

**COMPORTAMIENTO DEL METABOLISMO HEM EN NEONATOS BOVINOS  
BAJO CONDICIONES EXPERIMENTALES EN TROPICO BAJO**

**PAOLA ANDREA PAEZ RAMIREZ**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
COORDINACION GENERAL DE POSGRADOS  
PALMIRA  
2010**

**COMPORTAMIENTO DEL METABOLISMO HEM EN NEONATOS BOVINOS  
BAJO CONDICIONES EXPERIMENTALES EN TROPICO BAJO**

**PAOLA ANDREA PAEZ RAMIREZ**

**Trabajo de Grado para optar al Título de Magister en Ciencias Agrarias línea  
de investigación Producción Animal Tropical**

**DIRIGIDO POR:  
MV, MSc, Dsc. Rómulo Campos Gaona**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
COORDINACION GENERAL DE POSGRADOS  
PALMIRA  
2010**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
SEDE PALMIRA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE JURADO DE TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS  
LINEA DE INVESTIGACIÓN PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL

En Palmira a los 02 días del mes de diciembre de 2010, se reunió en esta Sede el Jurado Calificador de Tesis, integrado por los doctores JAVIER BENAVIDES y HUGO SANCHEZ

Para calificar la Tesis de Grado de:

**PAOLA ANDREA PAEZ RAMIREZ**

Titulada:

“COMPORTAMIENTO DEL METABOLISMO HEM EN NEONATOS BOVINOS BAJO CONDICIONES EXPERIMENTALES EN TROPICO BAJO” bajo la dirección de Rómulo Campos Gaona, Ph.D.

Después de oír el informe del jurado evaluador compuesto por los docentes JAVIER BENAVIDES y HUGO SANCHEZ, y de haber cumplido con el proceso de evaluación, la tesis fue calificada como:

APROBADA

REPROBADA

  
\_\_\_\_\_  
JAVIER BENAVIDES

  
\_\_\_\_\_  
HUGO SANCHEZ

**La facultad y los jurados de tesis  
no se harán responsables de las ideas  
emitidas por el autor.**

**Articulo 24, resolución 04 de 1974**

## CONTENIDO

INTRODUCCION .....	13
1. JUSTIFICACIÓN.....	15
2. HIERRO .....	17
2.1. Vías de absorción intestinal de hierro .....	18
2.1.1 Absorción de iones ferrosos .....	18
2.1.2 Absorción de iones férricos .....	19
2.1.2.1 Grupo Hemo.....	19
2.1.2.2 Absorción de hierro hemo .....	20
2.2. Regulación de la absorción del hierro .....	22
2.3. Transporte de hierro.....	23
2.3.1 Mecanismos celulares .....	23
2.4. Regulación de la captación, utilización y almacenamiento de hierro.....	24
2.5. Sitios de almacenamiento, utilización, y reciclaje del hierro .....	26
2.6. Necesidades de hierro.....	27
2.7. Manifestaciones bioquímicas y fisiológicas de la deficiencia de hierro .....	28
2.8. Manifestaciones clínicas de una deficiencia de hierro.....	29
2.9. Diagnóstico de alteraciones de hierro .....	30
2.9.1 Anemia Microcítica o Hipocrómica .....	31
2.10. Fuentes Exógenas de Hierro para Suplementación .....	32
2.10.1 Spirulina .....	32
2.10.2 Hierro Dextran .....	33
3. PRUEBAS CUANTITATIVAS Y CUALITATIVAS DEL METABOLISMO DEL HIERRO .....	34

3.1	El Hematocrito: .....	34
3.2	La Hemoglobina: .....	34
3.3	La CONCENTRACIÓN MEDIA DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR (CMHC): .....	35
3.4	Hierro:.....	35
4.	MATERIALES Y METODOS.....	36
4.1	Animales.....	36
4.2	Descripción de los Sistemas de Producción.....	36
4.3	Colecta de Muestras .....	37
4.4	Registros .....	38
4.5	Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	38
5.	RESULTADOS Y DISCUSION .....	40
5.1	HEMOGLOBINA.....	40
5.2	HEMATOCRITO.....	50
5.3	CONCENTRACION MEDIA DE LA HEMOGLOBINA CORPUSCULAR (CMHC) .....	55
5.4	HIERRO SERICO.....	58
5.5	PROTEINA .....	63
5.6	CUADRO HEMATICO .....	67
5.7	GANANCIA DE PESO.....	70
6.	CONCLUSIONES .....	76
	BIBLIOGRAFIA.....	78

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Promedio General y desviación estándar de los metabolitos medidos en las tres razas estudiadas. ....	40
Tabla 2. Arreglo Factorial Completo al Azar para la Hemoglobina. ....	48
Tabla 3. Valores promedio de Hemoglobina y desviación estandar (gr/dl) en cada uno de los meses muestreados en las tres razas estudiadas.....	49
Tabla 4. Arreglo Factorial Completo al Azar para la Hematocrito. ....	52
Tabla 5. Valores promedio de Hematocrito y desviación estandar (%) en cada uno de los meses muestreados en las tres razas estudiadas.....	53
Tabla 6. Arreglo Factorial Completo al Azar para la CMCH.....	57
Tabla 7. Arreglo Factorial Completo al Azar para Hierro Sérico. ....	61
Tabla 8. Arreglo Factorial Completo al Azar para Proteína Sérica.....	65
Tabla 9. Promedio de los recuentos de la serie blanca y desviación estandar en las tres razas estudiadas. Valores de referencia tomados de Merck Veterinary Manual, (2008). ....	67

## LISTA DE FIGURAS

Figura. 1 Forma estructural y química del grupo Hemo. Fuente: Solá, 2010.....	19
Figura. 2 Absorción intestinal del hierro. Fuente: Pérez <i>et al.</i> , 2005.....	21
Figura. 3 Comportamiento de la Hemoglobina (gr/dl) a lo largo de los 6 meses de muestreo en las tres razas estudiadas (Cebu, Hartón del Valle y Holstein). ....	42
Figura. 4 Efecto de la Raza (1: Cebú, 2: Holstein, 3: Hartón del Valle) y Efecto Tratamiento (4: Hierro Dextran, 5: Spirulina, 3: Control) sobre la ganancia de peso. ....	71



## RESUMEN

Se seleccionaron 72 terneros en fase de cría pertenecientes a tres grupos raciales, dos de origen *Bos taurus* (Hartón de Valle, Holstein Friesian) y uno de origen *Bos indicus* (Cebú Brahmán) correspondientes a las razas empleadas en los sistemas de producción en condiciones tropicales del Valle del Cauca colombiano. En cada raza se aplicaron tres tratamientos diferentes, cada tratamiento fue realizado en ocho animales: al primer grupo se le inyectó 500 mg de Hierro Dextran por aplicación parental intramuscular, al segundo grupo se le suministró 100 mg de Spirulina vía oral y el tercer grupo fue el grupo control. El objetivo fué estudiar la dinámica hemática y el metabolismo del hierro bajo el efecto de los suplementos, Hierro Dextran y Spirulina con diferentes contenidos de hierro sobre el componente hemoglobina y su incidencia en la dinámica hemática. El período experimental correspondió a los primeros seis meses de vida. Los terneros durante el experimento permanecieron en sus explotaciones de origen sin modificar las condiciones de manejo establecidas en cada sistema de producción. La zona agroecológica del experimento correspondió a bosque seco montano bajo (20–28 °C, 650–980 msnm, humedad relativa entre 70 y 80%), clasificada como termoneutra según el índice temperatura humedad (ITH) (Torres de Campos *et al.*, 2001). Las muestras para análisis hemático se colectaron mensualmente, posterior a la suplementación mediante venipunción yugular y sistema vacutainer en tubos con anticoagulante (EDTA) y sin él. Previó a la recolección de las muestras se valoraron las constantes fisiológicas de cada animal mediante un protocolo de valoración clínica. Tanto las valoraciones clínicas como las muestras se efectuaron en las primeras horas de la mañana. Mediante reactivos comerciales (HUMAN e IHR) para técnicas colorimétricas específicas para Analizador de Química semiautomático y lectura óptica automatizada RAYTO, se analizó Hierro sérico y hemoglobina. La proteína total se analizó mediante

refractrometría directa. El promedio de ganancia de peso en los animales fue  $509 \pm 0,40$  g/d. En cuadro hemático se determinaron 9 parámetros. El recuento celular mostró  $16059,96$  leucocitos. La hemoglobina registró un valor promedio de  $12,11$ gr/dl  $\pm 2,8$  mientras que el hematocrito presentó un valor de  $38,40$  %  $\pm 7,6$  y la concentración media de la hemoglobina corpuscular registró un valor promedio de  $31,62$ %  $\pm 4,7$ . La proteína sérica presentó un valor promedio de  $5,55$  gr/dl  $\pm 0,7$  y el valor medio de hierro sérico fue de  $18,70 \pm 11,8$   $\mu\text{mol/L}$ . Los animales exhibieron valores hemáticos considerados normales para bovinos, no obstante, se realizaron observaciones de hipocromía en algunos de los extendidos analizados identificando alteraciones especiales ya sean éstas de tipo clínico –deshidratación- o de origen nutricional –deficiencia de hierro. El factor mes de muestreo y el factor raza como efectos principales mostraron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,01$ ) en los valores de los metabolitos analizados, mientras que el factor tratamiento como efecto principal mostró diferencias estadísticas solamente en los valores de la concentración media de hemoglobina corpuscular.

**Palabras Clave:** Hierro Sérico, concentración media de la hemoglobina corpuscular, cuadro hemático, proteína total, ganancia de peso, neonato, bovino.

## ABSTRACT

It was selected 72 suckling calves from three racial groups, two of *Bos taurus* (Harton del Valle, Holstein Friesian) and a *Bos indicus* (Cebu Brahman) corresponding to the breeds used in production systems in the Valle del Cauca Colombia tropical conditions. Each race is assigned three different treatments: the first group was injected with 500 mg of iron dextran by intramuscular parental application, the second group provided him with Spirulina 100 mg orally, and the third group was the control group. It is defined to study the hematic dynamics and iron metabolism under the effect of supplementation with different amounts of iron on the hemoglobin components and their impact on the hematic dynamics. The experimental period corresponded to the first six months of life. Calves during the experiment remained on their farms of origin without changing driving conditions established in each production system. The agro-ecological zone of the experiment corresponded to lower montane dry forest (20-28 ° C, 650-980 m, relative humidity between 70 and 80%) classified as thermoneutral under temperature humidity index (THI) (Torres de Campos et al. 2001). Samples for hematic analysis were collected by venipuncture haematic jugular system in vacutainer tubes with anticoagulant (EDTA) and without it. Prior to sample collection were assessed physiologic parameters of each animal using a clinical assessment protocol. Both the clinical ratings as the sample were collected in the morning. Using commercial reagents (HUMAN and IHR) for specific colorimetric techniques for semi-automatic chemistry analyzer, automated optical Rayto, serum iron and hemoglobin were analyzed. Total protein was analyzed by direct refractrometría. The average weight gain in the animals was  $509 \pm 0,40$  g/d. In complete blood count 9 parameters were determined. Cell count 16059,96 showed leukocytes. Hemoglobin showed a mean value of  $12,11\text{gr/dl} \pm 2,8$  while the hematocrit had a value of  $38,40\% \pm 7,6$  and the corpuscular hemoglobin concentration showed a mean value of  $31,62\% \pm$

4,7. Serum protein showed a mean value of 5,55 gr/dl  $\pm$  0,7 and mean serum iron was 18,70  $\pm$  11,8  $\mu$ mol/L. The animals displayed blood values considered normal for cattle, however, hypochromia observations were made in some of the extended analyzed to identify specific changes whether these are clinical type dehydration, or nutritional source of iron-deficiency. The factor sampling month and the breed factor as main effects showed significant statistical differences in the values of the metabolites analyzed, whereas the main effect of treatment factor showed statistical differences only in the values of mean corpuscular hemoglobin concentration.

**Keywords:** Serum iron, concentration mean corpuscular hemoglobin, complete blood count, total protein, weight gain, newborn calf.

## INTRODUCCION

El hierro, es uno de los elementos indispensables en el metabolismo animal, ya que, forma parte de numerosos procesos biológicos y celulares incluyendo transporte de oxígeno, transferencia de electrones y síntesis de DNA, éste mineral actúa como cofactor de varios sistemas enzimáticos, principalmente aquellos que contienen el complejo Hem (Chua *et al.*, 2007).

Según Atyabi *et al.*, (2006) terneros alimentados con leche bovina presentan deficiencia de hierro, debido al bajo contenido de este mineral en el calostro y en la leche. Esta situación es parcialmente corregida cuando el animal inicia consumo de forrajes verdes. En un estudio previo realizado para la valoración del metabolismo HEM, se siguió la dinámica hemática y la ganancia de peso en terneros, en cuadro hemático se determinaron 9 parámetros y adicionalmente se determinó proteína total y hierro sérico, indicando una deficiencia de hierro, comprobada igualmente, por la permanente observación de hipocromía en los extendidos analizados. Los resultados obtenidos en este trabajo previo, indican una deficiencia de hierro, aparentemente de origen nutricional (Páez *et al.*, 2009).

Desde los años 50 hasta la actualidad, se han realizado estudios en donde los valores de hematocrito y hemoglobina en la sangre son por lo general bajos al nacimiento y si la ingesta de hierro en la dieta es baja, los niveles de hematocrito y hemoglobina pueden continuar bajos por semanas (Moosavian *et al.*, 2010). Un bajo consumo de hierro resulta en anemia y causa adaptaciones endocrinas y metabólicas; aumenta la utilización de la glucosa dependiente de la insulina y reduce la respuesta de la insulina a la hormona del crecimiento, lo que puede desencadenar en la presencia de dificultades fisiológicas y en la reducción en la ganancia de peso. Se han usado compuestos de hierro dextrán para tratar la deficiencia de hierro y la anemia con el objetivo de aumentar valores hematológicos e incrementar ganancias de peso, pero aun no se han establecido dosis precisas (Moosavian *et al.*, 2010)

La deficiencia de hierro conlleva a que en el animal presente dificultades fisiológicas tales como depleción en las reservas de hierro en hígado, riñones y bazo, disminución de ferritina en suero y aumento en la actividad eritropoyética (generación de glóbulos rojos), disminución de la actividad enzimática aumentando la glicolisis anaeróbica y disminución en la síntesis de mioglobina y hemoglobina, lo que puede desencadenar la presencia de cuadros de anemia microcítica o hipocrómica, causando bajas ganancias de peso, retraso en el crecimiento e incremento de la susceptibilidad del animal a infecciones, generando así, dificultades en la cría de terneros y elevando los costos de producción, pues, además de tener bajos rendimientos en ganancia de peso y conversión alimenticia, los animales fácilmente pueden desarrollar enfermedades infecciosas (Volker & Rotermund 2000), las cuales aumentaran los costos por medicamentos, mano de obra, etc.

De acuerdo a lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la dinámica hemática y el metabolismo del hierro bajo el efecto de la aplicación de dos suplementos: 500 mg de Hierro dextran vía parenteral y 100 mg de Spirulina vía oral sobre el componente Hem y su incidencia en la dinámica hemática en terneros de tres grupos raciales Hartón del Valle, Holstein Friesian y Cebú Brahman en crecimiento en sistemas semiintensivos en condiciones de trópico bajo.

## 1. JUSTIFICACIÓN

En el ternero suceden acontecimientos que ameritan el estudio del metabolismo de Hierro:

1. Al parto, el feto se halla en un estado fisiológico de Hipoxia temporal, pasa de la dependencia de la circulación materna fetal (glóbulos rojos con menor afinidad por el oxígeno) a la circulación propia o fetal donde produce glóbulos rojos que contienen hemoglobina con una afinidad elevada por el oxígeno. Cuando nace existe un reemplazo global de la hemoglobina materna por la fetal.
2. Nutricionalmente el calostro y la leche bovina que son la dieta del ternero lactante, poseen bajas cantidades de hierro (Atyabi *et al.*, 2006).
3. Cuando el ternero nace se enfrenta al medio ambiente externo desafiante donde está expuesto a diferentes ectoparásitos entre ellos mosca y garrapata.

Una deficiencia nutricional se caracteriza porque los nutrientes que se consumen son inferiores a las necesidades corporales que el ternero demanda, generando crecimiento lento, pobre desarrollo muscular, maduración retardada lo que a su vez retarda el inicio de la pubertad, baja ganancia de peso, así mismo, afecta la respuesta inmune haciendo que el animal sea propenso a infecciones por microorganismos (Mohri *et al.*, 2004).

En Colombia, la cría y desarrollo de bovinos en crecimiento presenta dificultades, tanto por deficiencias nutricionales, como por condiciones medio ambientales en donde los animales están expuestos a la presencia de hemoparásitos y las grandes limitantes en el manejo, impiden obtener tasas de crecimiento adecuadas, adicionalmente, no se cuenta con valores de referencia hematológicos ni de

metabolitos indicadores del metabolismo del hierro en neonatos bovinos, que permita realizar estudios para la valoración del metabolismo HEM ya que la deficiencia de hierro se caracteriza clínicamente por el desarrollo progresivo de anemia de tipo hipocrómico que afecta adversamente el desarrollo, crecimiento y salud de los terneros ocasionando pérdidas productivas importantes.

