



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**INCORPORACIÓN DE HIERRO AL ERITROCITO DEL
CONEJO Y DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN
DE HIERRO EN DISTINTOS CORTES DE CARNE**

CAMILA SCHMIEDE BENNETT

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

PROFESOR GUÍA: FERNANDO PIZARRO AGUIRRE

SANTIAGO, CHILE

2007



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



INCORPORACIÓN DE HIERRO AL ERITROCITO DEL CONEJO Y DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION DE HIERRO EN DISTINTOS CORTES DE CARNE

CAMILA SCHMIEDE BENNETT

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA: FERNANDO PIZARRO A.
PROFESOR CONSEJERO: MARIA SOL MORALES S.
PROFESOR CONSEJERO: ANA MARIA RAMIREZ K.

SANTIAGO, CHILE
2006

SUMMARY

Iron metabolism in the domestic rabbit was characterized using an iron radioactive isotope as tracer. Two experiments were performed: experiment 1 for measuring speed and rate of erythrocyte incorporation of iron after an intravenous injection of ^{55}Fe ; and experiment 2 for measuring iron, copper and zinc level in 3 rabbit meat cuts (hand, back, and thigh) and some viscera (brain, lungs, kidneys, liver and spleen), and for determining hemic iron (Fe-hem) and non-hemic iron (inorganic) ration, and also the distribution of an ^{55}Fe isotopic tracer in the same cuts.

In order to measure radioactivity in blood, meat and viscera in both experiments, samples were processed using the double isotopic technique of Eakins and Brown (1966) and assessed in a liquid-sparkling counter. The evaluation of iron (Fe), copper (Cu) and zinc (Zn) content in meat and viscera was performed by humid digestion. Then, samples were analyzed using an atomic absorption spectrophotometer (SAA)

The determination of non-hem Fe was performed by digestion with hydrochloride acid and samples were analyzed by SAA in a graphite oven. The level of hem-Fe was calculated based on the difference between total iron and non-hem Fe content.

The highest iron incorporation level into erythrocyte occurred on day 14 after the injection and the highest rate of ^{55}Fe incorporated was 69.7%.

Total iron contents were: $0.99\pm 0.2\text{mg}/100\text{g}$ of hand meat, $0.83\pm 0.24\text{mg}/100\text{g}$ of thigh meat and $0.66\pm 0.13\text{mg}/100\text{g}$ of back meat. The highest level of iron in viscera was measured in spleen ($82.8\pm 9.2\text{mg}/100\text{g}$), followed by liver ($18.2\pm 4.4\text{mg}/100\text{g}$).

Zinc content measured was: $1.33\pm 0.12\text{mg}/100\text{g}$ of hand meat, $0.91\pm 0.17\text{mg}/100\text{g}$ of thigh meat and $0.61\pm 0.04\text{mg}/100\text{g}$ of back meat.

Copper content measured was: $0.08\pm 0.02\text{mg}/100\text{g}$ of hand meat, $0.08\pm 0.02\text{mg}/100\text{g}$ of thigh meat and $0.07\pm 0.02\text{mg}/100\text{g}$ of back meat. The highest level of Zn in viscera was measured in spleen ($3.49\pm 0.63\text{mg}/100\text{g}$) and the highest level of copper in viscera was measured in liver ($3.85\pm 2.89\text{mg}/100\text{g}$).

Hem-Fe level was greatly higher than non-hem Fe level, more than 65% of total Fe was found in meat cuts and 50%-90% in viscera.

The average Fe content in rabbit meat is $0.83\pm 0.16\text{mg}/100\text{g}$, i.e. $0.56\pm 0.11\text{mg}/100\text{g}$ of hem-Fe and $0.27\pm 0.05\text{mg}/100\text{g}$ of non-hem Fe.

Cu content is $0.08\pm 0.01\text{mg}/100\text{g}$ and Zn content is $0.95\pm 0.35\text{mg}/100\text{g}$.

The highest content of isotopes in viscera was found in spleen. The highest content of isotopes in cuts was found in hand, followed by thigh and, lastly back.

RESUMEN

Se caracterizó el metabolismo del hierro en el conejo doméstico utilizando como trazador un isótopo radioactivo de hierro. Se realizaron dos experimentos: el experimento 1 para determinar la velocidad y porcentaje de hierro incorporado al eritrocito posterior a una inyección endovenosa de ^{55}Fe . El experimento 2 consistió en determinar el contenido de hierro, cobre y zinc en 3 cortes de carne de conejo (mano, lomo y muslo) y algunos otros tejidos y vísceras (cerebro, pulmones, riñones, hígado y bazo), junto con determinar la proporción de hierro-hemínico (Fe-hem) y hierro no-hemínico o inorgánico (Fe no-hem), además de la distribución de una marca isotópica de ^{55}Fe en los mismos cortes.

Para medir la radioactividad en la sangre, carne y tejidos de ambos experimentos se procesaron las muestras según la técnica doble isotópica de Eakins y Brown (1966), y fueron leídas en un contador de centelleo líquido. Para evaluar el contenido de hierro (Fe), cobre (Cu) y zinc (Zn) en carne y vísceras se realizó una digestión húmeda, posteriormente las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro de absorción atómica (EAA).

Para la determinación de Fe no-hem se realizó una digestión con ácido clorhídrico y las muestras fueron leídas en EEA de horno grafito. La cantidad de Fe-hem se obtuvo por diferencia entre el hierro total y el Fe no-hem.

La máxima incorporación de hierro al eritrocito se produjo el día 14 post-inyección y el porcentaje máximo de ^{55}Fe incorporado fue 69,7%.

Los contenidos de hierro total fueron: $0,99\pm 0,2\text{mg}/100\text{g}$ de carne en la mano, $0,83\pm 0,24\text{mg}/100\text{g}$ en el muslo y $0,66\pm 0,13\text{mg}/100\text{g}$ en el lomo. El bazo fue la víscera en la que se encontró mayor cantidad de hierro, con $82,8\pm 9,2\text{mg}/100\text{g}$, seguido por el hígado con $18,2\pm 4,4\text{mg}/100\text{g}$.

El contenido de Zinc fue: $1,33\pm 0,12\text{mg}/100\text{g}$ de carne en la mano, $0,91\pm 0,17\text{mg}/100\text{g}$ en el muslo y $0,61\pm 0,04\text{mg}/100\text{g}$ en el lomo. La cantidad de cobre fue: $0,08\pm 0,02\text{mg}/100\text{g}$ de carne en la mano, $0,08\pm 0,02\text{mg}/100\text{g}$ en el muslo y $0,07\pm 0,02\text{mg}/100\text{g}$ en el lomo. La víscera que tuvo mayor cantidad de Zn fue el bazo con $3,49\pm 0,63\text{mg}/100\text{g}$ y la que tuvo más Cu fue el hígado con $3,85\pm 2,89\text{mg}/100\text{g}$.

La cantidad de Fe-hem superó ampliamente a la de Fe no-hem, siendo más de 65% del Fe total en los cortes de carne y entre 50% y 90% del Fe total en vísceras.

El contenido de Fe promedio de la carne de conejo es $0,83 \pm 0,16 \text{ mg/100g}$, correspondiendo a Fe-hem $0,56 \pm 0,11 \text{ mg/100g}$ y a Fe no-hem $0,27 \pm 0,05 \text{ mg/100g}$.

El contenido de Cu es $0,08 \pm 0,01 \text{ mg/100g}$ y el de Zn $0,95 \pm 0,35 \text{ mg/100g}$.

La mayor cantidad de isótopos se encontró en el bazo. La mano fue el corte en que se encontró mayor cantidad de isótopos, seguido por el muslo y por último el lomo.

INDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA:	
➤ El conejo domestico (<i>Oryctolagus cuniculu</i>	2
➤ Hierro.....	5
➤ Métodos isotópicos.....	7
➤ Cunicultura en Chile.....	8
OBJETIVO GENERAL.....	11
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	11
MATERIAL Y METODOS.....	12
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	34
ANEXO 1.....	35
BIBLIOGRAFÍA.....	38

INTRODUCCION

En los últimos tiempos, en Chile, ha aumentado significativamente el consumo de productos cárneos debido a un incremento en los ingresos de la población. Debido a este factor también se han diversificado las especies animales destinadas a consumo. Es así como, desde alrededor de 15 años se empezó a desarrollar la cunicultura de carne en Chile. Sin embargo, la carne de conejo aun no ha logrado niveles de consumo que permitan afianzar la industria en este rubro, debido principalmente a que no hay ninguna promoción del producto y, por tanto, persiste el desconocimiento de la población sobre características positivas de este tipo de carne como un elevado valor biológico, bajo contenido de grasa y colesterol y un alto porcentaje de proteínas de alta digestibilidad.

Nutricionalmente, los productos cárneos tienen una destacada participación en nuestra alimentación, proporcionando una fuente irremplazable de aminoácidos esenciales, vitaminas y micronutrientes. Destaca su alto tenor en hierro, en las formas de hierro-hemínico (Fe-hem) e inorgánico (Fe no-hem). El Fe-hem forma parte de la mioglobina, principal hemoproteína muscular y la hemoglobina. El hierro-hemínico representa una fuente de hierro de alta biodisponibilidad, superando a las fuentes de Fe no-hem proveniente principalmente de alimentos de origen vegetal y sales inorgánicas.

Existe muy poca información sobre la producción de conejo en nuestro país, así como también es poco lo que se sabe sobre los componentes nutritivos de su carne, es por eso que este trabajo tiene por objetivo aportar información sobre la distribución de hierro en los músculos de muslo, lomo y mano y la proporción Fe no-hem/Fe-hem que contiene cada uno de estos músculos. Este trabajo también pretende aportar conocimientos sobre el metabolismo de hierro, determinando el tiempo que demora el hierro en incorporarse al eritrocito.

REVISION BIBLIOGRAFICA

➤ El conejo domestico (*Oryctolagus cuniculus*).

El conejo doméstico o conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*) pertenece al orden de los Lagomorfos y a la familia de los lepóridos. Existen ciertas particularidades anatómicas pertenecientes a este orden que los diferencia de los roedores, como la presencia de dos pares de incisivos adicionales en el maxilar superior, movimientos laterales de la mandíbula y diferente número de dedos (Raggi, 1999). El conejo es un animal mamífero muy primitivo. Es uno de los animales más antiguos, cuyo conocimiento por el hombre corresponde a la era prehistórica; no hay frecuencia de restos fósiles del mismo, dada la ligereza de sus huesos, aunque se considera que apareció en la tierra hacia mediados de la era terciaria (Lleonart *et al.*, 1980).

El origen de esta especie se desconoce, pero para algunos procede de Asia Central, desde donde emigró hacia Europa, lugar en el que habitó en la época glaciaria. Es posible que los fríos nórdicos empujasen a estos animales hacia climas más favorables como el sur de la península Ibérica y norte de África (Lleonart *et al.*, 1980).

Los conejos se crían principalmente para producción de carne y/o pelaje y en menor escala para ser utilizado como mascota o en investigación científica. Las razas Neozelandés blanco y Californiano son las más usadas para la producción de carne. Estas son razas de peso medio (3,6-5,4Kg), proporcionando un tamaño de canal al que el consumidor está acostumbrado. La sangre y otros órganos y tejidos son usados específicamente para investigación biológica y médica (NRC, 1977).

El conejo es un animal vivaz, activo y de hábitos crepusculares. Su defensa como especie está en la ocultación y mimetismo, en la huida, en el conocimiento del terreno que pisa y en su elevada capacidad reproductiva. Este animal presenta algunas peculiaridades anatómicas típicas como el gran desarrollo de sus pabellones auriculares, y fisiológicas como la cecotofia y la capacidad de las hembras para la ovulación inducida (Lleonart *et al.*, 1980).

El conejo silvestre tiene una actividad vital plenamente ligada al ritmo nictameral, lo cual corresponde a la evolución natural de unos hábitos diurnos y nocturnos; esta característica de comportamiento también se da, aunque atenuada, en los conejos domésticos sometidos a explotación industrial. La coneja es una hembra múltipara capaz de dar camadas de 4 a 14 gazapos, la gestación dura de 31 a 32 días, produciendo unos animales totalmente desnudos que dependen íntegramente de leche materna durante los 18 primeros días de su vida (Lleonart *et al*, 1980).

A pesar de su sensibilidad, el conejo es un animal muy resistente a las condiciones ambientales adversas pues sus mecanismos digestivos y su cobertura cutánea le permiten un aguante activo frente al frío, la falta de alimento y otras condiciones ambientales adversas, por otra parte, la deshidratación de sus excrementos y la concentración de su orina son decisivos para ahorrar agua; por este motivo sobrevive perfectamente en zonas esteparias (Lleonart *et al*, 1980).

El conejo doméstico es herbívoro y su dieta se basa en una variedad de granos, vegetales y heno; este último en la forma peletizada. La alimentación del conejo generalmente se basa en pradera en crecimiento, con un 70-90% de agua, alimento seco con un 10-15% de agua, forraje con alto contenido de fibra, alimentos concentrados, con relativamente alta digestibilidad y suplementos proteicos (NRC, 1977).

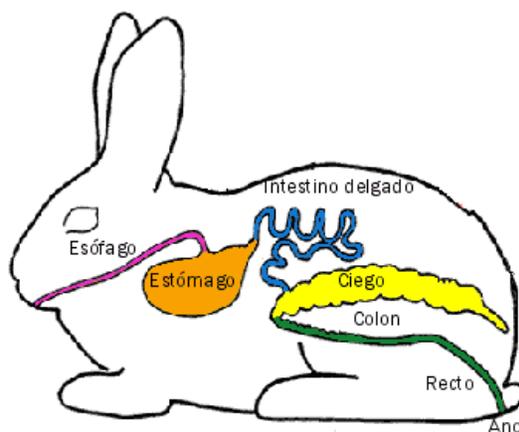


Figura 1: Sistema Digestivo de conejo (ANAC, s/f)

El tracto gastrointestinal presenta un estómago simple glandular, intestinos y el ciego que es de tamaño considerable, donde ocurre síntesis bacteriana de vitaminas del complejo B y K (figura 1). El primer tercio de las deposiciones presenta una textura suave y

representa una fuente importante de nutrientes, electrolitos y nitrógeno que son recuperados mediante la cecotrofia (Raggi, 1999).

El aparato digestivo del conejo esta constituido por una serie de órganos especializados para la digestión y aprovechamiento de alimentos de naturaleza herbácea o leñosa. Como ejes fundamentales en la especialización funcional de este aparato distinguimos dos elementos diferentes: la adaptación a un régimen roedor y el ejercicio de la cecotrofia (fenómeno relativo a la reingesta de una modalidad de excrementos) que supone la presencia de dos ciclos digestivos. Estas particulares conductas en los hábitos alimenticios condicionan una serie de factores vinculados a un estado de equilibrio fisiológico, que no se da en otra especie (Lleonart *et al*, 1980).

