levels in recycled turkey breeder hens during a short day prelighting period and renewal of photosensitivity for egg production. *Poult Sci* 2002; 81:1342-4.

19. Proudman JA, Siopes TD. Potential role of thyroid hormones and prolactin in the programming of photorefractoriness in turkey hens. *Poult Sci* 2006; 85:1457-4.
20. Proudman JA, Siopes TD. Relative and absolute photorefractoriness in turkey hens: profiles of prolactin, thyroxine, and triiodothyronine early in the reproductive cycle. *Poult Sci* 2002; 81:1218-5.
21. Proudman JA, Siopes TD. Thyroid hormone and prolactin profiles in male and female turkeys following photostimulation. *Poult Sci* 2005; 84:942-4.
22. 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 Anim Endocrinol* 1999; 16(4):231-6.
23. Hudelson KS, Hudelson P. Endocrine considerations. In: Harrison GJ, Lightfoot TL, eds. *Clinical avian medicine*. Internet publisher: international veterinary information service, Ithaca NY; 2009.
24. D'Andre Hirwa C, Yan W, Wallace P, Nie Q, Luo C, Li H, Shen X, Sun L, Tang J, Li W, Zhu X, Yang G, Zhang X. Effects of the thyroid hormone responsive spot 14a gene on chicken growth and fat traits. *Poult Sci* 2010; 89:1981-10.
25. Ferrini G, Manzanilla E.G, Menoyo D, Esteve-Garcia E, Baucells M.D, Barroeta A.C. 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; 131:287-5.
26. Bobinienė R. Gudavičiūtė D. Miškinienė M. The impact of iodine on biochemical blood parameters in laying hens. *Vet Med Zoot* 2010; 51(73):3-7.
27. 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.
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.