Diversos trabajos se han realizado a nivel internacional en la medición de parámetros hemáticos y suplementación con hierro en terneros arrojando resultados positivos en el incremento de parámetros eritrocitarios. A nivel nacional se han realizado estudios en donde se miden parámetros hemáticos en bovinos.



## 2. HIERRO

El hierro es el metal de mayor abundancia en el universo y el cuarto elemento encontrado con gran frecuencia en la corteza terrestre. Ubicado en el grupo 8 - periodo 4 de la tabla periódica de los elementos, cuenta con 26 electrones dispuestos en sus respectivos orbitales atómicos y es considerado como metal de transición. El hierro se encuentra de forma natural en el suelo, formando parte de diversos minerales, en el agua y en los alimentos (Keel & Abkowitz, 2009).

En los alimentos, el hierro se encuentra formando parte de dos grupos diferentes. El hierro de tipo hémico, es el que forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y muchas otras hemoproteínas, que se encuentran principalmente en los alimentos de origen animal. El hierro de tipo no hémico corresponde a aquel hierro que no se encuentra unido al grupo hemo; básicamente está formado por sales inorgánicas de este metal y se encuentra principalmente en los alimentos de origen vegetal. En forma sintética hace parte de la mayoría de preparados farmacéuticos utilizados en la terapia contra la deficiencia de este mineral (Keel & Abkowitz, 2009).

En el organismo el hierro se distribuye en dos compartimientos: un área de depósito que constituye la reserva corporal del metal asociado a ferritina y hemosiderina en el sistema monocito-macrofago del bazo, hígado y médula ósea y en un compartimiento funcional conformado por compuestos celulares que contienen hierro tales como mioglobina y hemoglobina o que requieren hierro como las enzimas que lo necesitan como cofactor o como grupo prostético, ya sea en forma iónica o como grupo hemo. La transferrina unida al hierro facilita su intercambio entre ambos compartimientos (Pérez *et al.*, 2005).

Fisiológicamente, el hierro se encuentra unido a proteínas, ya que en su estado libre, tiene la propiedad de generar junto al oxígeno, radicales libres (hidroxilos,

peróxidos, superóxidos) que pueden causar daño por peroxidación de los lípidos de membrana y otras ferro-proteínas celulares, así como al propio ADN (Pérez *et al.*, 2005).

## 2.1. Vías de absorción intestinal de hierro

El hierro se absorbe en el borde de las células epiteliales de las vellosidades intestinales, particularmente en el duodeno y yeyuno alto, en donde la absorción tiene mayor eficiencia. La membrana de la mucosa intestinal tiene la habilidad de capturar el hierro y permitir su paso al interior de la célula (Pérez *et al.*, 2005).

### 2.1.1 Absorción de iones ferrosos

El hierro incorporado a través de productos farmacológicos (orales o parenterales) está presente como sal ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ). En el lumen intestinal se forman cantidades variables de ión ferroso por acción de agentes dietéticos como el ácido ascórbico, aminoácidos y azúcares que facilitan su absorción intestinal. También el hierro inorgánico por acción del ácido clorhídrico del estómago pasa a su forma reducida, hierro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), que es la forma química soluble capaz de atravesar la membrana de la mucosa intestinal.

La absorción de los iones ferrosos es mediada por el transportador de metales divalentes DMT1 (divalent metal transporter 1). La proteína DcytB (duodenal cytochrome b), que está presente en la superficie apical del enterocito, reduce los iones férricos ( $\text{Fe}^{3+}$ ) de la dieta a ferrosos, los cuales pueden ser incorporados también vía DMT1 (Pérez *et al.*, 2005).

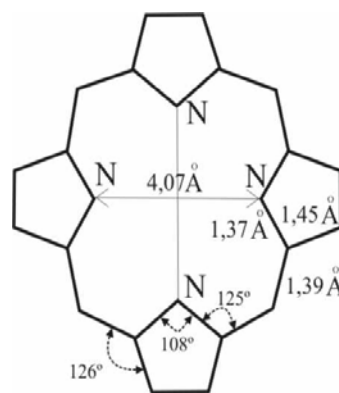
### 2.1.2 Absorción de iones férricos

El hierro dietario se encuentra en estado férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) o como hierro hemo. En estado férrico, el hierro es insoluble en soluciones con pH mayores a 3, formándose en el estómago complejos solubles del metal, aumentando su disponibilidad para ser absorbido en el duodeno.

Los iones férricos y el Hemo son absorbidos vía proteína de membrana por medio de  $\beta$ 3-integrina para luego ser transferidos a la proteína chaperona mobilferrina (Pérez *et al.*, 2005).

#### 2.1.2.1 Grupo Hemo

El grupo Hemo está formado por un anillo orgánico complejo, llamado protoporfirina, a la que se une un átomo de hierro divalente, el que forma 6 uniones coordinadas; cuatro de ellas se forman con la protoporfirina y de las dos restantes, una lo hace con el nitrógeno de la fracción proteica y la otra queda libre como sitio de unión para una molécula de oxígeno (Solá, 2010).



**Figura. 1 Forma estructural y química del grupo Hemo. Fuente: Solá, 2010.**

El Hemo se sintetiza principalmente en los glóbulos rojos y en los hepatocitos. Las diferencias entre estos dos tejidos y su necesidad por el grupo Hemo radica en que existen diferentes mecanismos de regulación para su biosíntesis.

En los hepatocitos, el hemo es requerido para su incorporación en los citocromos, en particular los de clase P<sub>450</sub>, que son importantes para la detoxificación y en otros citocromos de la vía de la fosforilación oxidativa que contienen hemo. El factor que regula la velocidad de la reacción en la biosíntesis del hemo hepático es el ALA sintasa (ácido δ-aminolevulínico sintasa). El producto de la oxidación del Fe<sup>3+</sup> se llama hemina y actúa como un inhibidor de la ALA sintasa a través de un mecanismo de retroalimentación. La hemina también inhibe el transporte de la ALA sintasa desde el citosol (en donde es sintetizada) hacia la mitocondria (su sitio de acción) y reprime la síntesis de esta enzima (King, 2010).

En los glóbulos rojos todo el grupo hemo es sintetizado para ser incorporado en la hemoglobina, lo cual sólo ocurre durante la diferenciación cuando se da la síntesis de hemoglobina. Cuando los glóbulos rojos maduran, la síntesis tanto del grupo hemo como de la hemoglobina cesa. En los reticulocitos (eritrocitos inmaduros) el hemo estimula la síntesis de proteínas. Adicionalmente, el control de la biosíntesis del hemo en los eritrocitos ocurre en varios sitios con la ayuda del ALA sintasa. El control de esta biosíntesis se atribuye a la ferroquetalasa, la enzima responsable para la inserción del hierro a la protoporfirina IX (King, 2010).

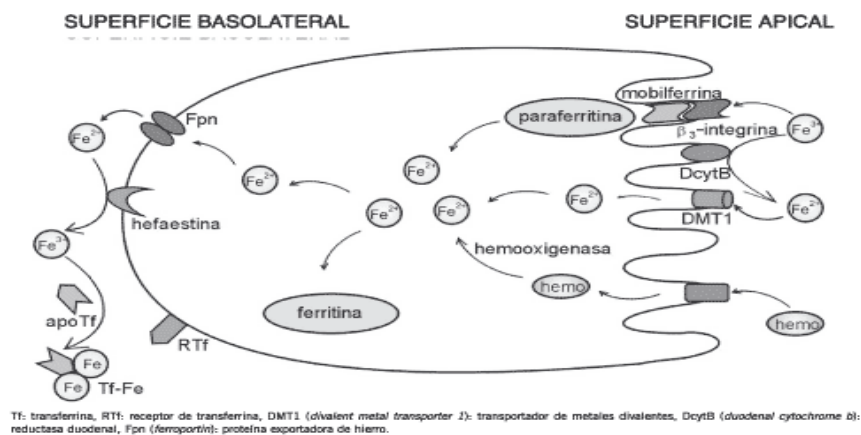
#### 2.1.2.2 Absorción de hierro hemo

El grupo hemo es liberado desde la hemoglobina y/o mioglobina, como producto de la digestión proteolítica que se lleva a cabo por las enzimas pancreáticas. Posteriormente el grupo hemo, es incorporado por las células absortivas del intestino delgado como una metaloporfirina. El transporte es mediado por una proteína específica que se encuentra en la cara apical de la membrana del

enterocito. Dentro de la célula, el grupo hemo es lisado por la hemoxygenasa, liberando el hierro inorgánico de la estructura tetrapirrólica (Pérez *et al.*, 2005). Este hierro se incorpora al pool citoplasmático.

Una vez en el interior del enterocito, en el citoplasma, el hierro absorbido a través de cualquiera de las vías (absorción ferrosa, férrica o hierro hemo) es convertido a su estado ferroso, acción realizada por un complejo citoplasmático llamado paraferritina, el cual utiliza una cadena de transporte de electrones con energía proveniente de NADPH para reducir el hierro absorbido (King, 2010).

Los iones ferrosos pueden ser utilizados en procesos metabólicos celulares (como cofactores de enzimas ferredpendientes), ser almacenados en la ferritina o dirigirse a la membrana basolateral del enterocito donde son transportados por la proteína transportadora transmembrana ferroportina (Fpn) desde el enterocito hacia la sangre. La proteína de membrana hefaestina promueve la oxidación del hierro facilitando su incorporación a la apotransferrina circulante y finalmente, es captado y transportado hacia los tejidos periféricos por la proteína plasmática transferrina (Tf) (Galy *et al.*, 2008).



**Figura. 2 Absorción intestinal del hierro. Fuente: Pérez *et al.*, 2005**

## 2.2. Regulación de la absorción del hierro

En el estudio de la homeostasis del hierro se han implicado en los últimos años diversos genes y proteínas entre las cuales la hepcidina es catalogada actualmente como la hormona responsable del control de la absorción intestinal de hierro y su utilización por los macrófagos (Vyoral & Petrák, 2005).

La homeóstasis del hierro en el organismo se basa tanto en el control de la absorción intestinal del mineral, como de su reciclaje por los macrófagos. La comunicación entre las reservas hepáticas de hierro, los macrófagos y los enterocitos duodenales, esta mediada por la hepcidina. La hepcidina es una hormona peptídica producida por los hepatocitos que influye directamente en la expresión de la ferroportina en los enterocitos maduros del duodeno, y de ésta forma regula la absorción de hierro en respuesta a los requerimientos corporales del mineral; así el cuerpo puede responder rápida y adecuadamente a los cambios en las demandas de hierro por ajuste de la liberación del metal a partir de los enterocitos duodenales y posiblemente de los macrófagos del sistema retículo endotelial. Este modelo explicaría la regulación de la absorción en condiciones normales y en casos de alteración en su absorción (Muckenthaler *et al.*, 2008).

Los mamíferos poseen mecanismos para mantener la homeostasis del hierro mediante la modulación de la expresión de la hepcidina hepática.

La biodisponibilidad del hierro es definida como la eficiencia con la cual el hierro obtenido de la dieta es utilizado biológicamente, depende del tipo de hierro que se suministre en los alimentos, de la cantidad del mismo, de la combinación de alimentos en la dieta, el estado de oxidación del hierro y de algunos eventos que modifiquen la movilización de hierro entre los tejidos o la absorción del mismo como: la eritropoyesis aumentada, la hipoxia y las infecciones, así mismo, algunos de los inhibidores de la absorción de hierro son la ingesta crónica de alcalinos, fosfatos, fitatos y taninos (Gaitán *et al.*, 2006)..

### 2.3. Transporte de hierro

Según Andrews (2008), la cantidad de hierro que se requiere diariamente es captada por la transferrina en las células del lumen intestinal y en los sitios de degradación de la hemoglobina (sistema monocito-macrófago).

La transferrina (Tf) es una Glucoproteína formada por una cadena simple de polipéptidos que tiene dos sitios activos de unión al hierro. Se sintetiza en hígado y en una pequeña extensión del sistema retículo-endotelial y glándulas endócrinas como testículos y ovarios (Andrews, 2008).

Cada molécula de Tf tiene dos sitios que se unen al hierro, un sitio cerca del carboxilo terminal (C-t) y otro sitio en el extremo amino terminal (N-t); por otra parte, la molécula de Tf puede estar unida a uno o dos átomos de hierro, constituyendo las formas mono y/o diférricas, o estar libre de hierro (apotransferrina) (Andrews, 2008).

La transferrina transporta el hierro absorbido en el intestino y el liberado por el catabolismo de la hemoglobina hacia los sitios de almacenamiento (hígado y sistema retículo-endotelial); es responsable de la distribución del hierro y de su oferta a los sitios de absorción, almacenamiento, donde es incorporado a la ferritina y hemosiderina y a las células que sintetizan componentes que requieren hierro como la hemoglobina, mioglobina y citocromos. Tiene una vida media de 7 días y su concentración plasmática está regulada por la disponibilidad de hierro (Andrews, 2008).

#### 2.3.1 Mecanismos celulares

La captación de hierro está determinada por el número y la estabilidad de los receptores de transferrina (RTf) en la superficie celular. Estos receptores además de facilitar el acceso del hierro a la célula cumplen un papel fundamental en la

liberación del metal del complejo con Tf en el interior de la misma (Sheng & Enns, 2009).

El hierro transportado por Tf realiza su ingreso a las células a través de un proceso de endocitosis mediado por RTf. Los RTf se encuentran concentrados en invaginaciones de la membrana plasmática revestidas internamente por la proteína clatrina. Una vez se forma el complejo Tf-RTf, se origina una vesícula que es transportada junto con el complejo ligando-receptor al interior celular. Cuando la clatrina es removida, la vesícula resultante se fusiona con un endosoma (Andrews & Schmidt, 2007).

El pH al interior de esta fusión oscila alrededor de 5,5 lo que produce la liberación del hierro del complejo Tf-RTf como ión férrico. Posteriormente, el hierro es reducido por una ferri-reductasa endosomal y transportado al citoplasma por el transportador de cationes divalentes DMT1. El hierro se puede almacenar en el hepatocito unido a la ferritina. Los receptores de transferrina se reciclan de nuevo a la superficie en el hepatocito y la transferrina se libera a la sangre donde se puede enlazar a más hierro férrico en la circulación (Andrews & Schmidt, 2007).

Según Forrellat *et al.*, (2005) una vez en el citoplasma, el ión ferroso incorporado puede seguir tres rutas:

- Pool de utilización, proteínas celulares que requieren hierro.
- Pool de almacenamiento, constituido por ferritina y hemosiderina.
- Pool regulatorio, incluye a las proteínas encargadas de detectar variaciones en los niveles intracelulares del metal (IRP iron regulatory proteins).

#### 2.4. Regulación de la captación, utilización y almacenamiento de hierro

Para mantener el equilibrio del hierro en las células es necesario el balance entre su captación, utilización y almacenamiento intracelular.



La regulación de la síntesis de proteínas importantes en el metabolismo del hierro se encuentra en la traducción del RNAm por los ribosomas de los enterocitos. El engranaje de regulación es mediado por interacciones entre secuencias conservadas IRE (iron responsive elements) que consiste en una estructura en forma de tallo y asa con secuencias de nucleótidos y, se encuentran localizadas en los RNAm respectivos y proteínas citoplasmáticas llamadas IRP (iron regulatory proteins). La traducción de las proteínas involucradas en el metabolismo del hierro es regulada a través de la interacción IRE-IRP (Ganz, 2008).

Las secuencias IRE están localizadas en las regiones que no son traducidas o no codificadas (UTR<sub>S</sub>) situadas en los extremos 5' o 3' de los RNAm y dependiendo de la posición, cambia el efecto que ocasiona su interacción con IRP. Los IREs situados en la región UTR 5' actúan regulando la unión del mensajero al ribosoma o sea, controlan la iniciación de la traducción y los IREs ubicados en la región UTR 3' modulan la estabilidad o la degradación del RNAm por acción de endorribonucleasas (Forrellat *et al.*, 2005).

En las células de los mamíferos han sido identificadas dos proteínas IRP (IRP1 e IRP2) que intervienen como sensores del contenido celular de hierro.

El sistema IRE-IRP le permite a las células regular la biosíntesis de proteínas involucradas en la captación RTF (Receptores de transferrina), utilización (ALAS: delta amino-levulínico sintetasa) y almacenamiento (ferritina) de hierro, durante las variaciones fisiológicas de su biodisponibilidad (Gaitán *et al.*, 2005).

Cuando los niveles de hierro están bajos, el objetivo del enterocito es incrementar la captación del hierro y disminuir su utilización o almacenamiento. Los IRP activos se unen a la secuencia IRE, aumentando la síntesis de RTf mientras que la síntesis de ferritina y ALAS disminuyen (Ganz, 2008).

Cuando los niveles de hierro están altos, el hierro es almacenado y su incorporación debe ser disminuida. Los IRP se separan de los IRES, y como consecuencia, el ARNm del RTf es degradado aumentando la síntesis de ferritina y ALAS.