La cecotrofia es un acto digestivo que consiste en la ingestión por el conejo de una modalidad de heces denominada cecotrofo, este fenómeno es de vital importancia para esta especie. La ingestión de heces fecales o coprofagia es un fenómeno que se da en distintas especies animales, aunque no como un hecho natural sino como un acto de perversión nutricional debido a carencias, vicios adquiridos o desarreglos alimenticios. En el conejo este hecho tiene otra significación pues este animal no ingiere las heces propiamente dichas, sino un producto intestinal de características muy distintas de aquéllas. De ahí que hablemos de cecotrofia y no coprofagia, entendiendo que este fenómeno tiene un papel digestivo cíclico de primer orden, parecido al que se da en los rumiantes con la rumia (Lleonart *et al*, 1980).

El conejo comienza la cecotrofia cíclica en el momento del destete, si bien cuando pesan 170g la manifiestan en forma esporádica. El cecotrofo es una porción de contenido del colon y tiene forma de esfera rodeada por una película de moco, es rico en agua, proteína y fósforo, también contiene vitaminas del complejo B y oligoelementos. La formación de cecotrofos no ocurre en el ciego pues la ablación quirúrgica de este órgano no suprime esta actividad, por lo que si bien organolépticamente los cecotrofos son afines a la materia cecal, su formación tiene lugar en otros tramos del intestino. La formación de los cecotrofos está regulada por el ritmo nictameral, si bien no hay una línea de separación neta entre ésta y la producción de heces, la actividad cecotrófica del conejo silvestre está perfectamente marcada por la hora del día, la cecotrofia se produce de forma especial por la mañana; el conejo doméstico presenta hábitos algo cambiados (Lleonart *et al*, 1980).

Los requerimientos específicos de muchos de los nutrientes que necesita el conejo son desconocidos. Los requerimientos de la mayoría de los nutrientes inorgánicos ya están establecidos para crecimiento, mantención, gestación y lactancia, sin embargo, los requerimientos de hierro y zinc aún son desconocidos (NRC, 1977).

➤ Hierro.

El hierro es uno de los elementos más abundante en la corteza terrestre y se encuentra en 2 estados redox: Fe^{+2} y Fe^{+3} . Este mineral es indispensable para la vida; sirve como cofactor de muchas enzimas, hemoproteínas y proteínas no hem que cumplen funciones biológicas cruciales como la síntesis de ADN, síntesis de ARN, transporte de oxígeno (hemoglobina), metabolismo del oxígeno (oxidases, peroxidases, catalasas e hidroxilasas), transporte de electrones (citocromos) y en el ciclo de Krebs. Sin embargo, las mismas propiedades que lo hacen útil le proporcionan características tóxicas cuando se encuentra en exceso. El hierro libre puede generar radicales libres que dañan componentes biológicos esenciales (lípidos, proteínas y ADN). Para regular una posible alteración en los niveles de hierro, el organismo debe ser capaz de estimar cuando existe déficit o un aumento de hierro, el que será controlado principalmente a través de la absorción de hierro, más que a través de su excreción. Una respuesta inapropiada o una carencia de respuesta conducirán a una anemia o a una sobrecarga de hierro (Palomo *et al.*, 2005).

En mamíferos el Fe se distribuye principalmente asociado a proteínas: 60-70% en hemoglobina, 10% en mioglobina, citocromo y otras enzimas que contiene hierro y 20-30% en proteínas de almacenamiento como ferritina y hemosiderina en el sistema retículoendotelial y células parenquimatosas hepáticas. Los requerimientos en el ser humano son a nivel de elemento traza, diario se absorben desde la dieta 1-2 mg y se excreta la misma cantidad de este ión. Así, en el hombre y en la mujer adultos el contenido de Fe es 55 y 45 mg de Fe por kg de peso, respectivamente (Palomo *et al.*, 2005).

La deficiencia de hierro sigue siendo el déficit nutricional más frecuente en poblaciones de países industrializados a pesar de las mejoras en la dieta. Por ejemplo, se ha estimado que padecen anemia ferropénica el 3% de los preescolares y entre el 2 y 5% de los adolescentes en los Estados Unidos de América. La infancia y la niñez se consideran

periodos de alta susceptibilidad para la carencia férrica debido generalmente al aumento de los requerimientos para soportar el crecimiento. Además, el 48% de las embarazadas padece anemia, porcentaje que se eleva al 56% en embarazadas del Tercer Mundo (Muñoz y Molina, 2004).

Muchos órganos muestran cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en relación directa con el recambio de las proteínas esenciales que contienen hierro, y en ocasiones incluso antes de que ocurra un descenso significativo de la concentración de hemoglobina (Muñoz y Molina, 2004).

El hierro es un elemento esencial para el ser humano. En la dieta, la hemoglobina y la mioglobina son la principal fuente de hierro por la alta biodisponibilidad del hierro hemínico que contienen (Hallberg y Solvell, 1967). La homeostasis de hierro es regulada por la absorción de hierro a través del enterocito del duodeno (figura 2), célula altamente especializada que coordina la captación y transporte de hierro dietario al interior del organismo (Beard *et al.*, 1996). El hierro se absorbe a nivel intestinal por dos vías según su forma química: la vía de absorción del hierro elemental (no hemínico), donde el hierro es capturado en el ribete estriado del enterocito por el transportador divalente de metales (DMT1), previa reducción del Fe^{+3} a Fe^{+2} por la citocromo duodenal B; y la vía de absorción del hierro hemínico, donde hem (anillo protoporfirínico en cuyo centro se ubica el hierro) es capturado por el receptor de hem HCP1 e internalizado completo por el enterocito y posteriormente el hierro es liberado del hem por acción de la hem-oxigenasa (Philpott, 2002).

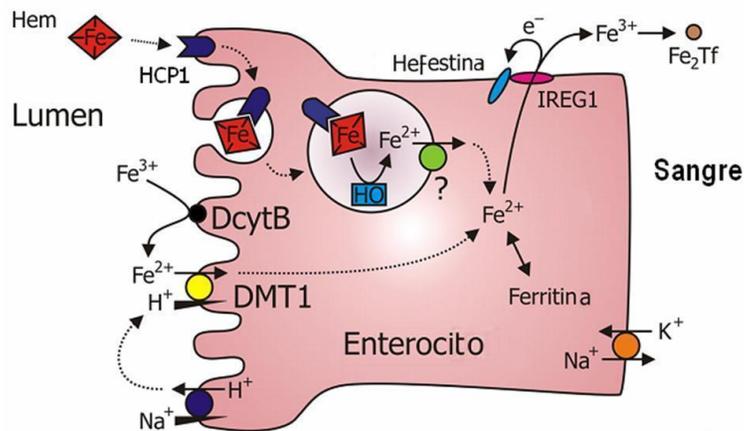


Figura 2: Mecanismo de captación de Fe-hem y Fe no-hem por el enterocito (Palomo *et al*, 2005).

Los mecanismos de captación y absorción de hierro no-hemínico (Fe no-hem) han sido estudiados extensamente; sin embargo, respecto a la absorción de hierro hemínico (Fe-hem) quedan muchas interrogantes por contestar. Se sabe que el hem es absorbido como molécula completa y que su absorción no es influenciada por componentes que sí modifican la absorción de Fe no-hem (Hallberg *et al.*, 1979). También se sabe que el hem es pobremente absorbido cuando se ingiere solo y que su absorción aumenta en la medida en que se consume con alimentos ricos en proteínas, por lo que se ha postulado que las proteínas o sus productos de digestión mantendrían soluble al hem favoreciendo su absorción (Martínez-Torres y Layrisse, 1971).

➤ Métodos isotópicos.