## 2.5. Sitios de almacenamiento, utilización, y reciclaje del hierro

En el interior del organismo, el hierro circula por la sangre unido a transferrina. Mediante esta unión, alcanza la superficie celular de los diferentes órganos como hígado, bazo, corazón, riñón, pulmón y glándulas endocrinas entre otras. Los principales sitios de almacenamiento del hierro se encuentran en el hígado y el bazo (Gaitán *et al.*, 2006).

Los eritrocitos que se encuentren en la circulación al cumplir alrededor de 120 días de vida, son removidos por fagocitosis. Los macrófagos del bazo, hígado o médula ósea son los responsables de esta acción. Dentro del fagosoma, el grupo hemo es liberado de la Hemoglobina, la cual es catalizada por la hemo-oxigenasa, liberándose el Fe<sup>+2</sup>, que sale al citoplasma (Gaitán *et al.*, 2006).

El macrófago también obtiene hierro de las bacterias a través de un proceso similar a la fagocitosis hemática y de la Transferrina; además capta hierro libre del pool independiente de transferrina. El hierro que se almacena en los macrófagos por lo general es inocuo y reciclable. Se almacena en forma de ferritina / hemosiderina (Gaitán *et al.*, 2006).

Fisiológicamente, el hierro es eliminado del cuerpo por desprendimiento de las células de la mucosa, la descamación de las células de la piel, la pérdida de sangre y la excreción urinaria. En principio, IRP podría influir en la cantidad de hierro que sale del cuerpo, por ejemplo, mediante el desprendimiento del metal retenido en las células de la mucosa. Es importante clarificar cómo el control del IRP y la expresión de sus genes podrían afectar la excreción de hierro renal

(Muckenthaler *et al.*, 2008). El hierro eliminado por las heces procede fundamentalmente del que no se ha absorbido de la dieta y de la ferritina contenida en las células descamadas en el tracto intestinal. El hierro se reutiliza, predominando cuantitativamente su incorporación a los precursores de eritrocitos de la medula ósea (Gaitán *et al.*, 2006).

La ferritina es una proteína especializada en el depósito del hierro. Tiene la forma de una esfera ahuecada o con una cavidad interna, que constituye la parte proteica denominada apoferritina, y que forma la cubierta que protege al hierro que se encuentra en su interior. La molécula sin el hierro se denomina apoferritina. Su vida media es de aproximadamente 50 a 75 horas (Sheng & Enns, 2009). La importancia fundamental de la ferritina es la de poder mantener almacenado el hierro en los depósitos. El hierro iónico no unido es tóxico y el hierro es esencial para la vida y debe ser conservado. Por lo tanto, el poder ser almacenado en los tejidos no solo evita su toxicidad, sino que puede ser utilizado cuando el organismo lo requiera. La ferritina en los tejidos está completamente saturada con hierro, permitiendo de esta manera que hierro libre pueda ser incorporado inmediatamente (Muckenthaler *et al.*, 2008)

## 2.6. Necesidades de hierro

Los requerimientos minerales de los animales se refieren al equilibrio que debe existir entre las cantidades de minerales que son consumidos y absorbidos por el animal y aquellas necesarias para mantener su desarrollo y crecimiento (Underwood & Suttle, 2003). Durante la crianza los requerimientos y la suplementación dependen del tipo de sistema productivo y de la edad en la que se encuentre el ternero.

Según NRC (2001) no se ha establecido claramente el requerimiento de hierro para terneros recién nacidos pero se estima que los terneros necesitan como porcentaje de peso vivo más o menos 1000 partes por millón.

Según el NRC (2001) un ternero de 6 semanas con un consumo de 0.9 kg diarios de materia seca necesita 150 mg/día de hierro mientras que Davis & Dreackley (1998) señalan que el requerimiento de hierro en el ternero es de 100 mg por Kg de materia seca.

Las recomendaciones deben ayudar a mantener las concentraciones normales de hemoglobina y asumir un rango marginal que permita variaciones en la disponibilidad y que minimice los diagnósticos prematuros de una deficiencia dietética de hierro.

## 2.7. Manifestaciones bioquímicas y fisiológicas de la deficiencia de hierro

Las manifestaciones químicas de una deficiencia de hierro son precedidas de una depleción de las reservas de hierro, es decir, ferritina y hemosiderina en el hígado, riñones y bazo. La ferritina en suero también disminuye y aumenta la actividad eritropoyética (generación de glóbulos rojos) (Underwood & Suttle, 2003).

En un hemograma la deficiencia de hierro se manifiesta en un valor bajo de hemoglobina o de hematocrito o una baja en el volumen corpuscular medio (medida del tamaño promedio de los glóbulos rojos) (Underwood & Suttle, 2003).

El periodo inicial de depleción está condicionado por la dimensión inicial de las reservas hepáticas de hierro. El periodo de deficiencia puede establecerse por la reducción de los valores hierro sérico; las concentraciones de hemoglobina y mioglobina empiezan a descender por debajo de lo normal sin retrasar el crecimiento de los terneros. Existe una holgada capacidad antes que esta se agote y produzca una disfunción y alteración. En los casos en los que el ritmo de

crecimiento disminuyó (Hostettler-Allen *et al.*, 1993) plantearon que el descenso en la actividad de enzimas dependientes de hierro era la causa responsable de un aumento en la glicólisis anaeróbica y el reciclaje lacto – glucosa, conduciendo así, a una ineficiente utilización de la glucosa, es decir, a una disfunción y según Underwood & Suttle, (2003) en terneros deficientes, la actividad de la catalasa se reduce en mayor magnitud en sangre que en hemoglobina.

La secuencia de cambios bioquímicos determinantes en la aparición de los signos clínicos de deficiencias de hierro son los siguientes:

1. Disminución de las reservas de ferritina y hemosiderina en hígado.
2. Disminución de transferrina en plasma.
3. Disminución de hemoglobina en sangre, disminución de mioglobina en músculo y disminución de citocromo y catalasa en hígado.
4. Signos clínicos que evidencian la presencia de anemia.

## 2.8. Manifestaciones clínicas de una deficiencia de hierro

Junto a la deficiencia de hierro, la síntesis de hemoglobina (Hb) se ve reducida (Kozat *et al.*, 2006) y la prolongada deficiencia de hierro se caracteriza clínicamente por pérdida del apetito, retraso del crecimiento, letargia, palidez de las mucosas visibles, aumento de la frecuencia respiratoria y, en casos graves, mortalidad elevada (Kozat *et al.*, 2006). Estos signos son producidos y causados por el desarrollo progresivo de anemia de tipo hipocrómico microcítica y subyacente se desarrolla una médula ósea normoblástica hiperplásica conteniendo poca hemosiderina. El inicio precoz de anemia es un criterio diferencial respecto al desarrollo tardío de la anemia debido a una deficiencia de cobalto y cobre (Underwood & Suttle, 2003) y puede afectar adversamente su desarrollo, crecimiento y salud (Kume & Tanabe, 1994).

El número de lactancia de la madre es un factor para la alteración de hierro y terneros nacidos de vacas primerizas desarrollan bajo hematocrito y baja hemoglobina en la sangre, porque la transferencia placentaria de hierro en novillas primerizas puede ser baja debido a la alta demanda de hierro en la terminación de su crecimiento (Kume *et al.*, 1998).

Los terneros gemelos son más propensos a desarrollar anemia que los terneros de gestación sencilla, debido a que compiten por una provisión materna de hierro limitada. Según Miltenburg *et al.*, (1991) y Kume & Tanabe, (1994) reportan un rango de mortalidad de terneros anémicos, aunque la mayoría de estos animales parecían estar clínicamente normales al nacimiento, por lo cual, la suplementación de hierro después del parto puede ser esencial para los terneros. Según Kozat *et al.*, (2006) la anemia por deficiencia de hierro se origina por la baja ingesta de este mineral, por la inadecuada absorción intestinal de hierro, por la excesiva pérdida de sangre y algunos parásitos intestinales y ectoparásitos.

Según Cseh *et al.*, (1998) los rumiantes jóvenes son susceptibles a las deficiencias de hierro, debido al bajo contenido de este mineral en la leche, aproximadamente 10 ppm, razón por la cual, terneros sometidos a dietas lácteas por largos periodos pueden presentar anemia microcítica normocrómica o hipocrómica con baja ganancia de peso, retraso en el crecimiento e incremento de la susceptibilidad del animal a infecciones (Hostettler-Allen *et al.*, 1993), este incremento en la incidencia de enfermedades infecciosas asociadas a las deficiencias de hierro se debe a la inactividad de las enzimas del sistema inmune que contienen hierro (Kozat *et al.*, 2006).

## 2.9. Diagnóstico de alteraciones de hierro

La identificación de una situación crítica se valora inicialmente midiendo la hemoglobina en sangre y/o hematocrito disminuido (volumen celular PCV) (Underwood & Suttle, 2003).

En todas las especies, una deficiencia sostenida de hierro conduce finalmente a la formación de nuevos eritrocitos pequeños con una concentración de hemoglobina muy inferior a la normal. Esto se refleja por una concentración media de hemoglobina celular baja. Así la deficiencias de hierro se confirma por la presencia de una anemia microcítica hipocrómica (Underwood & Suttle, 2003).

Valores séricos de hierro de un 25% por debajo del nivel normal indican claramente anemia y valores de un 50% a un 60% provocan clínicamente una pérdida de vitalidad de los animales (Underwood & Suttle, 2003). La deficiencia de hierro podría también indicarse por bajos niveles hepáticos de hierro (Underwood & Suttle, 2003).

Según (Atyabi *et al.*, 2006) la Ferritina sérica es el mejor indicador de hierro corporal total y un buen marcador para la evaluación de hierro en la sangre, ya que, a medida que disminuye el hierro en sangre, hay disminución del almacenamiento celular de ferritina. Por otro lado, el aumento de hierro en la sangre provoca un incremento en el almacenamiento celular de ferritina y hemosiderina en el bazo, el riñón, hepatocitos, y la médula ósea. Por lo tanto, la concentración de ferritina sérica se correlaciona directamente con las reservas de hierro del cuerpo en animales.

### 2.9.1 Anemia Microcítica o Hipocrómica

La anemia es la condición en la que la concentración de hemoglobina, hematocrito y la cantidad de eritrocitos se encuentran por debajo del límite normal para la edad, el género y la especie (Kozat *et al.*, 2006).

La deficiencia de hierro es el resultado de uno de los siguientes factores o de su combinación: aporte insuficiente (por dieta inadecuada o por absorción alterada), aumento de las necesidades (preñez, lactancia, períodos de crecimiento, etc.),

pérdidas excesivas (hemorragia), déficit de absorción y/o alteración del transporte (Giménez, 2003).

La anemia es hipocromica, cuando en la morfología del eritrocito se observa decoloración central de la membrana, debido a que la hemoglobina corpuscular media (HCM) presenta valores disminuidos. Se clasifica etiológicamente como ferropénica cuando la concentración de hierro sérico disminuye, la capacidad de la transferrina para unirse al hierro aumenta en gran medida, el nivel de protoporfirina libre de los eritrocitos se incrementa y el contenido sérico de ferritina disminuye (Giménez, 2003).

El diagnóstico diferencial de este tipo de anemia se realiza, determinando la capacidad total de fijación de hierro, la concentración de hemoglobina, la concentración media de hemoglobina corpuscular y hematocrito, así como los niveles séricos de hierro y ferritina, el índice de saturación de transferrina y la concentración de protoporfirina eritrocítica. Para observar la morfología eritrocitaria es necesario realizar extendido sanguíneo (Atyabi *et al.*, 2006).

## 2.10. Fuentes Exógenas de Hierro para Suplementación

En terneros la deficiencia de hierro suele tratarse con una inyección intramuscular de 500 mg de Hierro-Dextran o dextrina: así mismo, una suplementación oral diaria de  $\text{FeSO}_4$ , conteniendo 20 – 40 mg de Fe es igual de efectiva para terneros recién nacidos (Kume & Tanabe., 1994).

### 2.10.1 Spirulina

La *Spirulina (Arthrospira)*, es un alga filamentosa unicelular, caracterizada como cianobacteria y se cultiva en algunos países, como alimento para consumo humano y animal, así como para la obtención de aditivos utilizados en formas farmacéuticas y alimentos. La spirulina es rica en proteínas, vitaminas,



aminoácidos, minerales y otros nutrientes, por lo que su principal uso es como suplemento alimenticio. Sin embargo, en los últimos años se le han atribuido diversas propiedades farmacológicas. Así, se ha comprobado a nivel experimental in vivo e in vitro su efectividad en el tratamiento de algunos tipos de alergias, anemia, cáncer, hepatotoxicidad, enfermedades virales y cardiovasculares, hiperglicemia, hiperlipemia, inmunodeficiencia y procesos inflamatorios, entre otros. Varias de esas actividades se deben a la *Spirulina* per se o a algunos de sus constituyentes, entre los que destacan ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y 6, beta-caroteno, alfa-tocoferol, ficocianina y compuestos fenólicos (Chamorro *et al.*, 2002).

Posteriormente, descubrieron que en esta alga se encuentra una concentración de nutrientes superior que la observada en cualquier otra especie vegetal. Con respecto al hierro, la *spirulina* es el alimento más rico que se conoce en relación a este mineral ya que posee veinte veces más hierro que otros alimentos considerados como fuente de este mineral. Según investigaciones el hierro contenido en la *spirulina* se absorbe hasta dos veces mejor que el que se encuentra en los vegetales y en la mayor parte de las carnes (Chamorro *et al.*, 2002).

Por estas razones, el consumo de *Spirulina* puede crear una condición fisiológica óptima que pudiera ser un factor importante en la suplementación alimenticia en animales para contrarrestar la deficiencia de hierro.

#### 2.10.2 Hierro Dextran

Es una solución de hierro inyectable, que después de ser administrado por vía intramuscular, es rápidamente absorbido en forma integral por el organismo. Una vez separado de su complejo dextran a nivel hepático y depositado en los órganos de almacenamiento (hígado, bazo y sistema retículo endotelial), comienza a ser metabolizado e incorporado a la hemoglobina, mioglobina y aminas celulares. En

la Anemia, el hierro inyectable produce un rápido aumento del contenido de hemoglobina y del número de eritrocitos (Pérez *et al.*, 2005).

En los suplementos orales como las sales ferrosas, la biodisponibilidad de hierro disminuye en presencia de inhibidores en la dieta y las sales férricas requieren de la reducción a la forma ferrosa en la luz intestinal y además, la biodisponibilidad del hierro es 3 a 4 veces menor en sales férricas que en el sulfato ferroso. Por tal motivo, la vía parenteral presenta mayor efectividad en la suplementación de hierro (Vargas *et al.*, 2010).

### **3. PRUEBAS CUANTITATIVAS Y CUALITATIVAS DEL METABOLISMO DEL HIERRO**

3.1 El Hematocrito: mide el porcentaje de eritrocitos en el volumen total de sangre. Según Giménez (2003) En la interpretación de esta magnitud, al igual que sucede con la concentración de hemoglobina y con el número de hematíes, hay que tener en cuenta la edad y el sexo. Un valor por debajo de lo normal indica anemia, mientras que un valor por encima indica policitemia.

3.2 La Hemoglobina: es una molécula que forma parte del eritrocito; es la encargada del transporte de oxígeno y dióxido de carbono y mide la concentración del eritrocito en la sangre. Según Giménez (2003) la hemoglobina estructuralmente, es una proteína de 68 kDa, formada por cuatro cadenas de globina y cuatro grupos hemo. Cada cadena está unida a un grupo hemo mediante enlace no-covalente y entre las cuatro organizan un tetrámero que coordina un átomo de hierro; la determinación de la concentración de hemoglobina es uno de los procedimientos más fiables de los que se dispone para el diagnóstico de anemia.

3.3 La CONCENTRACIÓN MEDIA DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR (CMHC): define la relación entre el peso de la hemoglobina y el volumen de los glóbulos rojos, se expresa en porcentaje o en gr/100cm<sup>3</sup>. Se calcula según la fórmula:

$$\text{CMCH} = \text{hemoglobina (gr/100cm}^3\text{)} \times 100 / \text{hematocrito (\%)}$$

3.4 Hierro: La concentración de hierro en suero, concretamente del ión férrico, refleja principalmente la cantidad de hierro unido a la transferrina. Las alteraciones específicas de la determinación del hierro, se asocian a cada uno de los tipos de anemia existentes (Ganz, 2008).

## 4. MATERIALES Y METODOS

### 4.1 Animales

Se seleccionaron 72 terneros en fase de cría pertenecientes a tres grupos raciales, dos de origen *Bos taurus* (Hartón de Valle –bovino nativo colombiano- y Holstein Friesian) y uno de origen *Bos indicus* (Cebú Brahman) correspondientes a las razas empleadas en los sistemas de producción en condiciones tropicales del Valle del Cauca colombiano. De cada raza se seleccionaron 24 animales distribuidos en tres grupos de ocho animales por raza. Al primer grupo de terneros se le inyectó 500 mg de Hierro Dextran por aplicación parental intramuscular, al segundo grupo se le suministró 100 mg de Spirulina vía oral y al tercer grupo se tomo como control.