Los radioisótopos son elementos químicos que tienen distinto número de neutrones e igual el número de protones. Un isótopo radiactivo de un elemento se caracteriza por tener un núcleo atómico inestable (por el desbalance entre neutrones y protones). Éstos decaen a un estado más estable emitiendo energía como radiación beta, gamma, etc. Esta energía se puede detectar con un contador de centelleo líquido. Para medir la radiactividad

en este tipo de equipos se requiere que los elementos se encuentren disueltos en una solución anhidra de tolueno y fluor (Eakins y Brown, 1966).

Los isótopos radiactivos se han utilizado extensamente en biología como trazadores del metabolismo de los nutrientes, ^{14}C y ^3H en el metabolismo de proteínas, lípidos y carbohidratos; ^{64}Cu , ^{65}Zn , ^{59}Fe y ^{55}Fe para medir metabolismo de microminerales (Hahn *et al.*, 1939).

En este trabajo se utilizó ^{55}Fe como trazador del metabolismo del hierro en el conejo. A través de la técnica de Eakins y Brown el hierro radiactivo fue aislado y purificado para posteriormente ser medido en un contador de centelleo líquido. Comparando con estándares previamente preparados se midió la radiactividad en cada uno de los compartimientos del conejo (Eakins y Brown, 1966).

➤ Cunicultura en Chile.

La cunicultura de carne es poco desarrollada en nuestro país. Diversos autores han dado a conocer las grandes ventajas nutricionales de la carne de conejo, lo cual la convierte en un alimento altamente recomendado para ser incorporado en la alimentación habitual de los chilenos. Sin embargo, aún su consumo sigue siendo mínimo debido principalmente al desconocimiento de la población en general, de su valor nutricional, de los modos de preparación, escasa distribución a lo largo de país y desconocimiento de sus diversas formas de presentación en el mercado (Póo, 1992).

Comparativamente con países europeos, nuestro consumo es ínfimo. Países como España, Italia y Francia registran un consumo *per cápita* sobre los 3 kilos anuales. En Chile no existen prejuicios políticos, religiosos o económicos que nos impidan elevar nuestro consumo y estamos ciertos que en el mediano plazo alcanzaremos un consumo anual esperado de 100 gramos *per cápita* (Gonzalez, s/f).

El conejo es el animal doméstico que tiene mayor capacidad para producir carne en relación a su peso vivo, siendo 17,8 la relación, muy lejos del cerdo (12,8); oveja (1,7) y vaca (0,8). Se ha comprobado que el conejo puede transformar el 20% de las proteínas alimenticias en carne comestible; asimila con facilidad parte de las proteínas contenidas en las plantas ricas en celulosa (Gonzalez, s/f).

Las principales cualidades de la carne son:

- Carne blanca, magra, sabrosa y tierna
- Adecuada para ser utilizada en las más variadas dietas
- Con mayor riqueza de proteínas y sales minerales respecto a otras carnes
- Carne “light” por excelencia, tiene un porcentaje mínimo de grasa (3-8%)
- Bajo contenido calórico
- Bajo en grasas saturadas, recomendable en casos de enfermedades cardiovasculares
- Aconsejados en dietas anti-colesterol y ácido úrico, previniendo los disturbios del metabolismo lipídico
- Escaso contenido de sodio y alta cantidad de potasio, lo que lo hace recomendable para problemas de hipertensión o vasculopatías.
- Por su alta metabolización, recomendado para la alimentación de niños en edad de crecimiento.
- Alta relación carne-hueso (mayor que la del pollo) y un elevado rendimiento en la cocción por su menor contenido de agua.
- De fácil preparación y adaptable a cualquier paladar.
- Corto tiempo de cocción, carne similar al pollo (González, s/f).

La carne de conejo se caracteriza por poseer un bajo contenido de grasa y colesterol, escaso aporte calórico y alto porcentaje de proteínas de gran digestibilidad y elevado valor biológico. Estas ventajas comparativas, frente a otras carnes de consumo tradicional (tabla1), justifican su industrialización como buena alternativa para aumentar su consumo a nivel nacional (Póo, 1992).

No hay estadísticas oficiales del INE u otro organismo público o privado que tenga información sobre producción nacional. Se manejan cifras desde el origen, provenientes de información proporcionada por La Asociación de Cunicultores de Chile (ACUCH) y del destino de la producción, a través de la venta nacional. Excluyendo a un grupo de exportadores de liebre silvestre de Coyhaique, cinco productores abastecerían el mercado nacional y otros 10 o 15 pequeños productores completarían el grupo oferente nacional. La producción anual aproximada con cifras de julio 2002 fue de 90.900 Kilogramos de carne de conejo (González, s/f).

Tipo	Peso (Kg)	Proteina (%)	Grasa (%)	Agua (%)	Colesterol (mg/100g)	Energia (Kcal/100g)	Hierro (mg/100g)
Ternera	150	14-20	8-9	74	70-84	170	2,2
Vaca	250	19-21	10-19	71	90-100	250	2,8
Cerdo	80	12-16	30-35	52	70-105	209	1,7
Cordero	10	11-16	20-25	63	75-77	250	2,3
Conejo	1	19-25	3-8	70	25-50	160-200	3,5
Pollo	1.3-1.5	12-18	9-10	67	81-100	150-195	1,8
Gallina	0,6	12-13	10-11	65-65	213	150-160	1,4
Pavo	---	21,9	2,2	---	49	109	---

Tabla 1: Composición nutritiva de carnes de diferentes especies animales.

Fuente: ACUCH, s/f.

En el conejo, distintas etapas que comprometen el metabolismo de hierro son extrapoladas de otros mamíferos. Así como también la distribución que tiene dicho mineral a través de la sangre y musculatura es desconocida.

Este trabajo tiene por objetivo aportar conocimiento en el área del metabolismo y distribución del hierro del conejo. Otra información que entrega este trabajo es el contenido total de hierro como la fracción de hierro hemínico de los distintos segmentos.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar el metabolismo del hierro en el conejo doméstico utilizando como trazador un isótopo radioactivo de hierro.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el tiempo en que se produce la máxima incorporación al eritrocito de una dosis de hierro endovenoso.
- Determinar el porcentaje de una dosis de hierro endovenoso que es incorporado al eritrocito.
- Determinar la distribución de una marca isotópica de hierro en los distintos músculos del conejo destinado a consumo.
- Estimar la proporción de hierro-hem y hierro no-hem en carne de conejo

MATERIAL Y METODOS

Para cumplir con los objetivos de este estudio se utilizaron dos experimentos; uno para estudiar incorporación de hierro al eritrocito y otro para estudiar incorporación de hierro a masa muscular.

Experimento 1: para estudiar incorporación de hierro al eritrocito se utilizaron 5 conejos neocelandeses adultos, a los que se les inyectó en la vena marginal de la oreja 0,25 ml de suero fisiológico con 2,74 μCi de ^{55}Fe (Día 0). Se les tomó 0,5 ml de sangre en forma seriada para medir la radioactividad que se fue incorporando a los eritrocitos. Los tiempos de toma de sangre fueron los días: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 y 30. Los animales fueron pesados antes de la inyección de isótopos y al terminar el periodo de toma de muestras. Cuatro días antes del Día 0 se les tomó una muestra de 1 ml de sangre para medir parámetros hematológicos y bioquímicos de nutrición de hierro.