### 4.2 Descripción de los Sistemas de Producción

Los terneros durante el experimento permanecieron en sus explotaciones de origen sin modificar las condiciones de manejo establecidas en cada sistema de producción. La zona agroecológica del experimento corresponde a bosque seco montano bajo (20–28 °C, 650 – 980 msnm, humedad relativa entre 70 y 80%) clasificada como termoneutra según el índice temperatura humedad (ITH) (Torres de Campos *et al.*, 2001).

Los terneros de la raza Cebú Brahmán pertenecen a un sistema de producción de bovinos para carne. Los terneros permanecen con sus madres en pastoreo intensivo hasta el destete (7 meses de edad). La base alimenticia son especies forrajeras como: Puntero (*Hyparrhenia rufa*), Humidicola (*Bracharia humidicola*), Brizanta (*Bracharia brizanta*), Tanzania (*Bracharia tanzania*), Decumbes (*Bracharia decumbes*) y Pasto estrella (*Cynodon plectostachium*), se suministra sal mineralizada al 4% y agua ad libitum

Los terneros de la raza Holstein (todas hembras) pertenecen a una explotación lechera intensiva. Las terneras son separadas de las madres a los tres días, luego de que han consumido calostro. Después son trasladadas a cubículos pequeños donde permanecen aproximadamente 60 días; reciben leche en balde dos veces al día (previa adaptación a tetero por dos días), iniciador comercial (proteína 18%, grasa 2.5%, fibra 12%, ceniza 10% y humedad 13%) y agua ad libitum. Posteriormente, son trasladadas a corrales pequeños que constan de una zona cubierta en piso de cemento y un potrero pequeño, se suprime el consumo de leche y se suministra forraje (Pasto estrella: *Cynodon plectostachium* y Pasto Guinea: *Panicum Maximum*), heno, sal mineralizada al 4% y agua ad libitum; allí permanecen hasta los cinco meses de edad y cuando alcanzan un peso entre 140 – 150 Kg (entre 5 y 6 meses de edad) son trasladadas a potrero donde se les suministra forraje (Pasto estrella: *Cynodon plectostachium* y Pasto Guinea: *Panicum Maximum*), sal mineralizada y agua ad libitum.

Los terneros de la raza Hartón del Valle pertenecen a un sistema doble propósito. Los terneros permanecen con sus madres hasta el tercer día de nacidos, luego son separados solo durante la noche y se reúnen quince minutos antes ordeño de la mañana para propiciar la bajada de la leche, posterior al ordeño permanecen entre 11,5 horas con la madre. Este manejo se cumple hasta el destete a los cinco meses de edad. La alimentación es a base de Pasto estrella. (*Cynodon plectostachium*), sal mineralizada al 4% y agua ad libitum. También se les administra en canoas Pasto morado (*Peninsetum hybridum*) junto con melaza.

#### 4.3 Colecta de Muestras

Mediante venipunción yugular y sistema vacutainer a cada animal se le recolectó mensualmente sangre en tubos con anticoagulante (EDTA) y sin él. Previó a la recolección de la muestra se valoraron las constantes fisiológicas de cada animal

mediante un protocolo de valoración clínica. El período experimental correspondió a los primeros seis meses de vida.

Las muestras se transportaron refrigeradas hasta el Laboratorio de Reproducción Animal de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, en donde se realizó Cuadro Hemático Completo con el objetivo de poder contar con información de posibles alteraciones clínicas en las cuales pudiera estar anemia o procesos infecciosos subclínicos. Se realizó extendido para cuadro hemático Completo manual en él que se determinaron Hb, Hto, recuento diferencial de serie blanca, formas inmaduras y relaciones de las observaciones específicas hipocromía. El suero se utilizó para medir Hierro sérico y Proteína Total y se obtuvo mediante centrifugación a 2.500 rpm durante quince minutos; se fraccionó, identificó y congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de los análisis. Mediante técnicas colorimétricas específicas para equipo de lectura óptica automatizada RAYTO (Analizador de Química semiautomático) a través de reactivos comerciales (HUMAN e IHR) se analizó Hierro sérico y hemoglobina. La proteína total se analizó mediante refractómetro manual.

#### 4.4 Registros

Se registró información básica sobre los animales en estudio: fecha de muestreo, fecha de nacimiento, días de nacido, sexo, peso en Kg.

#### 4.5 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial  $3 \times 3 \times 6$ .

Los resultados obtenidos de las pruebas de laboratorio se almacenaron en una base de datos en Excel y se analizaron estadísticamente a través del programa estadístico SAS 9.1 (Cary, NC): Los valores  $p < 0.001$  fueron considerados significativos.

El modelo estadístico se compone de un arreglo factorial completo al azar.

$$Y_{ijklmno} = \mu + E_i + E_j + E_k + E_l + E_m + E_n + E_o + \varepsilon_{exp}$$

Donde:

- $Y$  = Variables respuesta (Hemoglobina, Hematocrito, Concentración media de la hemoglobina corpuscular, Hierro sérico, Proteína total, Cuadro hemático y Ganancia de peso) observadas para cada uno de los efectos.
- $\mu$  = Media general.
- $E_i$  = Efecto del Tratamiento  $i$ .
- $E_j$  = Efecto de la Raza  $j$ .
- $E_k$  = Efecto del Mes de muestreo  $k$ .
- $E_l$  = Efecto de la interacción Tratamiento  $i$  por Raza  $j$ .
- $E_m$  = Efecto de la interacción Mes de muestreo  $k$  por Raza  $j$ .
- $E_n$  = Efecto de la interacción Mes de muestreo  $k$  por Tratamiento  $i$ .
- $E_o$  = Efecto de la interacción Mes de muestreo  $k$  por Raza  $j$  por Tratamiento  $i$ .

$\varepsilon$  = Error experimental

## 5. RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1 HEMOGLOBINA

El promedio de hemoglobina registrado en este estudio fue de 12,11gr/dl  $\pm$  2,8 encontrándose dentro del rango de valores reportados como normales para bovinos (8-15 gr/dl) (Kaneko *et al.*, 2008; Merck Veterinary Manual, 2008).

**Tabla 1. Promedio General y desviación estándar de los metabolitos medidos en las tres razas estudiadas.**

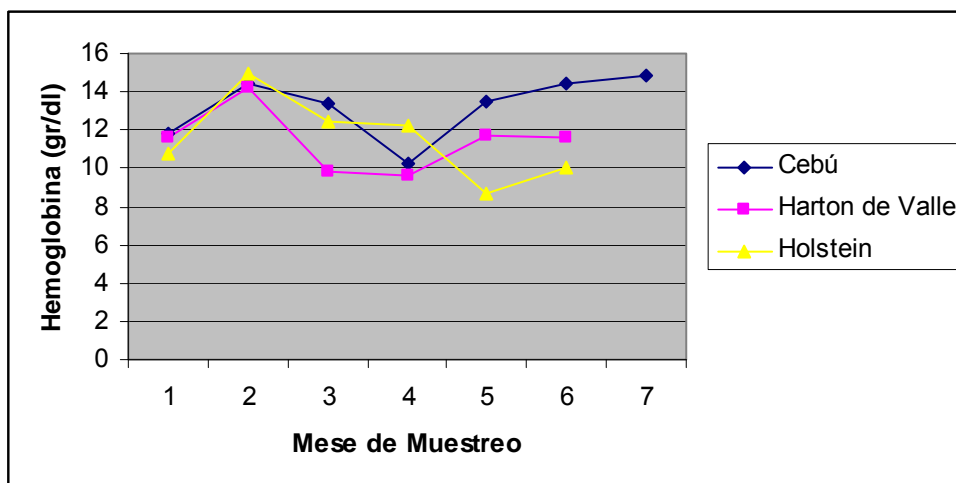
Metabolito	Raza			Promedio General del Estudio	Valores de Referencia	
	Cebú	Hartón del Valle	Holstein		Valor	Fuente
	n =167	n =98	n =131			
Hb (gr/dl)	13,21 $\pm$ 2,5	10,98 $\pm$ 2,3	11,56 $\pm$ 3,1	12,11gr/dl $\pm$ 2,8	8-15 gr/dl	(Kaneko et al., 2008; Merck Veterinary Manual, 2008).
Hto (%)	42,37 $\pm$ 6,8	34,30 $\pm$ 6,3	36,41 $\pm$ 6,9	38,40 % $\pm$ 7,6	27-45% 24-46%	(Kaneko et al., 2008; Merck Veterinary Manual, 2008).
CMHC (%)	31,29 $\pm$ 4,5	32,14 $\pm$ 4,4	31,66 $\pm$ 5,2	31,62% $\pm$ 4,7	30% - 36%	(Merck Veterinary Manual, 2008).
Hierro Sérico $\mu$ mol/L	21 $\pm$ 11,4	16,96 $\pm$ 10,4	18,15 $\pm$ 11,03	18,70 $\pm$ 11,8	10,2 -29 $\mu$ mol/L	(Kaneko et al., 2008)
Proteína Total (gr/dl)	5,83 $\pm$ 0,8	5,50 $\pm$ 0,6	5,24 $\pm$ 0,6	5,55 gr/dl $\pm$ 0,7	6.74-7.46 gr/dl	(Kaneko et al., 2008)



Welker *et al.*, (1998) investigaron el comportamiento hematológico en terneros de raza Nellore en condiciones tropicales durante el primer mes de vida, encontrando que el valor promedio de la hemoglobina fue de  $12,89 \pm 2,04$  gr/dl. Por otro lado, el valor medio de hemoglobina reportado por Coppo & Mussart (2006) en terneros media sangre cebú (Nellore x Hereford) en crecimiento, fue de  $12,1$  gr/dl  $\pm 1,3$  gr/dl entre 60-75 días de edad y de  $13,8$  gr/dl  $\pm 1,1$  g/dl entre 180-195 días de edad; valores que presentan similitud con el valor reportado en el presente estudio para terneros cebú de  $13,21 \pm 2,5$  gr/dl en fase de cría, coincidiendo con el rango de valores reportados como normales (ver tabla 1).

Campos *et al.*, (2009) caracterizaron las constantes fisiológicas del grupo racial Hartón del Valle en condiciones del valle del cauca, encontrando un promedio de hemoglobina de  $9,97$  gr/dl. El promedio de hemoglobina registrado en este estudio para terneros de la raza Hartón del Valle en fase de cría fue de  $10,98 \pm 2,3$  gr/dl encontrándose dentro del rango de valores de referencia (ver tabla 1).

Lumsden *et al.*, (1980) en la Universidad de Guelph, determinaron los valores hematológicos y bioquímicos de referencia en terneras Holstein con una población de 172 animales, encontrando que de la segunda semana a los 6 meses de edad, el rango de hemoglobina estuvo entre  $8,5 - 14,1$  gr/dl y para el período entre los 6 meses a los dos años de edad el rango de hemoglobina se encontró entre  $9,2 - 15,4$  gr/dl. Igualmente Mhory *et al.*, (2007) informaron que los valores de hemoglobina en terneros Holstein durante los primeros tres meses se encontraban dentro del rango de normalidad. En el presente estudio el promedio del valor de hemoglobina en la raza Holstein durante la fase de cría fue de  $11,56 \pm 3,1$  g/dl concordando con los valores citados como normales (ver tabla 1).



**Figura. 3 Comportamiento de la Hemoglobina (gr/dl) a lo largo de los 6 meses de muestreo en las tres razas estudiadas (Cebu, Hartón del Valle y Holstein).**

En la presente investigación, para los terneros de los grupos raciales Cebú y Hartón del valle, en el cuarto mes del muestreo se observó disminución en los niveles de hemoglobina como se puede observar en la figura 3. Mhory *et al.*, (2004) en un estudio sobre hematología y bioquímica del hierro en 21 terneros Simmenthal alimentados con leche y a partir de la tercera semana de edad con heno y concentrado, sin aporte forrajero, el hematocrito y la hemoglobina se redujeron drásticamente a alrededor de los 50 días de edad. También informaron que los niveles de hemoglobina disminuyen entre 1 y 9 semanas de edad debido a la presencia de anemia por deficiencia de hierro. Campos *et al.*, (2009) han encontrado en bovinos *Bos tauros* modificaciones temporales en sus constantes hemáticas, se cree que estas modificaciones expliquen los procesos adaptativos cuando los bovinos se enfrentan a desafíos medioambientales que incluyen bajo aporte nutricional en la dieta, especialmente por parte de los forrajes, frente a elevados requerimientos para homeostasis y retos de ecto y endo parásitos que pueden disminuir los niveles de hemoglobina en el ternero.

Las terneras de la raza Holstein, al quinto mes de edad presentan disminución en los niveles de hemoglobina como se puede observar en la figura 3; la base

alimenticia de estos terneros desde el tercer mes al quinto mes de vida cambia ya que el consumo de leche e iniciador se suprime e inician un período de adaptación a su nueva dieta a base de forraje y heno, presentando un bajo consumo inicial de materia seca. Según Quigley (2007), el crecimiento y la ingestión de alimentos pueden verse disminuidos en terneros a los cuales se les suprime la leche. Esta reducción en la ingestión de alimentos y en el crecimiento puede aumentar la susceptibilidad del ternero a infecciones; además, los terneros que son trasladados de un alojamiento a otro, están expuestos a nuevos patógenos en su nuevo ambiente y tardan algunas semanas en ajustarse a toda la tensión a la que fueron expuestos. Mhory *et al.*, (2007) encontraron que los valores de hemoglobina y hematocrito en terneros de la raza Holstein fueron inferiores a los de los adultos en el período entre 60 a 120, y 90 a 120 días de edad, probablemente debido a una tendencia hacia la presentación de cuadros clínicos de anemia microcítica hipocrómica por deficiencia de hierro. Mhory *et al.*, (2007) analizaron indicadores hematológicos y bioquímicos en terneros Holstein en diferentes edades con el objetivo de definir valores de referencia en la región de Mashhad, Irán. Las concentraciones de hemoglobina eran más bajas que el valor de referencia (8-15 gr/dl) hasta el día 56, después se elevaron a niveles comparables a los de bovinos adultos.

El descenso en los valores de Hemoglobina en el período posterior al parto que se conoce como anemia microcítica hipocrómica se ha atribuido a la ingesta de grandes cantidades de leche por los terneros en las primeras semanas de desarrollo, pero que podrían resultar en la deficiencia de hierro debido a los bajos niveles de este mineral en la leche; esta deficiencia se acentúa con una pobre oferta nutricional, cambios fisiológicos asociados a la edad y al consumo del alimento por parte del animal. Heidarpour *et al.*, (2008) manifiestan que una disminución progresiva de hematocrito y hemoglobina se produce en las primeras semanas de vida. Al-Shami, (2007) en un estudio hematológico comparativo sobre los componentes bioquímicos en terneros alimentados exclusivamente con leche y

terneros suplementados de la raza Hassawi (*Bos indicus* x *Bos tauros*) de la región de Arabia Saudí entre las 2 y las 14 semanas de edad, encontró que el promedio de la concentración de hemoglobina (Hb) siguió una tendencia similar dentro los valores de referencia en terneros alimentados exclusivamente con leche, pero, en terneros suplementados (con alfalfa e iniciador) los valores de hemoglobina fueron mayores que en los terneros alimentados exclusivamente con leche. Se considera que no existe una edad universalmente aceptada en la cual se le debe retirar el suministro de leche o lactoreemplazador al ternero y más bien, esto depende del tipo de manejo y explotación. Esta práctica se debe iniciar cuando los terneros alcanzan una tasa de crecimiento aceptable que garantice el consumo de alimento forrajero, heno e iniciador suficiente para asegurar sus requerimientos de mantenimiento y crecimiento (Davis & Drackley, 1998)

Lo anterior, porque en el ternero acontecen cambios fisiológicos asociados a la edad. La gotera esofágica o surco reticular es una estructura anatómica, propia de los terneros, cuya máxima funcionalidad se manifiesta en la etapa de lactante (0 a 4 semanas de edad). El cierre de este surco asegura que los alimentos lácteos (leche, sustituto lácteo o suero reconstituido) se dirijan directamente por el orificio retículo–omasal al abomaso, eludiendo su pasaje por el retículo–rumen para evadir la acción bacteriana del compartimento ruminal y los movimientos del retículo. El reflejo de cierre de la gotera esofágica, propio del lactante, se va perdiendo con el desarrollo de su capacidad como rumiante. La gotera se torna inútil y el cierre reflejo se pierde permitiendo la llegada de los alimentos al rumen y el desarrollo de la actividad microbiana, lo que le permitirá al animal asegurar sus requerimientos de mantenimiento y crecimiento (Pochón, 2002).

Heidarpour *et al.*, (2008) afirma que el requerimiento de hierro en los animales domésticos está influenciado por la edad, la tasa de crecimiento y la disponibilidad de la fuente de hierro en la dieta. También mencionan que las necesidades de hierro de los ruminantes no están bien establecidas y la mayoría de las dosis recomendadas son estimaciones. En general se acepta, que las necesidades de

hierro de los animales jóvenes son más altas que las de los rumiantes maduros y se cree que son alrededor de 100 ppm. Las deficiencias de este mineral ocurren con mayor frecuencia en animales jóvenes porque la leche de vaca es baja en hierro (alrededor de 10 ppm). Las reservas de hierro generalmente son suficientes para prevenir la anemia solo si los terneros son alimentados con una oferta de forraje, heno e iniciador a partir de las pocas semanas de edad. Sin embargo, cuando los terneros son alimentados durante varias semanas con una dieta exclusivamente de leche, se puede desarrollar anemia por deficiencia de hierro, que puede afectar negativamente el crecimiento y la conversión alimenticia (NRC, 2001).

Mhory *et al.*, (2004) reportaron que la cantidad de hierro necesario para satisfacer los niveles normales de hemoglobina, superaron los 100 mg/día y que un incremento adicional en el consumo de hierro no promueve aumentos en la concentración de la misma.

Moosavian *et al.*, (2010) informan que la administración exógena de hierro aumenta los parámetros hematológicos y propician un mejor crecimiento en los terneros.

Rice *et al.*, (1967) evaluaron el efecto del hierro dextran vía parenteral sobre la hemoglobina y hematocrito en terneros para producción de carne (Angus, Hereford y Shorton). En la Universidad de Wyoming, Laramie, Se aplicaron 26,4 mg de hierro dextran por kg de peso corporal concluyendo que la aplicación de hierro exógeno al nacer impide el descenso de hemoglobina y hematocrito y que la aplicación de dextran a los terneros a las 8 semanas de edad aumenta el nivel de hemoglobina y hematocrito en sangre produciendo una respuesta similar a la observada cuando los terneros fueron tratados al nacer. Getty *et al.*, (1968) evaluaron el efecto del hierro sobre los valores hematológicos y el crecimiento en terneros Holstein en el área de Lansing (EU), emplearon tres tratamientos: un grupo control, un suplemento oral de sulfato de hierro (30mg) y 500mg de hierro

dextran intramuscular y concluyeron que en los terneros que recibieron suplemento de hierro, ya sea oral o intramuscular, aumentaron significativamente los niveles de hemoglobina en comparación con los terneros que no recibieron hierro. Los terneros a los que se les aplicó hierro dextran intramuscular registraron un aumento de hemoglobina mayor a los que se les administró el suplemento oral. Se realizó una investigación para determinar si el suplemento de hierro en terneros alimentados con forraje y concentrado podía promover un óptimo desarrollo hematológico y cambios en la bioquímica del hierro en terneros neonatos Holstein en Mashhad, Irán, para esto se suplementaron terneros con 150 mg/día de sulfato ferroso durante 28 días y se estableció un grupo control. El estudio arrojó niveles significativamente altos de hemoglobina (Hb) y hematocrito a los 14, 21 y 28 días en el grupo de terneros que fueron suplementados oralmente, contra el grupo control ( $P < 0,05$ ) (Mhory *et al.*, 2004).

La solubilidad de los compuestos orales de hierro en agua es instantánea en el estómago. La absorción puede variar hasta el 50% dependiendo del estado nutricional de hierro del individuo, la presencia de promotores e inhibidores de absorción del hierro en la comida y el contenido del mismo en la comida. La desventaja de los suplementos orales es que reaccionan fácilmente con otras sustancias que existen naturalmente en la matriz alimentaria, lo que puede causar cambios sensoriales (sabor, color y olor) debido a la oxidación de grasas (rancidez). Así mismo, pueden modificarse las propiedades físicas de alimentos fortificados al precipitarse como complejos de hierro insolubles. Las sales de sulfato ferroso, principal fórmula empleada para la presentación oral, tienen una buena y uniforme biodisponibilidad. Sin embargo, la biodisponibilidad disminuye marcadamente en presencia de inhibidores en la dieta como fitatos, ácido tánico, etc (Vargas *et al.*, 2010). Por tal motivo, la vía parenteral es la mejor forma para suplementar hierro.

Cuando se requiere mayor velocidad en la respuesta, la administración de hierro parenteral es una alternativa efectiva. Es movilizado gradualmente por la vía

linfática y transportado al sistema reticuloendotelial (SER). Una vez el hierro es liberado del dextran en el sistema retículoendotelial (SER), es incorporado en los depósitos tisulares o transportado por la transferrina a la médula ósea. La tasa de liberación es variable. Una porción del hierro procesado estará rápidamente disponible para la médula ósea, otra fracción importante será únicamente incorporada a los depósitos. Tarde o temprano, todo el hierro es eventualmente liberado. Una proporción variable (10- 50%) puede ser fijada localmente en el músculo por varias semanas o meses, especialmente si existe reacción inflamatoria (Vargas *et al.*, 2010)

La homeóstasis del hierro a nivel del organismo se basa tanto en el control de la absorción intestinal del mineral, como de su reciclaje por los macrófagos. La comunicación entre las reservas hepáticas de hierro, los macrófagos y los enterocitos duodenales, esta mediada por la hepcidina. La hepcidina circulante influye directamente en la expresión de la ferroportina en los enterocitos maduros del duodeno, y de ésta forma regula la absorción de hierro en respuesta a los requerimientos corporales del mineral; así el cuerpo puede responder rápida y adecuadamente a los cambios en las demandas de hierro por ajuste de la liberación del metal a partir de los enterocitos duodenales y posiblemente de los macrófagos del sistema retículo endotelial. Este modelo explicaría la regulación de la absorción oral en condiciones normales y de recirculación en casos de alteración en los mecanismos de absorción, por ejemplo en casos de enteritis (Muckenthaler *et al.*, 2008).

Heidarpour *et al.*, (2008) estudiaron en terneros neonatos Holstein los efectos de la suplementación parental con hierro dextran y cobre sobre los parámetros hematológicos. A un grupo de terneros se le administró 1000 mg de hierro dextran al segundo día de nacidos. El valor de la hemoglobina en el grupo control fue de 9.31 g/dl mientras que en el grupo al que se le aplicó dextran fue de 11,45 g/dl. Por otra parte, Moosavian *et al.*, (2010) evaluaron los efectos de la suplementación parental con hierro y vitamina A sobre el componente

hematológico, la bioquímica del hierro, la ganancia de peso y el estado de salud en terneros Holstein, para esto inyectaron 500 mg de hierro vía parenteral a cada ternero entre las 24-48 h de edad. El valor de la hemoglobina en el grupo control fue de 7,75 g/dl mientras que en el grupo al que se le aplicó dextran fue de 9,95 g/dl, proporcionando la administración de hierro un aumento en los valores de hemoglobina y hematocrito en los terneros recién nacidos.

**Tabla 2. Arreglo Factorial Completo al Azar para la Hemoglobina.**

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Cuadrado de la Media</b>	<b>F-Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Raza</b>	<b>2</b>	<b>96.99</b>	<b>22.64</b>	<b>&lt;.0001</b>
TTo	2	6.91	1.61	0.2007
<b>Mes de Muestreo</b>	<b>6</b>	<b>90.25</b>	<b>21.06</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>Raza x Mes de Muestreo</b>	<b>10</b>	<b>52.93</b>	<b>12.35</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>Tto x Mes de Muestreo</b>	<b>12</b>	<b>8.15</b>	<b>1.90</b>	<b>0.0329</b>
Raza x TTo	4	3.58	0.84	0.5031
<b>Raza x Tto x Mes de Muestreo</b>	<b>16</b>	<b>6.65</b>	<b>1.55</b>	<b>0.0799</b>



**Tabla 3. Valores promedio de Hemoglobina y desviación estandar (gr/dl) en cada uno de los meses muestreados en las tres razas estudiadas.**

Mes de Muestreo	Raza		
	Cebú	Hartón del Valle	Holstein
	n =167	n =98	n =131
1	11,84 ± 2,2	10,25 ± 1,6	10,73 ± 2,7
2	14,38 ± 1,6	11,17 ± 1,7	15,91 ± 2,7
3	13,35 ± 2,3	11,12 ± 1,5	10,7 ± 1,8
4	10,24 ± 2,3	10,07 ± 1,4	10,2 ± 1,4
5	13,52 ± 1,9	12,55 ± 2,4	7,23 ± 1,5
6	14,39 ± 2,7	14,1 ± 2,7	8,34 ± 1,7

En la presente investigación los resultados arrojados por el arreglo factorial completo al azar (tabla 2), muestran que existen diferencias estadísticamente significativas entre las tres razas evaluadas en cuanto a nivel de hemoglobina, es decir, que cada raza enfrenta desafíos medioambientales (aporte nutricional, manejo, enfermedades) de una manera diferente para regular su homeostasis y lograr procesos de adaptación al medio que influyen en el nivel de hemoglobina. También se observó efecto significativo del mes de muestreo (época) sobre los niveles de hemoglobina (tabla 3) ya que los factores ambientales no son estáticos y afectan directamente la calidad de las pasturas e indirectamente el estado fisiológico, sanitario y corporal del animal. Existe interacción significativa entre el efecto raza y mes de muestreo (época) sobre los niveles de hemoglobina como se muestra en la tabla 2. La interacción entre el efecto tratamiento y mes de muestreo

influye en el nivel de hemoglobina al igual que la interacción entre el efecto raza por tratamiento por mes de muestreo.

En este trabajo la aplicación parenteral de hierro dextran, siguiendo las recomendaciones clásicas para suplementación de hierro, no provocó aumento en los niveles de hemoglobina en las tres razas estudiadas, probablemente debido a la aplicación de una dosis única durante el periodo experimental y al consumo de forraje mediante el cual los terneros corrigieron el déficit de hierro. La spirulina es conocida por su mayor disponibilidad y absorción oral (Chamorro *et al.*, 2002), sin embargo, tampoco presentó efecto, posiblemente, debido a su eficacia limitada por su palatabilidad, a su disponibilidad real en la suplementación, a su absorción en el intestino y a la aplicación de una dosis única durante el periodo experimental así mismo, a partir del tercer mes los animales inician consumo de forraje verde rico en hierro. Por lo cual, la spirulina no reflejó un aumento en los niveles de hemoglobina comportándose muy similar al grupo control. Tampoco se observó interacción entre el efecto raza y tratamiento en los niveles de hemoglobina, posiblemente debido a la aplicación de una dosis única en los suplementos durante el periodo experimental y al aporte de hierro en la dieta.

## **5.2 HEMATOCRITO**

El promedio de hematocrito registrado en este estudio fue de 38,40 %  $\pm$  7,6 coincidiendo con valores reportados como normales para bovinos (27–45%) (Coppo, 2001), 24–46% (Kaneko *et al.*, 2008; Merck Veterinary Manual, 2008).

Campos *et al.*, (2004) en vacas nativas colombianas reportaron para la raza Hartón del Valle un valor de hematocrito de 34,5%  $\pm$  3,5. En esta investigación, el valor de hematocrito encontrado en terneros Hartón del Valle en fase de cría fue de 34,30 %  $\pm$  6,3 encontrándose dentro del rango de normalidad reportado, como se puede observar en la tabla 1.

Campos *et al.*, (2007) en razas lecheras especializadas en condiciones tropicales en Colombia, reportaron que el valor de hematocrito en vacas Holstein fue de  $25,7\% \pm 2,9$ . Lumsden *et al.*, (1980) determinaron los valores hematológicos y bioquímicos de referencia en terneras Holstein en una población de 172 animales, encontrando que de las 2 semanas a los 6 meses de edad, el rango de hematocrito se encontró entre 23 a 42% y, entre los 6 meses y los 2 años de edad el rango de hematocrito estuvo entre 24 y 48%. En el presente trabajo, el valor de hematocrito reportado para la raza Holstein en terneros durante la fase de cría fue de  $36,41\% \pm 6,9$  concordando con el intervalo de normalidad reportado (ver tabla 1).

Coppo & Mussart (2006) en terneros media sangre cebú (Nellore x Hereford) en fase de crecimiento, el valor de hematocrito fue de  $38,3\% \pm 2,8$  entre 60-75 días de edad y de  $40,3\% \pm 3$  entre 180-195 días de edad. Por otro lado, el valor promedio de hematocrito reportado por Welker *et al.*, (1998) en terneros de raza Nellore (*Bos indicus*) durante el primer mes de vida en el estado de Sao Pablo (Brasil), fue de  $39\% \pm 6$ . En el presente estudio para terneros cebú se encontró un valor de  $42,37\% \pm 6,8$  en fase de cría encontrándose dentro del rango de referencia (ver tabla 1).

Revelo (2005), estudió en Honduras el efecto de la aplicación de 1000 mg de hierro dextran a terneros recién nacidos de las razas Holstein, Jersey y sus cruces durante la fase de crecimiento en las primeras 7 semanas de vida. En terneros Holstein, el valor del hematocrito del grupo control al nacimiento fue de  $37\% \pm 2$  y el valor del hematocrito del grupo de terneros al cual se les aplicó dextran fue de  $34\% \pm 1$ ; a los 42 días de edad, el grupo control presentó un hematocrito de  $33,4\% \pm 2$  y el grupo suplementado presentó un hematocrito de  $39\% \pm 2$  concluyendo que la aplicación de 1000 mg de hierro dextrán incrementó el hematocrito.

Al-Shami, (2007) realizó un estudio hematológico comparativo sobre los componentes bioquímicos en terneros de la raza Hassawi (*Bos indicus* x *Bos*

tauros) de la región de Arabia Saudí, un grupo de animales fueron alimentados exclusivamente con leche y otro fue suplementado (con alfalfa e iniciador) entre las 2 y las 14 semanas de edad, se encontró que el hematocrito estaba dentro de los valores de referencia en terneros alimentados solamente con leche pero los valores de hematocrito en los terneros suplementados fueron mejores en comparación con los terneros alimentados únicamente con leche.

**Tabla 4. Arreglo Factorial Completo al Azar para la Hematocrito.**

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Cuadrado de la Media</b>	<b>F-Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Mes de Muestreo</b>	<b>6</b>	<b>272.52</b>	<b>7.43</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>Raza</b>	<b>2</b>	<b>1919.96</b>	<b>52.32</b>	<b>&lt;.0001</b>
Tratamiento	2	11.54	0.31	0.7303
<b>Raza x Mes de Muestreo</b>	<b>10</b>	<b>123.74</b>	<b>3.37</b>	<b>0.0003</b>
<b>Tto x Mes de Muestreo</b>	<b>12</b>	<b>60.13</b>	<b>1.64</b>	<b>0.0794</b>
<b>Raza x TTo</b>	<b>4</b>	<b>80.78</b>	<b>2.20</b>	<b>0.0685</b>
<b>Raza x Tto x Mes de Muestreo</b>	<b>16</b>	<b>63.61</b>	<b>1.73</b>	<b>0.0392</b>

**Tabla 5. Valores promedio de Hematocrito y desviación estandar (%) en cada uno de los meses muestreados en las tres razas estudiadas.**

Mes de Muestreo	Raza		
	Cebú	Hartón del Valle	Holstein
	n = 167	n = 98	n = 131
<b>1</b>	36,2 ± 6,6	35,8 ± 6,7	33,29 ± 6,2
<b>2</b>	43,9 ± 5,5	39 ± 4,2	41,8 ± 6,4
<b>3</b>	44,8 ± 7,8	33,69 ± 4,7	39,78 ± 6,9
<b>4</b>	40,08 ± 8,1	33,23 ± 6,9	35,95 ± 4,6
<b>5</b>	45,5 ± 6,1	34,04 ± 6,0	32,5 ± 5,1
<b>6</b>	43,79 ± 5,0	34,60 ± 7,9	34,2 ± 6,0

En el presente estudio se encontró que el mes de muestreo como efecto principal, influye significativamente en los valores del hematocrito (tabla 4 y 5). Algunos autores han encontrado que los valores de hematocrito en terneros, disminuyen en el periodo posterior al parto probablemente debido a una tendencia hacia la presentación de cuadros clínicos de anemia microcítica hipocrómica por deficiencia de hierro y según Villouta *et al.*, (1978) factores como raza, condiciones medioambientales y edad afectan los valores hematológicos del bovino. También se observó que la raza como efecto principal (tabla 4), influye significativamente en el valor del hematocrito registrando la raza Cebú el mayor valor, seguida por la raza Holstein y finalmente la raza Hartón de Valle como se puede observar en la tabla 5. Campos *et al.*, (2009) manifiestan que la caracterización hematológica es útil para el monitoreo de adaptación y homeostasis de los animales pero que es

influenciada por la resistencia y pruebas a retos ambientales o sanitarios como también por la edad y las condiciones de manejo. Otras interacciones que afectan el valor del hematocrito son el factor mes de muestreo con el factor tratamiento, el factor raza con el factor tratamiento y la interacción de los factores mes de muestreo con raza y con tratamiento (tabla 4). Si bien el tratamiento como efecto principal no influye en el porcentaje de hematocrito, ya que no se registro diferencia estadística significativa, posiblemente debido a que en cada suplemento durante el periodo experimental se empleo una dosis única y los animales corrigieron el déficit de hierro cuando iniciaron el consumo de forraje verde. Al interactuar el factor tratamiento con el factor mes de muestreo y el factor raza, afectan la concentración del hematocrito ya que este metabolito es seriamente influenciado por condiciones de hidratación, ejercicio y estrés, por tanto tiene amplia variación en cortos periodos de tiempo y su efecto de modificación es de mediano a largo plazo, debido a que la vida media de los eritrocitos es alrededor de 140 días. Por tal motivo, las interacciones entre los factores mencionados anteriormente pueden alterar el porcentaje de hematocrito (Kaneko *et al.*, 2008).