Experimento 2: para estudiar la incorporación de hierro a masa muscular se utilizaron 5 gazapos neocelandeses de 1 mes de edad a los cuales se les inyectó 0,1 ml de suero fisiológico con 550 μCi de ^{55}Fe en la vena marginal de la oreja. Previo a la inyección de isótopos se tomó una muestra de 1 ml de sangre para medir parámetros hematológicos y bioquímicos de nutrición de hierro, también se les administró una dosis de 300 μg de ivermectina subcutánea para control de endo y ectoparásitos. Un mes posterior a la inyección se midió la cantidad de radiación en 1 ml de sangre de cada conejo. Los animales fueron pesados cada 7 días. Dos meses después los conejos fueron sacrificados, para medir la concentración de hierro en la masa muscular. Previo al sacrificio también se midieron parámetros hematológicos y bioquímicos.

Ambos grupos de animales fueron alojados individualmente en jaulas de 60cm de largo por 40cm de alto por 38cm de fondo, implementadas con comederos y bebederos especiales para conejos. Los conejos fueron mantenidos en el Bioterio del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA) bajo condiciones de alimentación e higiene controladas.

Los conejos fueron alimentados con “pellet” comercial (Champion, conejo crianza) agua potable *ad libitum* durante el tiempo que duró cada estudio, se realizó análisis de contenido de hierro, cobre y zinc en el alimento en triplicado cada 15 días.

Radioisótopo: Como trazador de hierro se utilizó el isótopo de hierro ^{55}Fe (NEN, Life Science Products, Inc., Boston, MA). Las dosis de isótopo a administrar fueron aprobadas por el Comité de Ética Animal del INTA. La utilización de este radioisótopo considera las medidas de bioseguridad que exige el “Manual de Normas de Bioseguridad”, editado por CONICYT en 1994. El profesor guía dispone de certificación de La Comisión Chilena de Energía Nuclear para el manejo de radionucleidos.

Determinaciones hematológicas: Con 1 ml de sangre se determinó el estado de nutrición de hierro de los conejos: midiéndose hemoglobina, volumen globular aglomerado (VGA), eritrocitos y volumen corpuscular medio (VCM) (Contador electrónico de células CELL-DYN 1700, ABBOTT Diagnostics, Abbott Park, IL). No se pudo medir la ferritina sérica, ya que la prueba ELISA para ferritina con que se cuenta es sólo para medir ferritina humana (International Anemia Consultative Group (INACG). 1985).

Beneficio de los animales: Los conejos del estudio de incorporación de hierro en masa muscular, fueron sometidos a eutanasia a los 3 meses de edad, para esto fueron anestesiados con solución inyectable de tiopental sodico 25 mg/Kg de peso, vía endovenosa. Una vez anestesiado se les extrajo 5 ml de sangre de la vena principal de la oreja para la determinación de la incorporación de isótopos a la sangre. Luego fue cercenada la vena yugular para provocar la muerte por exsanguinación.

Medición de radioactividad: Las muestras de sangre de los conejos adultos inyectados con ^{55}Fe y la sangre, carne y vísceras de los gazapos, fueron tratadas según técnica doble isotópica de Eakins y Brown (1966) (anexo 1). Para el cálculo de la radiactividad incorporada a los distintos compartimentos se contaron duplicados de muestras en un contador de centelleo líquido (Tri-Carb 1500TR, Packard Instruments Co., Downers Grove, IL, USA). Las muestras fueron contadas el tiempo necesario para obtener un error menor al 3%.

Determinación de materia seca: para determinar el contenido de humedad real en carne, se tomó una muestra de carne de 1 a 2 g en un vaso precipitado de 25 ml en una balanza analítica, luego se desecó en estufa a 105° C por 48 horas. Con este procedimiento se obtuvo la materia seca y por diferencia se calculó el porcentaje de humedad de la muestra.

Determinación de hierro total en carne y vísceras: de cada conejo se tomaron muestras en triplicado de carne de pierna, lomo y mano de las dos hemicanales, y de diferentes vísceras (hígado, bazo, cerebro, pulmón y riñón). De cada muestra se pesó 2 a 3 g en un tubo de digestión de 100 ml en una balanza analítica, luego se aplicó la técnica de digestión húmeda para obtener la cantidad de hierro de la muestra: al tubo de digestión de 100 ml con la muestra se agregó 3ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado y 2 ml de ácido nítrico (HNO_3), luego el tubo se calentó en digestor a 95°C por 10 minutos, 130°C por 10 minutos, 150°C por 30 minutos, 200°C por 30 minutos, 250 por 10 minutos y a 290°C por una hora, se dejó enfriar y finalmente se agregó 1 ml de ácido perclórico ($HClO_4$) y fue llevado a digestor a 290°C lo que terminó de digerir la muestra biológica quedando una solución transparente. La solución fue traspasada a un matraz aforado de 50 ml, el tubo de digestión fue lavado repetidamente con 4 ml de agua destilada deionizada (agua dd) y los lavados fueron trasvasijados al matraz aforado. Este matraz se llenó con agua dd hasta el aforo y posteriormente la solución fue leída en un espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) en el que se obtuvo la cantidad de hierro de la muestra en microgramos por ml. Además de hierro, en la solución se midió zinc y cobre (Association of Official Analytical Chemist, 1980).

Determinación de hierro no hemínico: de cada conejo se tomaron muestras en triplicado de carne de las dos hemicanales y vísceras. Las muestras de 2 g de carne en corte transversal a la fibra muscular (en materia húmeda) se pusieron en un tubo de 50 ml que contenían agua dd, ácido clorhídrico (HCl) y ácido tricloroacético 10 %. El tubo se incubó a 37° C en baño maría por una hora, agitando los tubos cada media hora. Después se centrifugó a 3.000 rpm por 10 minutos. El sobrenadante se trasvasijó a un matraz aforado de 25 ml. Al precipitado que quedó en el tubo se le agregó 10 ml de agua dd y se agitó en “vortex” hasta que el precipitado se movió. Posteriormente se repitió el centrifugado y

vaciado del sobrenadante al mismo matraz. Este se llenó con agua dd hasta completar los 25 ml. Posteriormente se leyó en EAA de horno grafito. (Vacha *et al*, 1978).

Determinación de hierro hemínico: la cantidad de hierro hemínico de la muestra se obtuvo por diferencia entre el hierro total menos el hierro no hemínico.

Análisis estadísticos de los resultados: Los resultados fueron expresados en promedio por muestra y desviación estándar (DE). Para comparar los contenidos de hierro interhemicanales de todos los conejos se utilizó el test paramétrico de t Student. Para observar relaciones entre una hemicanal y otra se empleará la dócima r de Pearson. (STATISTICA for Windows, 1997).

RESULTADOS

Todos los animales resultaron estar saludables al examen clínico. Durante el periodo de los experimentos los conejos no presentaron cuadros patológicos. Los parámetros hematológicos de los conejos, antes de la inyección de isótopos y previo a la eutanasia mostraron resultados dentro de los rangos normales para la especie.

En la tabla 2 se muestran los resultados de los conejos adultos, se observa que el promedio de recuento de eritrocitos y hemoglobina fue menor en el tiempo final que al inicio del experimento (t pareado de Student, $p < 0,05$). El VGA y VCM (volumen corpuscular medio) no presentaron variación.

Conejo	Inicio				Final			
	Eri $\times 10^6/\mu\text{l}$	Hb (g/dl)	VGA (%)	VCM (fl)	Eri $\times 10^6/\mu\text{l}$	Hb (g/dl)	VGA (%)	VCM (fl)
1	6,55	14,1	41,5	63,5	6,45	13,8	40,6	64,0
2	6,74	14,6	41,0	63,0	6,58	14,4	39,6	63,5
3	6,65	14,7	42,2	62,5	6,52	14,0	41,8	63,5
4	6,87	15,2	42,6	64,0	6,47	14,5	41,9	64,5
5	6,25	14,0	41,2	64,5	6,12	13,9	41,6	64,5
Promedio	6,61 ^a	14,5 ^a	41,7 ^a	63,5 ^a	6,43 ^b	14,1 ^b	41,1 ^a	63,8 ^a
DE	0,23	0,49	0,68	0,79	0,18	0,31	0,98	0,50

Tabla 2: Parámetros hematológicos de conejos adultos (experimento 1). Eri=Recuento de eritrocitos, Hb=Hemoglobina, VGA=Volumen Globular Aglomerado, VCM=Volumen Corpuscular Medio.