El coeficiente de correlación ( $p < 0,001$ ) entre hemoglobina y hematocrito presenta significancia estadística y el valor de asociación entre estos dos índices eritrocitarios de 0.76, considerado como alto. Sin embargo, se recomienda medir los dos indicadores por la posible variación del hematocrito que nos siempre afecta la hemoglobina. En la presente investigación fue necesario medir hemoglobina y hematocrito por separado ya que el objetivo era evaluar el efecto de los suplementos férricos sobre el metabolismo Hem. La medición de hemoglobina y hematocrito es una herramienta en la evaluación del estado general de salud de un animal.

### 5.3 CONCENTRACION MEDIA DE LA HEMOGLOBINA CORPUSCULAR (CMHC)

La concentración Media de Hemoglobina Corpuscular es el índice que valora la concentración de hemoglobina que lleva cada hematíe. La importancia de la medición de este índice eritrocitario permite el diagnóstico de Hipocromía cuando la hemoglobina está anormalmente diluida dentro del eritrocito, como en la anemia ferropénica (por deficiencia de hierro) (Gimenez, 2003)

Se calcula de la siguiente manera:

$$\text{CMCH} = \text{hemoglobina (gr/100cm}^3\text{)} \times 100 / \text{hematocrito (\%)}$$

El promedio de la concentración media de la hemoglobina corpuscular registrada a lo largo de este estudio fue de 31,62%  $\pm$  4,7 coincidiendo con valores reportados como normales para bovinos (30% -36%) (Merck Veterinary Manual, 2008).

El valor promedio de la concentración media de la hemoglobina corpuscular reportado por Coppo & Mussart (2006) en terneros media sangre cebú (Nellore x Hereford) en crecimiento, fue de 31,6%  $\pm$  1,8 entre 60-75 días de edad y de 34,2%  $\pm$  1,7 entre 180-195 días de edad. Por otro lado, Welker *et al.*, (1998) en terneros de raza Nellore en condiciones tropicales durante el primer mes de vida, encontraron que el valor promedio de la concentración media de la hemoglobina corpuscular fue de 32,80%  $\pm$  1,83. En el presente estudio el promedio de la concentración media de la hemoglobina corpuscular para la raza cebú fue de 31,29 %  $\pm$  4,5 coincidiendo con el rango de normalidad reportado.

El promedio de la concentración media de la hemoglobina corpuscular encontrada en el presente trabajo para la raza Hartón del valle fue de 32,14 %  $\pm$  4,4 encontrándose dentro del rango de normalidad (tabla 1).

Mhory *et al.*, (2007) encontraron en terneros Holstein en diferentes edades que la concentración media de la hemoglobina corpuscular era más bajas que el valor de

referencia (30%-36%) desde el nacimiento hasta el día 28, después se elevó a niveles comparables a los de bovinos adultos hasta el día 84. El promedio de la concentración media de la hemoglobina corpuscular encontrado en el presente estudio para la raza Holstein fue de 31,66 %  $\pm$  5,2, valor que se encuentra dentro del intervalo de normalidad (tabla 1).

Al-Shami, (2007) en terneros de la raza Hassawi (*Bos indicus* x *Bos tauros*) de la región de Arabia Saudí entre las 2 y las 14 semanas de edad, encontró que el promedio de la concentración media de la hemoglobina corpuscular (CMHC) siguió una tendencia similar dentro los valores de referencia en terneros alimentados exclusivamente con leche, pero, en terneros suplementados con alfalfa e iniciador, los valores de CMHC fueron mayores que en los terneros alimentados exclusivamente con leche.

Heidarpour *et al.*, (2008) en terneros neonatos Holstein estudiaron los efectos de la suplementación parental con hierro dextran y cobre sobre los parámetros hemáticos, registrando un valor de la concentración media de hemoglobina corpuscular en el grupo control de 32,34% mientras que en el grupo al que se le aplicó dextran fue de 32,38%. Mhory *et al.*, (2004) determinaron si el suplemento de hierro en terneros alimentados con forraje y concentrado podía promover un óptimo desarrollo hemático y cambios en la bioquímica del hierro en terneros neonatos Holstein en Mashhad, Irán, utilizando un suplemento de 150 mg/día de sulfato ferroso durante 28 días, reportando que la concentración media de la hemoglobina corpuscular fue mayor en el grupo de terneros suplementados que en el grupo control. Moosavian *et al.*, (2010) evaluaron los efectos de la suplementación parental con hierro y vitamina A en terneros Holstein, concluyendo que la administración de hierro no proporcionó un aumento en los valores de la concentración media de la hemoglobina corpuscular en terneros recién nacidos.



**Tabla 6. Arreglo Factorial Completo al Azar para la CMCH.**

Fuente	DF	Cuadrado de la Media	F-Valor	Pr > F
Mes de Muestreo	6	295.86	22.4	<.0001
Raza	2	104.74	7.88	<.0001
Tratamiento	2	32.24	2.42	0.0901
Raza x Mes de Muestreo	10	172.05	12.94	<.0001
Tto x Mes de Muestreo	12	7.34	0.55	0.8795
Raza x TTo	4	4.76	0.36	0.8398
Raza x Tto x Mes de Muestreo	16	17.08	1.28	0.2043

En la presente investigación en los resultados arrojados por el arreglo factorial completo al azar (tabla 6) se observaron diferencias estadísticas en la raza como factor principal en los niveles de la concentración media de la hemoglobina corpuscular presentando el mejor valor la raza Hartón, siendo su adaptación a las condiciones tropicales la principal característica de reconocimiento en los bovinos criollos, seguida de la raza Holstein y la raza Cebú y en el tratamiento como factor principal presentando el mejor valor el grupo control seguido de la Spirulina y el Hierro dextran. La aplicación parenteral de hierro dextran y la suplementación oral de Spirulina no presentó diferencia significativa en los niveles de hemoglobina corpuscular media entre ellos pero si en el grupo control, probablemente debido a

la aplicación de una dosis única de estos suplementos durante el periodo experimental y a la compensación en los niveles de hierro en el organismo del animal mediante el consumo de forraje. Se encontró diferencia estadística significativa ( $p < .0001$ ) entre el mes de muestreo como factor principal y los niveles de la concentración media de la hemoglobina corpuscular demostrando que los factores medioambientales como manejo, nutrición y presencia de enfermedades influyen en este parámetro eritrocitario. También se encontró diferencia estadística significativa ( $p < .0001$ ) en la interacción entre el factor mes de muestreo por el factor raza. No se observaron diferencias significativas en la interacción entre el factor mes de muestreo por el factor tratamiento, al igual que en la interacción entre los factores mes de muestreo por tratamiento y por raza. Tampoco se observó interacción entre los factores raza por tratamiento en la concentración media de la hemoglobina corpuscular. Si bien como factores principales mes de muestreo, tratamiento y raza influyen en la concentración media de la hemoglobina corpuscular, sus interacciones no influyen en la concentración de este parámetro eritrocitario, por lo tanto, se podría suponer que se debe a la dosis única de los suplementos en el periodo experimental y al aporte de hierro en la dieta.

#### **5.4 HIERRO SERICO**

El promedio de Hierro sérico registrado a lo largo de este estudio fue de  $18,70 \pm 11,8 \mu\text{mol/L}$  coincidiendo con valores reportados como normales para bovinos ( $10,2 - 29 \mu\text{mol/L}$ ) (Kaneko et al., 2008).

El valor promedio de hierro sérico reportado por Coppo & Mussart (2006) en terneros media sangre cebú (Nellore x Hereford) en crecimiento, fue de  $10,9 \mu\text{mol/L} \pm 17$  entre 60-75 días de edad y de  $11,2 \mu\text{mol/L} \pm 17$  entre 180-195 días de edad. En el presente estudio el promedio de hierro sérico para la raza cebú fue de  $21 \pm 11,4 \mu\text{mol/L}$  (tabla 1).

El promedio de hierro sérico encontrado en este trabajo para la raza Hartón del valle fue de  $16,96 \pm 10,4 \mu\text{mol/L}$  (tabla1).

Mhory *et al.*, (2007) en terneros Holstein en diferentes edades encontraron que los niveles de hierro sérico aumentaron significativamente desde el nacimiento hasta el día 84, estando dentro de los valores de referencia para el ganado adulto. Este resultado contrasta con los informes de Mhory *et al.*, (2007) que registraron niveles de hierro sérico por debajo del rango normal, debido probablemente a que las cantidades de hierro en el organismo contenido en las reservas y el hierro de la dieta sean responsables de estas diferencias. El promedio de hierro sérico encontrado en esta investigación para la raza Holstein fue de  $18,15 \pm 11,03 \mu\text{mol/L}$  coincidiendo (ver tabla 1).

Mhory *et al.*, (2004) realizaron una investigación para determinar si el suplemento de hierro en terneros alimentados con forraje y concentrado podía promover un óptimo desarrollo hemático y cambios en la bioquímica del hierro en terneros neonatos Holstein en Mashhad, Irán, para esto se suplementaron terneros con 150 mg/día de sulfato ferroso durante 28 días. El estudio arrojó niveles significativamente altos de hierro sérico a los 14, 21 y 28 días en el grupo de terneros que fueron suplementados oralmente, contra el grupo control ( $P < 0,05$ ).

Heidarpour *et al.*, (2008) estudiaron en terneros neonatos Holstein los efectos de la suplementación parental con hierro dextran y cobre sobre los parámetros hematológicos encontrando que la administración de hierro no produjo modificaciones significativas en la concentración de hierro sérico posiblemente debido a que existía un margen de 12 a 13 días de intervalo entre la inyección de hierro y la primera medición de las concentraciones séricas de hierro. Los autores creen que probablemente, en este espacio de tiempo, el hierro fue transferido a tejidos como el hígado o la médula ósea. También reportaron que una reducción progresiva en la concentración sérica de hierro se produce durante los primeros días de vida del ternero. Varios estudios informaron que la administración del

hierro aumenta la concentración de hierro sérico en los terneros (Mhory *et al.*, 2004).

Heidarpour *et al.*, (2008) estudiaron en terneros neonatos Holstein los efectos de la suplementación parental con hierro dextran y cobre sobre los parámetros hemáticos. A un grupo de terneros se le administró 1000 mg de hierro dextran al segundo día de nacidos. El valor de hierro sérico en el grupo control fue de 16,94  $\mu\text{mol/L}$  mientras que en el grupo al que se le aplicó dextran fue de 23,46  $\mu\text{mol/L}$ . también informaron que los cambios en la concentración de hierro sérico en terneros alimentados con sustituto lácteo, heno y mezcla de cereales, mostraron que el 50% de los terneros tuvieron valores subnormales de hierro a las 2 semanas de edad, 10% a las 5 semanas, 20% al destete y consideró que el período más crítico de anemia fue de 3 - 5 semanas de edad.

Moosavian *et al.*, (2010) evaluaron los efectos de la suplementación parental con hierro y vitamina A sobre el componente hemático, la bioquímica del hierro, la ganancia de peso y el estado de salud en terneros Holstein, para esto inyectaron 500 mg de hierro vía parenteral a cada ternero entre las 24-48 h de edad. El valor de hierro sérico en el grupo control fue de 12,93  $\mu\text{mol/L}$  mientras que en el grupo al que se le aplicó dextran fue de 17,99  $\mu\text{mol/L}$  demostrando que la administración de hierro proporcionó un aumento en el valor de hierro sérico en los terneros recién nacidos.

Atayabi *et al.*, (2006) en un estudio sobre las necesidades de suplementos de hierro para el desarrollo normal en terneros Holstein lactantes criados comercialmente encontraron que los niveles de hierro sérico en los terneros disminuyeron significativamente entre las 24 – 48 horas de vida y se incrementaron a los 2 meses de edad concluyendo que los terneros necesitan suplementos de hierro ya que juegan un papel importante en su crecimiento, en la hematopoyesis y en la resistencia a infecciones.

Al-Shami, (2007) en un estudio hematológico comparativo sobre los componentes bioquímicos en terneros alimentados exclusivamente con leche y terneros suplementados de la raza Hassawi (Bos indicus x Bos tauros) de la región de Arabia Saudí entre las 2 y las 14 semanas de edad, encontró que la disminución inicial de la concentración de hierro sérico en los terneros alimentados exclusivamente con leche, tal vez es debida a un aumento en el volumen del plasma asociado con el consumo de gran cantidad de leche en la dieta; la disminución en la concentración de hierro sérico continuó hasta la semana 14. En los terneros suplementados se observó que los valores de hierro sérico aumentaron debido a la ingesta de hierro en el suplemento. Estos hallazgos también sugieren que los terneros criados exclusivamente con leche tienden a ser anémicos como consecuencia de la falta de hierro en esta dieta.

**Tabla 7. Arreglo Factorial Completo al Azar para Hierro Sérico.**

Fuente	DF	Cuadrado de la Media	F-Valor	Pr > F
Mes de Muestreo	6	787.32	7.47	<.0001
Raza	2	850.03	8.06	<.0001
Tratamiento	2	163.49	1.55	0.2136
Raza x Mes de Muestreo	10	714.69	6.78	<.0001
Tto x Mes de Muestreo	12	89.92	0.85	0.5954
Raza x TTo	4	394.79	3.75	0.0054

Raza x Tto x Mes de Muestreo	16	108.57	1.0.	0.4226
------------------------------	----	--------	------	--------

En el presente estudio en el arreglo factorial completo al azar (tabla 7) se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < .0001$ ) en la interacción entre el mes de muestreo como efecto principal y los niveles de hierro sérico, como también en la interacción entre el factor mes de muestreo por el factor raza. Los factores ambientales son dinámicos y no solo afectan la calidad de los forrajes si no también el estado fisiológico del animal. Se observaron también diferencias estadísticas en la interacción de la raza como efecto principal en los niveles de hierro sérico presentando el mejor valor la raza Cebú seguida de la raza Holstein y la raza Hartón, demostrando que cada raza enfrenta de una manera particular desafíos medioambientales (aporte nutricional, manejo, enfermedades) para regular su homeostasis y lograr procesos de adaptación. Se encontraron diferencias estadísticas en la interacción de los factores raza por tratamiento. La concentración de hierro sérico está influenciada por el aporte de las fuentes de hierro involucradas en la dieta; en animales en pastoreo como es el caso de la raza Cebú y Hartón del Valle, el aporte forrajero de hierro depende de las características del suelo y del tipo de manejo que se realiza a la pastura y en los sistemas lecheros especializados como en el caso de la raza Holstein, el consumo de forraje verde empieza cuando los terneros tienen aproximadamente dos meses de edad y está ligado al proceso adaptativo del animal a su nueva dieta.

No se observaron diferencias significativas en la interacción entre el factor tratamiento como efecto principal y los niveles de hierro sérico (tabla 7) ya que la aplicación parenteral de hierro dextran y la suplementación oral de Spirulina durante el periodo experimental comprendió una dosis única y por medio del consumo de forraje los terneros pudieron equilibrar el déficit de hierro. Tampoco se encontraron diferencias significativas en la interacción del factor mes de

muestreo por el factor tratamiento en los niveles de hierro, al igual que en la interacción entre los factores mes de muestreo por tratamiento y por raza. El mes de muestreo y la raza como factores principales influyen en la concentración de hierro sérico pero al interactuar con el factor tratamiento (que como efecto principal no fue significativo en las concentraciones de hierro sérico) puede que en esta interacción haya influido la dosis única de hierro empleada en los suplementos y el aporte de hierro en la dieta.

## 5.5 PROTEINA

El promedio de proteína registrado en este estudio fue de 5,55 gr/dl  $\pm$  0,7 encontrándose por debajo del rango de valores reportados como normales para bovinos (6.74-7.46 gr/dl) (Kaneko *et al.*, 2008) debido posiblemente a un inadecuado ajuste de dieta.

Al analizar el comportamiento de los grupos raciales, se encontraron informaciones para terneros media sangre cebú (Nellore x Hereford) en crecimiento, donde el valor promedio de proteína total fue de 5,73 gr/dl  $\pm$  0,34 entre 60-75 días de edad y de 6,91 gr/dl  $\pm$  0,38 entre 180-195 días de edad, Coppo & Mussart (2006). En el presente estudio para terneros cebú en fase de cría, el valor de proteína total fue de 5,83  $\pm$  0,8 gr/dl (tabla 1).

Campos *et al.*, (2009) caracterizaron las constantes fisiológicas del grupo racial Hartón del Valle en condiciones del valle del cauca, encontrando un promedio de proteína total de 7,50 gr/dl. El promedio de proteína total registrado en esta investigación para terneros de la raza Hartón del Valle en fase de cría fue de 5,50  $\pm$  0,6 gr/dl (ver tabla 1).

Mhory *et al.*, (2007) analizaron indicadores hematológicos y bioquímicos en terneros Holstein en diferentes edades con el objetivo de definir valores de referencia. Las concentraciones de proteína total eran más bajas que el valor de

referencia (6-8 gr/dl) hasta el día 14. Se mantuvieron estables hasta el día 42 y después se elevaron hasta el día 84. El promedio de proteína total registrado para la raza Holstein en la presente investigación fue de  $5,24 \pm 0,6$  gr/dl (ver tabla 1).