A,b: letras diferentes dentro de parámetros hematológicos en el experimento 1 indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

En la tabla 3 se presentan los resultados de los gazapos. Si bien al final del periodo experimental los conejos tuvieron promedios de los parámetros de recuento de eritrocitos y hemoglobina más altos que al inicio, estos no fueron diferentes significativamente ($p>0,05$). Al comparar los conejos adultos (experimento 1) con los gazapos (experimento 2) (tabla 4), estos últimos presentaron promedios significativamente más bajos que los adultos en todos los parámetros hematológicos, excepto el VCM y el VGA en el tiempo final ($p<0,05$).

Conejo	Inicio				Final			
	Eri $\times 10^6/\mu\text{l}$	Hb (g/dl)	VGA (%)	VCM (fl)	Eri $\times 10^6/\mu\text{l}$	Hb (g/dl)	VGA (%)	VCM (fl)
1	5,12	11,2	32,2	63	5,61	12,5	35,6	63,5
2	5,77	12,4	36,3	63	5,48	12,1	36,6	66,5
3	5,26	11,4	32,6	61,5	5,68	12	35,2	62,0
4	5,42	12,6	36,4	66,5	6,07	13,9	41,0	66,0
5	5,04	11,3	34,5	66,5	6,31	13,9	41,6	66,0
Promedio	5,32	11,78	34,40	64,10	5,83	12,88	38,00	64,80
DE	0,29	0,66	1,98	2,27	0,35	0,95	3,06	1,96

Tabla 3: Parámetros hematológicos de gazapos (experimento 2). Eri=Recuento de eritrocitos, Hb=Hemoglobina, VGA=Volumen Globular Aglomerado, VCM=Volumen Corpuscular Medio.

Conejo	Inicio				Final			
	Eri x10 ⁶ /μl	Hb (g/dl)	VGA (%)	VCM (fl)	Eri x10 ⁶ /μl	Hb (g/dl)	VGA (%)	VCM (fl)
Promedio adultos	6,61 ^a	14,5 ^a	41,7 ^a	63,5 ^a	6,43 ^a	14,1 ^a	41,1 ^a	63,8 ^a
DE adultos	0,23	0,49	0,68	0,79	0,18	0,31	0,98	0,50
Promedio gazapos	5,32 ^b	11,78 ^b	34,40 ^b	64,10 ^a	5,83 ^b	12,88 ^b	38,00 ^a	64,80 ^a
DE gazapos	0,29	0,66	1,98	2,27	0,35	0,95	3,06	1,96

Tabla 4: Comparación de los parámetros hematológicos de ambos experimentos. Eri=Recuento de eritrocitos, Hb=Hemoglobina, VGA=Volumen Globular Aglomerado, VCM=Volumen Corpuscular Medio.

A,b: letras diferentes dentro de parámetros hematológicos entre los dos experimentos indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

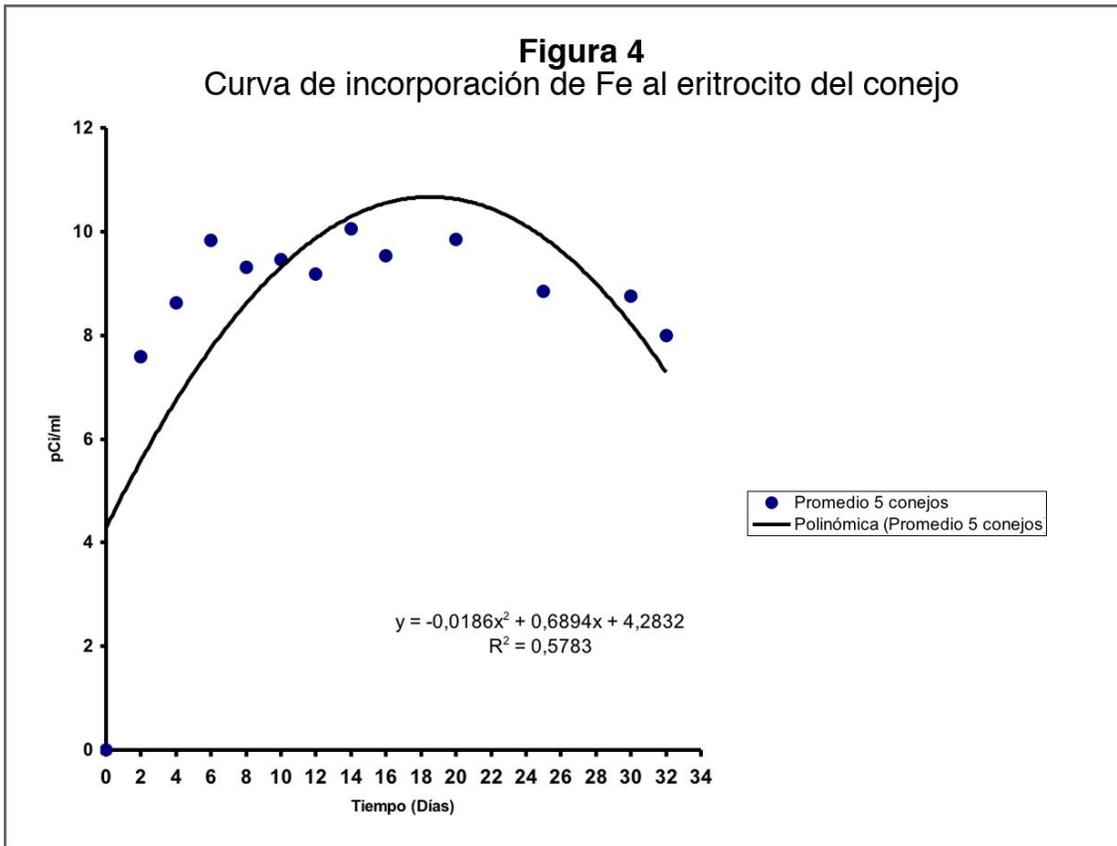
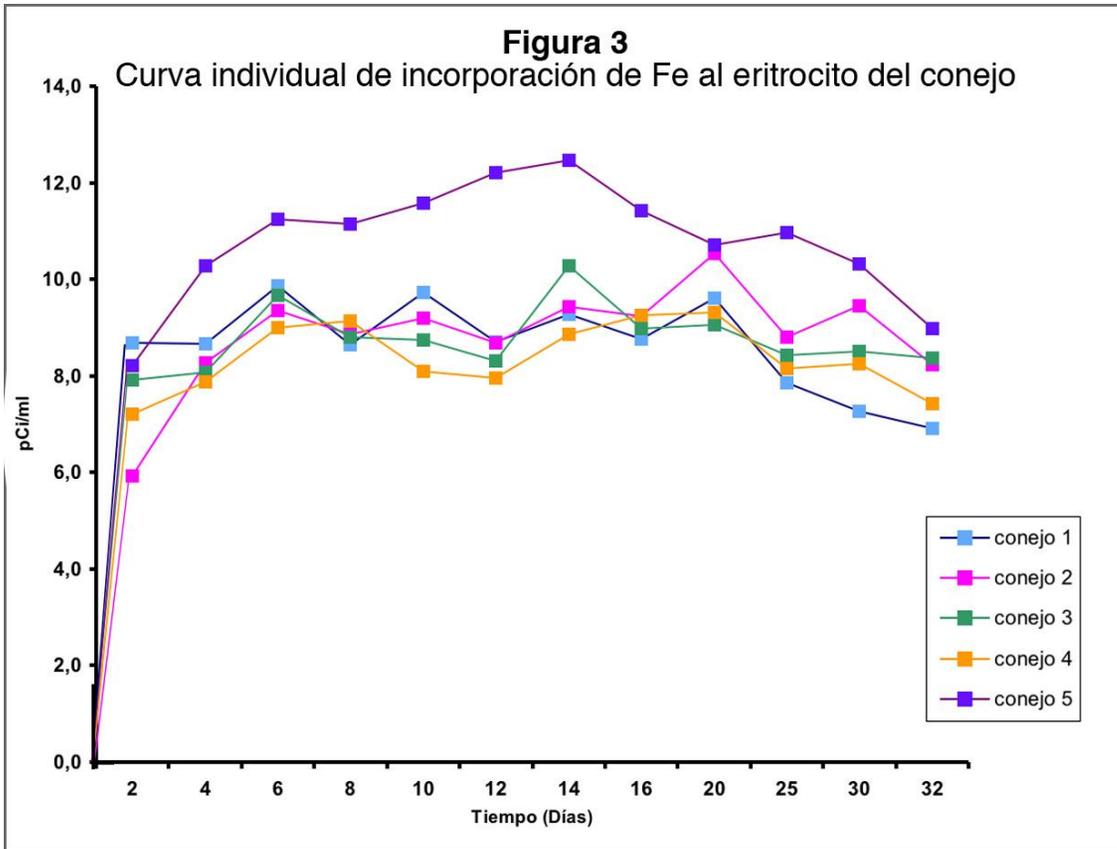
Experimento 1: tuvo como objetivo medir en el tiempo la incorporación de una marca radioisotópica de hierro al eritrocito.

Para estudiar incorporación de hierro al eritrocito se utilizaron 5 conejos neocelandeses adultos, a los que se les inyectó en la vena marginal de la oreja 0.25 ml de suero fisiológico con 2.74 μCi de ⁵⁵Fe. La tabla 5 muestra los valores individuales de radiactividad incorporada a los eritrocitos en cada uno de los períodos analizados, expresados en pCi/ml de sangre. La figura 3 muestra la curva de incorporación de Fe al eritrocito de cada uno de los conejos. Se observa en todos ellos un comportamiento similar. La figura 4 muestra la relación entre el promedio de incorporación de hierro al eritrocito de los 5 conejos y el tiempo del experimento. Se observa que la máxima incorporación de la dosis de ⁵⁵Fe inyectado se produjo el día 14 post-inyección. La línea de tendencia de la

relación produjo una curva de tipo binomial. El porcentaje máximo de ^{55}Fe incorporado fue de un 69.7%.

Días	Radiactividad en eritrocitos (pCi/ml)					Promedio
	conejo 1	conejo 2	conejo 3	conejo 4	conejo 5	
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	8,68	5,92	7,91	7,20	8,21	7,59
4	8,65	8,27	8,07	7,87	10,28	8,63
6	9,87	9,34	9,66	8,99	11,25	9,82
8	8,64	8,86	8,79	9,14	11,15	9,32
10	9,73	9,19	8,75	8,09	11,58	9,47
12	8,70	8,69	8,31	7,96	12,20	9,17
14	9,27	9,42	10,29	8,87	12,46	10,06
16	8,77	9,24	8,97	9,25	11,42	9,53
20	9,61	10,54	9,06	9,32	10,72	9,85
25	7,85	8,81	8,43	8,15	10,96	8,84
30	7,26	9,45	8,50	8,25	10,32	8,76
32	6,92	8,23	8,37	7,43	8,98	7,99

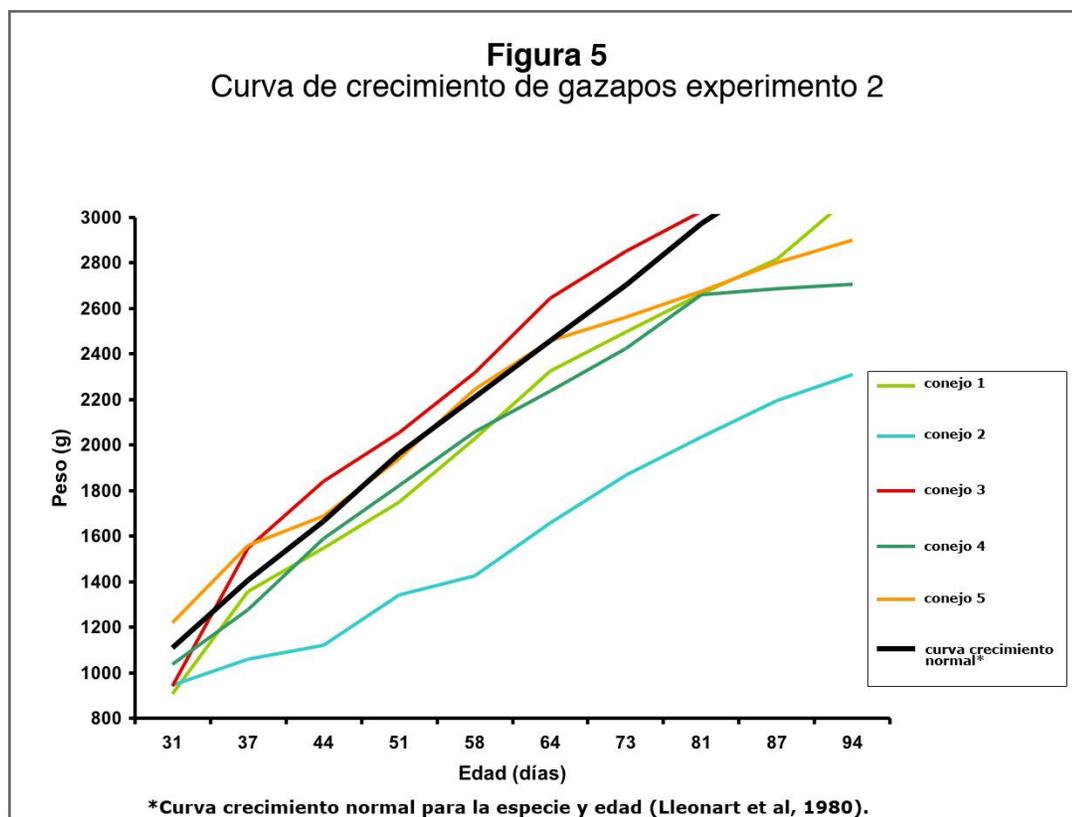
Tabla 5. Incorporación de radiactividad incorporada a eritrocitos de conejos