Al-Shami et al., (2007), compararon valores hemáticos sobre los componentes bioquímicos en terneros alimentados exclusivamente con leche y terneros suplementados de la raza Hassawi (*Bos indicus* x *Bos tauros*) de la región de Arabia Saudí entre las 2 y las 14 semanas de edad, encontraron que el promedio de la concentración de proteína total siguió una tendencia similar dentro los valores de referencia en terneros alimentados exclusivamente con leche, pero, en terneros suplementados los valores de proteína total fueron mayores que en los terneros alimentados exclusivamente con leche.

Heidarpour et al., (2008) estudiaron en terneros neonatos Holstein los efectos de la suplementación parental con hierro dextran y cobre sobre los parámetros hemáticos. El valor de la proteína en el grupo control fue de 7,00 g/dl mientras que en el grupo al que se le aplicó dextran fue de 6,95 g/dl. En el presente estudio no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, sin embargo, el tratamiento con hierro dextran mostro el mayor valor en proteína total (5,63 gr/dl).

Según Heidarpour et al., (2008) la disminución en los niveles de proteínas totales puede ocurrir por la falta de ingestión de cantidades adecuadas de proteínas en la dieta. Según Campos et al., (2009) un menor valor de proteína sérica se presenta porque existe un mayor requerimiento y gasto proteico para crecimiento.

Según Mhory et al., (2007) existen cambios significativos relacionados con la edad sobre la cantidad de proteínas totales en suero. La cantidad y el momento de la toma de calostro tienen efecto directo sobre la cantidad de proteína total en suero (y globulina) en terneros neonatos. En algunos estudios se han encontrado niveles de globulina por debajo del valor de referencia para el adulto, excepto en el primer



período de muestreo, cuando los valores de proteína total se encuentran dentro del rango de referencia debido a la ingestión de calostro y a la absorción de grandes cantidades de inmunoglobulinas. La disminución de proteína total en suero y la cantidad de globulina después de la primera toma de muestra se ha atribuido a la degradación de las inmunoglobulinas absorbidas en el calostro.

**Tabla 8. Arreglo Factorial Completo al Azar para Proteína Sérica.**

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Cuadrado de la Media</b>	<b>F-Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Mes de Muestreo</b>	<b>6</b>	<b>1.57</b>	<b>3.76</b>	<b>0.0012</b>
<b>Raza</b>	<b>2</b>	<b>11.94</b>	<b>28.40</b>	<b>&lt;.0001</b>
Tratamiento	2	0.11	0.28	0.7542
<b>Raza x Mes de Muestreo</b>	<b>10</b>	<b>2.63</b>	<b>6.27</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>Tto x Mes de Muestreo</b>	<b>12</b>	<b>0.72</b>	<b>1.70</b>	<b>0.0662</b>
<b>Raza x TTo</b>	<b>4</b>	<b>1.38</b>	<b>3.29</b>	<b>0.0115</b>
Raza x Tto x Mes de Muestreo	16	0.61	1.47	0.1093

En el presente estudio en el arreglo factorial completo al azar (tabla 8) se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $p < .0001$ ) para el factor raza como efecto principal, en los niveles de proteína total, presentando los mejores valores la raza cebú seguida de Hartón y Holstein, y en la interacción de los factores raza por mes de muestreo. También se encontraron diferencias estadísticas en la interacción de los factores mes de muestreo por tratamiento y raza por tratamiento, así como para el factor principal mes de muestreo. La síntesis de proteínas plasmáticas puede ser afectada por factores ambientales, nutricionales y enfermedades agudas o crónicas (Rothschild *et al.*, 1988), así como también por una serie de factores fisiológicos como la edad, cambios hormonales y stress (Hyvärinen *et al.*, 1975). Según Campos *et al.*, (2009) los bajos niveles de proteína plasmática pueden sugerir deficiencia en la ingestión de proteína como resultado de la pobre condición nutricional, parasitismo gastrointestinal o hematozoosis, eventos que son comunes en los ecosistema tropicales. En el presente trabajo, por tratarse de animales clínicamente sanos, se considera la baja ingestión de proteína en la dieta como la causa más probable de los bajos niveles de proteína sérica (Campos *et al.*, 2009). Marai *et al.*, (1999) reportaron que la concentración de proteínas séricas totales, se ven disminuidas en aquellas razas que no estén adaptadas a las condiciones medioambientales de su entorno. No se encontró efecto en la interacción del factor tratamiento sobre la concentración de proteína total, esto podría ser porque cada tratamiento se suministro como dosis única y mediante el consumo de forraje los terneros corrigieron la deficiencia de hierro. Si bien el tratamiento como efecto principal no es significativo en los niveles de proteína, al interactuar con mes de muestreo y raza (que como efectos principales influyen en el nivel de proteína) sus interacciones no fueron significativas, puede ser debido a la dosis única de los suplementos en el periodo experimental y el aporte de hierro en la dieta.

## 5.6 CUADRO HEMÁTICO

**Tabla 9. Promedio de los recuentos de la serie blanca y desviación estandar en las tres razas estudiadas. Valores de referencia tomados de Merck Veterinary Manual, (2008).**

Cuadro Hemático	Raza			
	Cebú	Hartón del Valle	Holstein	Valores de Referencia
	n =167	n =98	n =131	
<b>Leucocitos x mm<sup>3</sup></b>	20171,32 ± 7377.12	14721,52 ± 4940.34	11820,03 ± 4549.16	6000-12000
<b>Neutrófilos (%)</b>	28,6 ± 15,25	19,3 ± 14,09	25,2 ± 17,24	15-45
<b>Linfócitos (%)</b>	69,7 ± 15,53	80,5 ± 14,03	74,4 ± 17,42	45-75
<b>Eosinofilos (%)</b>	0,90 ± 1,5	0,21 ± 0,5	0,32 ± 0,61	0-20
<b>Monocitos (%)</b>	0,52 ± 1,4	0,03 ± 0,1	0,22 ± 0,65	2-7
<b>Basofilos (%)</b>	0,01 ± 0,15	0	0	0-2
<b>Plaquetas (miles/mm<sup>3</sup>)</b>	525,000	640,000	620,000	100,000-750,000

Kampen et al., (2006) estudiaron la función de las poblaciones de linfocitos y neutrófilos en terneros desde el nacimiento hasta los 6 meses de edad, concluyendo que estos alcanzaron un nivel estable durante los primeros 6 meses de vida. Además, confirman que algunas de estas poblaciones leucocitarias investigadas en los terneros jóvenes difieren de las que se encuentra en terneros mayores y bovinos adultos, ya que influyen factores relacionados con la edad. Los neutrófilos fueron capaces de brindar una respuesta eficaz desde la primera semana de vida. Tanto las mediciones grupales e individuales de los animales con respecto a neutrófilos y linfocitos alcanzaron niveles estables en el período de investigación, lo que indica un sistema inmune maduro y funcional en terneros jóvenes.

Mhory *et al.*, (2007) analizaron indicadores hematológicos y bioquímicos en terneros Holstein en diferentes edades encontrando que los conteos de glóbulos blancos estuvieron dentro del rango de referencia desde el nacimiento hasta los 84 días de vida. El recuento de neutrófilos fue superior a los valores de referencia en los primeros días y luego regresó a los valores de referencia para adultos. Los valores de linfocitos, eosinófilos y monocitos estaban dentro de los rangos de referencia para el ganado. Mhory *et al.*, (2007) afirman que cuanto más alto es el número de leucocitos y neutrófilos y menor es número de linfocitos del ternero al nacer, se debe a una mayor concentración de cortisol, pues el nivel de esta hormona en el feto aumenta durante los últimos días del embarazo encontrándose alta en el nacimiento y disminuye progresivamente después. Los niveles de plaquetas fueron consistentes con los de los bovinos adultos. Por el contrario, Knowles *et al.*, (2000) y Egli y Blum (1998) citados por Mhory *et al.*, (2007) informaron que las plaquetas se encuentran dentro del rango de referencia en el momento del nacimiento, con una tendencia creciente después de seis días y posteriormente se encuentran dentro del rango referencia. La razón de este aumento del número de plaquetas no es claro.

Coppo & Mussart (2006) en terneros media sangre cebú (Nellore x Hereford) en crecimiento reportaron variaciones ontogénicas debido al desarrollo de la raza a través del tiempo para asegurar su conservación, en terneros sanos de cruce cebú mantenidos en lactación al pie de la madre en pasturan naturales. Entre los dos y los seis meses de edad se observaron aumentos significativos en neutrofilos y eosinofilos. Por el contrario, observaron disminución significativa de leucocitos y linfocitos.

En el presente trabajo los terneros de la raza Cebú y Hartón del Valle muestran un incremento de leucocitos por encima de valores de referencia, es posible que estos animales en pastoreo que se encuentran expuestos a ecto y endo parásitos exhiban una mejor respuesta celular por el desafío permanente en el medio.; la raza Hartón del Valle muestra un incremento de linfocitos por encima del valor de

referencia y en las tres razas estudiadas se encuentran los monocitos por debajo del rango de referencia como se puede observar en la tabla 2. Montejo *et al.*, (2007) afirma que en el recuento de leucocitos pueden presentarse grandes variaciones como consecuencia de cualquier tipo de estrés, ejercicio, alimentación, edad, raza y una gran variedad de otras condiciones como la sujeción en el momento de la toma de la muestra. Por tanto, los recuentos totales de leucocitos, para que sean significativos clínicamente, deben desviarse considerablemente de los valores normales para que se puedan valorar como un proceso de enfermedad. Las desviaciones del recuento leucocitario de los parámetros normales encontrados en esta investigación, no son considerables, por lo tanto, no se valoran como un proceso clínico de enfermedad si no que se atribuyen a factores de estrés y ejercicio debido a la sujeción en el momento de la toma de la muestra.

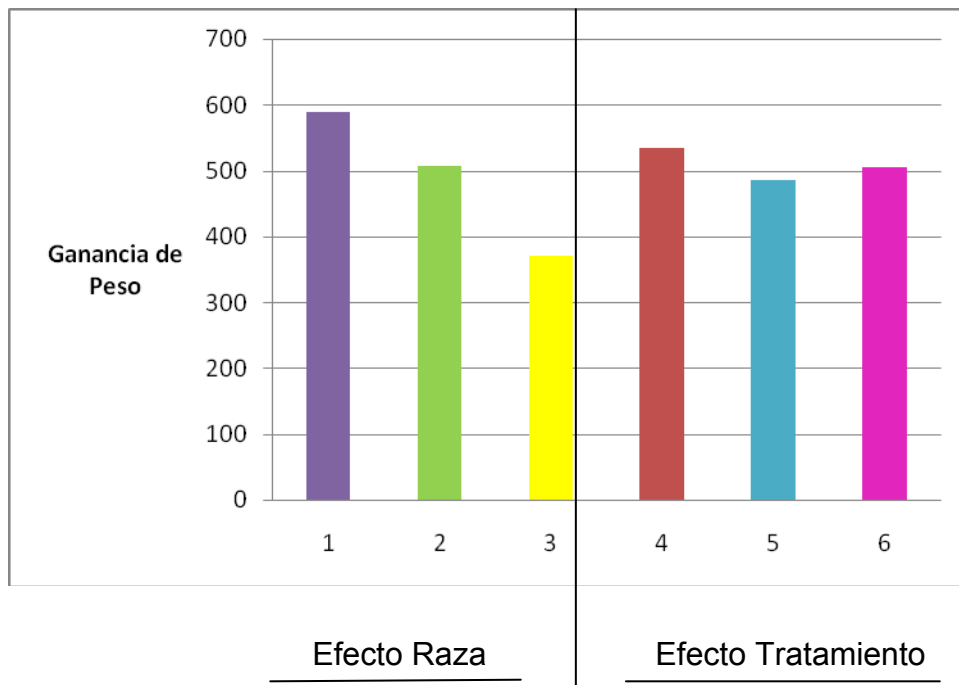
En algunos extendidos se observó la presencia de decoloración marcada en la región central del eritrocito o hipocromía, siendo la causa más común de ésta, la posible deficiencia de hierro ya sea de tipo clínico –deshidratación- o de origen nutricional (Páez *et al.*, 2009).

En la presente investigación todos los animales estuvieron sanos y no se presentaron bajas y aunque el sistema de manejo en las explotaciones en las que se realizó la experimentación aparentemente garantiza una prevención adecuada, el cuadro hemático constituye una prueba de detección básica que puede informar oportunamente de cuadros sospechosos de deficiencia de hierro.

## 5.7 GANANCIA DE PESO

La ganancia de peso, constituye un indicador zootécnico de importancia en animales en crecimiento, y es en la práctica la única forma de evaluar el rendimiento, el efecto materno y la eficiencia nutricional.

El promedio de ganancia de peso en el presente estudio fue de  $509 \pm 0,40$  g/d. A lo largo de los seis meses de muestreo en las tres razas se pudieron observar ganancias de peso negativas (o pérdidas de peso) y casos en donde no se ganó peso entre un mes y otro, esto muestra en forma clara, los severos desajustes en el manejo nutricional durante la fase de cría. El arreglo factorial completo al azar muestra diferencias estadísticas significativas entre los factores principales (raza, mes de muestreo y tratamiento) y la interacción entre ellos (mes de muestreo por tratamiento, raza por tratamiento, mes de muestreo por raza y raza por tratamiento por mes de muestreo) donde el tipo de manejo, la dosificación única en los suplementos durante el periodo experimental, la dieta y las restricciones nutricionales en las mismas, el aporte forrajero, el medio ambiente y el efecto materno influyen en las ganancias de peso y en el crecimiento y desarrollo de los terneros, haciendo imposible verificar si la ganancia diaria de peso depende de un factor único, o como al parecer realmente sucede, siendo el reflejo de las interacciones de varios de ellos.



**Figura. 4 Efecto de la Raza (1: Cebú, 2: Holstein, 3: Hartón del Valle) y Efecto Tratamiento (4: Hierro Dextran, 5: Spirulina, 3: Control) sobre la ganancia de peso.**

En las tres razas estudiadas se presentaron diferencias con respecto a los valores de ganancia de peso como se puede observar en la figura 4, registrando el mejor valor la raza Cebú (590 g/d) posiblemente debido al efecto materno y al sistema de cría. El segundo lugar, la raza Holstein (507 g/d) de quien se esperaría la mayor ganancia debido al consumo de iniciador, lo que sugiere un inadecuado ajuste de la dieta y finalmente la raza Hartón (370 g/d) que aunque los terneros permanecen casi cerca de 12 horas con la madre, el bajo peso al nacimiento y las evidentes dificultades en el manejo y en la calidad de la oferta nutricional, ocasionan esta baja ganancia diaria de peso.

Con respecto a los tratamientos se presentaron diferencias estadísticas como se observa en el grafico 3. La aplicación parenteral de 500 mg hierro dextran arrojó una ganancia de peso de 535 g/d, seguida por el grupo control con 506 g/d y finalmente el suplemento oral de 100 mg Spirulina con 485 g/d. La Spirulina no fue efectiva, posiblemente, debido a su eficacia limitada disponibilidad real en la

suplementación por su palatabilidad, a su baja absorción en el intestino y a la aplicación de una dosis única mensual durante el periodo experimental. Además, la absorción en los compuestos orales puede variar hasta el 50% dependiendo del estado nutricional del individuo, la presencia de promotores e inhibidores de absorción del hierro en la comida y el contenido del mismo en la comida y su desventaja, es que reaccionan fácilmente con otras sustancias que existen naturalmente en la matriz alimentaria, lo que puede causar cambios sensoriales.



En la presente investigación el promedio general de los metabolitos medidos (Hemoglobina, Hematocrito, Concentración media de la Hemoglobina Corpuscular y Hierro Sérico) se encontraron dentro del rango de valores reportado como normales para bovinos. En algunos extendidos se observó la presencia de decoloración marcada en la región central del eritrocito o hipocromía, siendo la causa más común de ésta, la posible deficiencia de hierro. Se encontraron valores de Hierro Sérico por fuera del rango de valores reportados como normales en algunos meses de muestreo en las tres razas estudiadas, sin embargo, dentro del experimento la desviación estándar y la mediana demuestran que los valores están dentro de la distribución normal. El promedio general de proteína total registrado se encontró por debajo del rango de valores reportados como normales para bovinos debido posiblemente a un inadecuado ajuste de dieta.

Los resultados arrojados en el análisis estadístico del arreglo factorial completo al azar, muestran que existen diferencias significativas entre las tres razas evaluadas (Cebú, Hartón del Valle y Hostein) en cuanto a los metabolitos medidos (Hemoglobina, Hematocrito, Concentración media de la Hemoglobina Corpuscular, Hierro Sérico y Proteína Total) debido a que cada raza enfrenta desafíos medioambientales (aporte nutricional, manejo, enfermedades) de una manera diferente para regular su homeostasis y lograr procesos de adaptación al medio. También se observó efecto significativo del mes de muestreo (época) sobre los metabolitos evaluados, ya que los factores ambientales no son estáticos y no solo afectan la calidad de las pasturas si no también el estado fisiológico y sanitario del animal. La interacción del factor mes de muestreo con el factor raza mostraron diferencias estadísticas en los valores de los metabolitos analizados debido a que los bovinos presentan modificaciones temporales en sus constantes hemáticas y del metabolismo Hem, y se cree que estas modificaciones expliquen los procesos adaptativos cuando los terneros se enfrentan a desafíos medioambientales que incluyen bajo aporte nutricional en la dieta, especialmente por parte de los forrajes, frente a elevados requerimientos para homeostasis y retos de ecto y endo

parásitos que pueden disminuir los niveles hemáticos y los metabolitos que hacen parte del metabolismo del hierro. El factor tratamiento como efecto principal mostró diferencias estadísticas solamente en los valores de la concentración media de hemoglobina corpuscular en el grupo control. En las tres razas estudiadas la aplicación parenteral de hierro dextran no provocó aumento en los niveles de los metabolitos medidos, probablemente debido a la aplicación mensual de una dosis única (500 mg), así mismo, la spirulina que es conocida por su mayor disponibilidad y absorción oral, tampoco presentó efecto estadístico, posiblemente, debido a su limitada eficacia por su palatabilidad, disponibilidad real en la suplementación, absorción en el intestino y a la aplicación de una dosis única mensual (100 mg) durante el periodo experimental.

En las interacciones simples y múltiples entre los factores raza, tratamiento, mes de muestreo por tratamiento, se pudo observar en algunos casos efecto de los componentes principales, sobre las concentraciones de los metabolitos medidos; en otros casos, el efecto encontrado no fue evidente debido al cruzado de las variables que pueden enmascarar o potencializar la relación entre los efectos principales analizados.

El recuento celular mostró 16059,96 leucocitos, entre los cuales el mayor porcentaje correspondió a linfocitos, seguidos por neutrófilos y monocitos. La raza Cebú y Hartón del Valle muestran un incremento de leucocitos por encima de valores de referencia es posible que estos animales en pastoreo que se encuentran expuestos a ecto y endo parásitos exhiban una mejor respuesta celular por el desafío permanente en el medio. La raza Hartón del Valle mostró un incremento de linfocitos por encima del valor de referencia; en las tres razas estudiadas los monocitos se encuentran por debajo del rango de referencia. El recuento plaquetario se encontró dentro del rango de normalidad para bovinos. Las desviaciones estándar del recuento leucocitario de los parámetros en esta investigación, no son considerables, por lo tanto, se considera como proceso

clínicamente normal y sus variaciones se atribuyen a factores de estrés y esfuerzo debido a la sujeción en el momento de la toma de la muestra.

Finalmente el experimento en su conjunto mostro que el promedio de ganancia de peso en el presente estudio fue de  $509 \pm 0,40$  g/d. El arreglo factorial completo al azar muestra diferencias estadísticas significativas entre los factores principales (raza, mes de muestreo y tratamiento) y la interacción entre ellos (mes de muestreo por tratamiento, raza por tratamiento, mes de muestreo por raza y raza por tratamiento por mes de muestreo). En las tres razas estudiadas se presentaron diferencias con respecto a los valores de ganancia de peso registrando el mejor valor la raza Cebú (590 g/d) seguido de la raza Holstein (507 g/d) y finalmente la raza Hartón (370 g/d). Con respecto a los tratamientos se presentaron diferencias estadísticas. La aplicación parenteral de 500 mg hierro dextran arrojó una ganancia de peso de 535 g/d, seguida por el grupo control con 506 g/d y finalmente el suplemento oral de 100 mg Spirulina con 485 g/d.

## 6. CONCLUSIONES

En la presente investigación, el promedio general de los metabolitos medidos (Hemoglobina, Hematocrito, Concentración media de la Hemoglobina Corpuscular y Hierro Sérico) se encontraron dentro del rango de valores reportado como normales para bovinos. En las tres razas estudiadas (Cebú, Hartón del Valle y Hostein) se observó descenso en los valores Hemáticos y en los metabolitos que comprenden el metabolismo del hierro en el período posterior al parto.

La presencia de hipocromía en algunos extendidos analizados indican deficiencia de hierro ya sea de tipo clínico –deshidratación- o de origen nutricional, situación que es comprobada por el bajo nivel de proteína total ya que revela algún grado de deficiencia de consumo proteico posiblemente debido a un inadecuado ajuste de dieta.

La aplicación parenteral de hierro dextran y la suplementación oral de Spirulina no provocaron aumento en los niveles de los metabolitos medidos, probablemente debido a la aplicación de una dosis única. Por tal motivo, se recomienda que la suplementación sea dosificada mensualmente de acuerdo al peso del animal para asegurar el requerimiento férrico necesario y así evitar el déficit e incrementar los niveles hemáticos, dado que los requerimientos se basan en peso corporal y esta varía en el transcurso del tiempo en animales en crecimiento.

En el presente trabajo se encontró que la ganancia de peso depende de los factores principales (raza, mes de muestreo y tratamiento) y de la interacción entre ellos (mes de muestreo por tratamiento, raza por tratamiento, mes de muestreo por raza y raza por tratamiento por mes de muestreo) haciendo imposible verificar si la ganancia diaria de peso depende de un factor único, o como al parecer realmente sucede, siendo el reflejo de las interacciones de varios de ellos.

Los valores de metabolitos sanguíneos reportados por el presente trabajo para terneros en fase de cría en la raza Hartón del valle, constituyen una referencia para estudios de adaptación fisiológica de esta raza nativa bovina bajo condiciones tropicales colombianas.

## BIBLIOGRAFIA

- Acosta, O.; Waugh, R. 1964. Efectos del hierro por vía intramuscular sobre el contenido de hemoglobina en la sangre y el crecimiento de los terneros
- Andrews, N. 2008. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blodd*. V. 112, n.12.
- Andrews, N.; Schmidt, P. 2007. Iron Homeostasis. *Annual Review of Physiology*. Vol. 69: 69-85.
- Agricultural Research Council (ARC). 1980. *The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock*. Farmhands Royal, Slough, England: Commonwealth Agricultural Bureaux. 400p.
- Al-Shami, S. 2007. Comparative Study of Heamatological and Blood Biochemical Components in Milk-Fed and Conventionally-reared Hassawi Breed Calves. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)* Vol. 8 No. 2.
- Atyabi, N.; Gharagozloo, F.; Nassiri, S. 2006. The necessity of iron supplementation for normal development of commercially reared suckling calves. *Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medecine, University of Tehran. Comp Clin Pathol* 15:165–168.
- Campos, R.; Carreño, E.; González, F. 2004. Perfil Metabólico en Vacas Nativas Colombianas. *Orinoquia*. Vol. 8. No 002. 32-41 p.
- Campos, R.; Pineda, M.E.; Giraldo, L. 2009. Indicadores Fisiológicos en Bovinos Criollos Hartón del Valle en condiciones del Valle del Cauca. X Sinposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos zoogeneticos. 171-174 p.
- Coppo, J.A. 2001. *Fisiología comparada del medio interno*, Ed. Dunken, Buenos Aires, p. 191–199 y 289–290.

- Coppo, J.; Mussart, N. 2006. Evolución de parámetros hemáticos de terneros media sangre cebú en crecimiento. *Agrotecnia*, n.16.
- Chamorro, G.; Salazar, M.; Gomes, K.; Pereira, C.; Ceballo, G.; Castillo, L. 2002. Actualización en la farmacología de Spirulina (*Arthrospira*), un alimento no convencional. *ALAN*, vol.52, no.3, p.232-240. ISSN 0004-0622.
- Chua, C.G.; Graham, R.M.; Trinder, D.; Olynyk, J.K. 2007. The regulation of cellular iron metabolism. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 44(5-6):413-459.
- Cseh, S.; Ridao, M.; San Martino, S.; Drake, M.; Yarrar, M. 1998. Valores serológicos de hierro y zinc en distintas categorías de bovinos hembra. *Vet. Méx.* 29 (1): 23 – 27.
- Davis, C.L.; Drackley, J.M. 1998. The development nutrition and management of the young calf. Iowa State University Press. 339 p.
- Forrellat, M.; Fernández, N.; Hernández, P. 2005. Nuevos conocimientos sobre el metabolismo del hierro. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* vol.21, n.3.
- Gaitán, Diego.; Olivares, M.; Arredondo, M.; Pizarro, F. 2006. Biodisponibilidad del hierro en humanos. *Rev chil nutr.* vol.33, n.2, pp. 142-148.
- Galy, B.; Ferring-Appel, D.; Kaden, S.; Grone, H.J.; Hentze, M.W. 2008. Iron regulatory proteins are essential for intestinal function and control key iron absorption molecules in the duodenum. *Cell Metab.* V.7:79-85.
- Ganz, T. 2008. Iron Homeostasis: Fitting the Puzzle Pieces Together. *Cell Metabolism Minireview.* Elsevier Inc.
- Getty, S. M.; Beck, C. C.; Brown, L. D.; Connor, G. H.; Ellis, D. J.; Miller, E. R. 1968. Effect of Iron on Hematology and Growth of Calves. *J Anim Sci.* 27:712-717.

- Gimenez, N. 2003. Estudio del metabolismo del hierro en lactantes de una zona de alta y permanente transmisión de malaria. Universidad de Barcelona. Facultad de Medicina.
- Heidarpour, M.; Mohri, M.; Seifi, H.; Alavi, A. 2008. Effects of parenteral supply of iron and copper on hematology, weight gain, and health in neonatal dairy calves. *Vet Res Commun* 32:553–561.
- Hyvärinen, H.; Helle, T.; Vayrynen, R.; Vayrynen, P. 1975. Seasonal and Nutritional Effects on Serum Proteins and Urea Concentration in the Reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*). *Br. J. Nutr.* 33(1): 63-72
- Hostettler-Allen, R.; Tappy, L.; Blum, J. 1993. Enhanced Insulin-Dependent Glucose Utilization in Iron-Deficient Veal Calves. *J. of Nutrition*.
- Kampen, A.; Olsen, I.; Tollersrud, T.; a, Storset, A.; Lund, A. 2006. Lymphocyte subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113: 53–63p.
- Kaneko, J.; Harvey, J.; Bruss, M. 2008. *Clinical biochemistry of domestic Animals*, 6.ed. San Diego: Academic Press, 916p.
- Keel, S.; Abkowitz, J. 2009. The Microcytic Red Cell and the Anemia of Inflammation. *N Engl J Med.* 361(19):1904-6.
- King, M. 2010. Metabolismo del Hierro. <http://themedicalbiochemistrypage.org/spanish/heme-porphyrin-sp.html>. 24/09/10.
- Kozat, S.; Yükek, M.; Goz, Y.; Keles, I. 2006. Serum Iron, Total Iron-Binding Capacity, Unbound Iron-Binding Capacity, Transferrin Saturation, Serum Copper, and Hematological Parameters in Pregnant Akkaraman Ewes Infected with Gastro-Intestinal Parasites. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*30: 601-604.



- Kume, S.; Tanabe, S. 1994. Effect of Twinning and Supplemental Iron-saturated Lactoferrin on Iron Status of Newborn Calves. *J. Dairy Sci.* 77:3118-3123.
- Kume, S.; Toharmat, T.; Kobayashi, N. 1998. Effect of Restricted Feed Intake of Dams and Heat Stress on Mineral Status of Newborn Calves. *J. Dairy Sci* 81:1581–1590.
- Lumsden, J.; Mullen, K.; Rowe, R. 1980. Hematology and Biochemistry Reference Values for Female Holstein Cattle. *Can. J. comp. Med.* 44: 24-31.
- Marai, A.F.; Habeeb, A.A.; Farghaly, H.M. 1999. Productive, Physiological and Biochemical Changes in Imported and Locally Born Friesian and Holstein Lactating Cows under Hot Summer Condition of Egypt. *Trop. Anim. Health. Prod.* 31(4): 233-243.
- Merck Veterinary Manual, 2008. <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp>. 14/08/2010.
- Miltenburg, G.A.J.; Wensing, J.P.M.; Vliet, V.; Schuij, G.; Broe, J., Breukink, H.J. 1991. Blood Hemoglobin, Plasma Iron, and Tissue Iron in Dams in Late Gestation, at Calving, and in Veal Calves at Delivery and Later. *J. Dairy Sci.* 74:308 – 3094.
- Moosavian, H.; Mohri, M.; Seifi, H. 2010. Effects of parenteral over-supplementation of vitamin A and iron on hematology, iron biochemistry, weight gain, and health of neonatal dairy calves. *Food and Chemical Toxicology* 48 1316–1320.
- Mohri, M.; Sarrafzadeh, F.; Seifi, H.A.; Farzaneh, N. 2004. Effects of oral iron supplementation on some haematological parameters and iron biochemistry in neonatal dairy calves. *Comparative Clinical Pathology*; 13: 39–42 p.
- Mohri, M.; Sharifi, K.; Eidi, S. 2007. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. *Research in Veterinary Science* 83. p30–39.

- Montejo, E.; Martínez, O.; Pérez, F.; Mendoza, O.; Duvergel, J.; Ramirez, W.; Sosa, W. 2007. Reacción leucocitaria ante el estrés nutricional provocado por la sequía en bovino. Facultad de Medicina Veterinaria. Univerdad de Granma. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria. Volumen VIII Número 6. 1695-7504 p. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>. 12/09/2010.
- Muckenthaler, M.; Galy, B.; Hentze, M. 2008. Systemic Iron Homeostasis and the Iron-Responsive Element/Iron-Regulatory Protein (IRE/IRP) Regulatory Network. *Annu. Rev. Nutr.* No 28:197–213.
- NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. National Academy of Science. National Research Council. Washington; DC. U.S.A. 405p.
- Paez, P.; Campos, R.; Giraldo, L.; Hernández, E. 2009. Dinámica hemática en terneros Holstein Friesian en sistemas semiintensivos en condiciones de trópico bajo. *Revista Latinoamericana de Ciencias Pecuarias.* 22 (3): 440.
- Pérez, G.; Vittori, D.; Pregi, N.; Carbossa, G.; Nesse, A. 2005. Homeostasis del hierro. Mecanismos de absorción, captación celular y regulación. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.* 39 (3):301-14.
- Pochon, D. O. 2002. Surco reticular de los rumiantes. Revisión bibliográfica. *Rev. Vet.* 12/13: 1-2 p. 34-44.
- Quigley, J. 2007. Microbial Protein Síntesis in the rumen. *Calf Notes* No 31. <http://Calf Notes.com>.
- Reddy, C.M.; Kathula, S.K.;Walsh, M.2008. Safety and Efficacy of Total Dose Infusion of Iron Dextran in Iron Deficiency Anaemia. *International Journal of Clinical Practice* 62(3):413-415.
- Revelo, X. 2005. Efecto de la aplicación de Hierro Dextrán a terneros recién nacidos Holstein, Jersey y sus cruces sobre su crecimiento en las primeras siete semanas de vida. Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura Zamorano, Honduras. 26 p.

- Rice, R.; Nelms, G.; Schoonover, C. 1967. Effect of Injectable Iron on Blood Hematocrit and Hemoglobin and Weaning Weight of Beef Calves. *J Anim Sci.* 26:613-617.
- Rothschild, M.A.; Oratz, M.; Schreiber, S.S. 1988. Serum albumin. *Hepatology.* 8(2): 385-401.
- Sheng Zhang, A.; Enns, C. 2009. Molecular mechanisms of normal iron homeostasis. American Society of Hematology.
- Solá, J. 2010. Bioinorganica del hierro en el ser humano. <http://www.heurema.com/TFQ/TFQ19-Fe1/TFQ19-Fe1.pdf>.
- Torres de Campos, A.; ávila, M de J.; Verneque, R da S.; Campos, A.T.; Santos, D. 2001. Pronóstico de declínio na produção de leite em função do clima para a região de Goiânia. p.11-13. *In: Reunião Annual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38. Anais*
- Undewood, E.J.; Suttle, N.F. 2003. Los Minerales en la Nutrición del Ganado. 3<sup>nd</sup>. Ed. Acribia. Zaragoza. España. 637p.
- Vargas, J.; Rincon, D.; Perez, H.; Canaval, H.2010. Farmacología del Hierro. <http://www.awgla.com/publicaciones/descargas/FarmacologiaDelHierro.pdf>. 12/08/2010.
- Villouta, G.; Rubio, T. 1978. Valores Hematológicos en terneros Holstein Friesian. *Arch. Vet. Med.* 10(1): 22-26 p.
- Volker H.; Rotermund L. 2000. Possibilities of oral iron supplementation for maintaining health status in calves. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 107:16–22.
- Vyoral, D.; Petrák, J. 2005. Hpcidin: A direct link between iron metabolism and immunity. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* No37. p.1768–1773.
- Welker, A.; Terezinha, S.; Kohayagawa, A.; Kiomi, R.; De alencar, X. 1998. Hemogram of healthy Nerole breed (*Bos indicus*) calf at the first month of

life, raised in Sao Pablo State, Brazil. Ciencia rural, Santa Maria, v.28, n.2, p. 251-256.