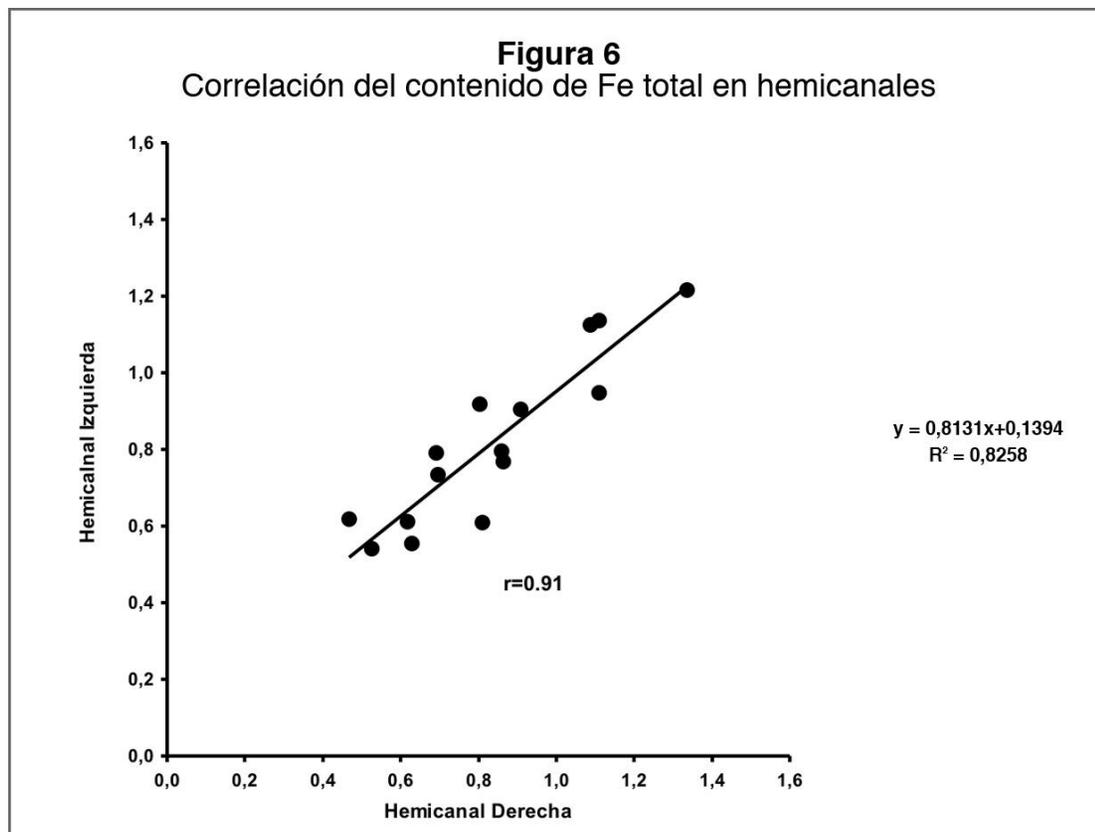
Experimento 2: tuvo como objetivo medir el contenido de hierro, cobre y zinc, proporción de hierro hemínico/no hemínico y distribución de una marca radioisotópica en distintos compartimentos cárneos de conejo.

Para contestar estos objetivos se utilizaron 5 gazapos Neocelandeses de 1 mes de edad a los cuales se les inyectó 550 μCi de ^{55}Fe .

Los gazapos describieron una curva de crecimiento similar a la normal para la especie, que se muestra en la figura 5, con un aumento diario de peso promedio de 29,3 g. Solo el gazapo numero dos presentó pesos bajo la curva normal, sin embargo, esto no influyó en el experimento, ya que no mostró diferencias en las distintas mediciones con los otros 4 conejos.



El contenido de Fe total entre las hemicanales izquierda y derecha presentaron una alta correlación (r Pearson= 0,91) demostrando que la distribución del hierro es equilibrada (figura 6), por tanto se calculó un solo promedio para los cortes mano, lomo y muslo de ambas hemicanales.



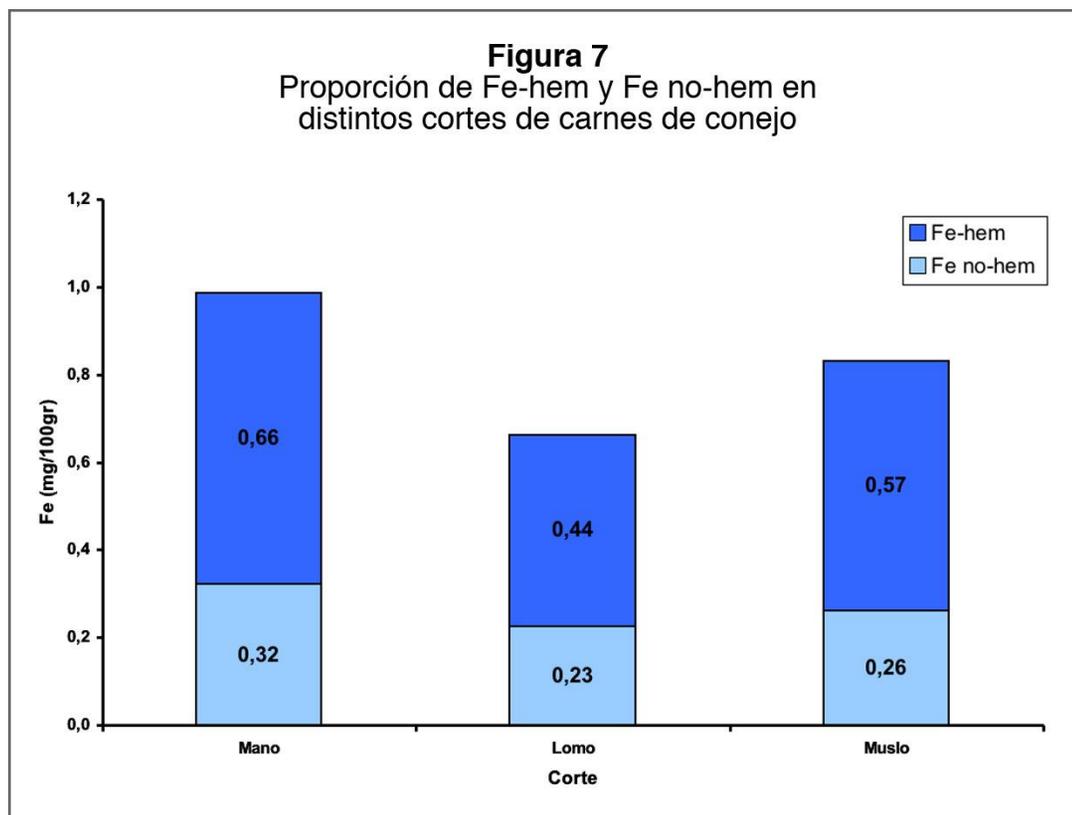
La tabla 6 muestra los contenidos promedio de hierro, cobre y zinc de los 5 animales para cada corte y vísceras. El corte de carne que mostró tener mayor cantidad de hierro fue la mano con $0,99 \pm 0,2$ mg de Fe en 100g de carne, seguido por el muslo con $0,83 \pm 0,24$ mg/100g y por ultimo el lomo con $0,66 \pm 0,13$ mg/100g.

El bazo fue la víscera en la que se encontró mayor cantidad de hierro, $82,8 \pm 9,2$ mg/100g seguido por el hígado con $18,2 \pm 4,4$ mg/100g.

	Hierro	Cobre	Zinc
Mano	0,99±0,2	0,08±0,02	1,33±0,12
Lomo	0,66±0,13	0,07±0,02	0,61±0,04
Muslo	0,83±0,24	0,08±0,02	0,91±0,17
Hígado	18,24±4,42	3,89±2,89	2,55±0,29
Bazo	82,79±9,22	0,60±0,11	3,49±0,63
Riñones	4,04±0,83	0,31±0,02	2,17±0,25
Cerebro	1,64±0,39	0,36±0,03	1,60±0,17
Pulmones	6,38±3,30	0,18±0,03	1,71±0,23

Tabla 6: Contenido promedio de Hierro, Cobre y Zinc en carne y vísceras de conejo (mg/100g), en base materia fresca.

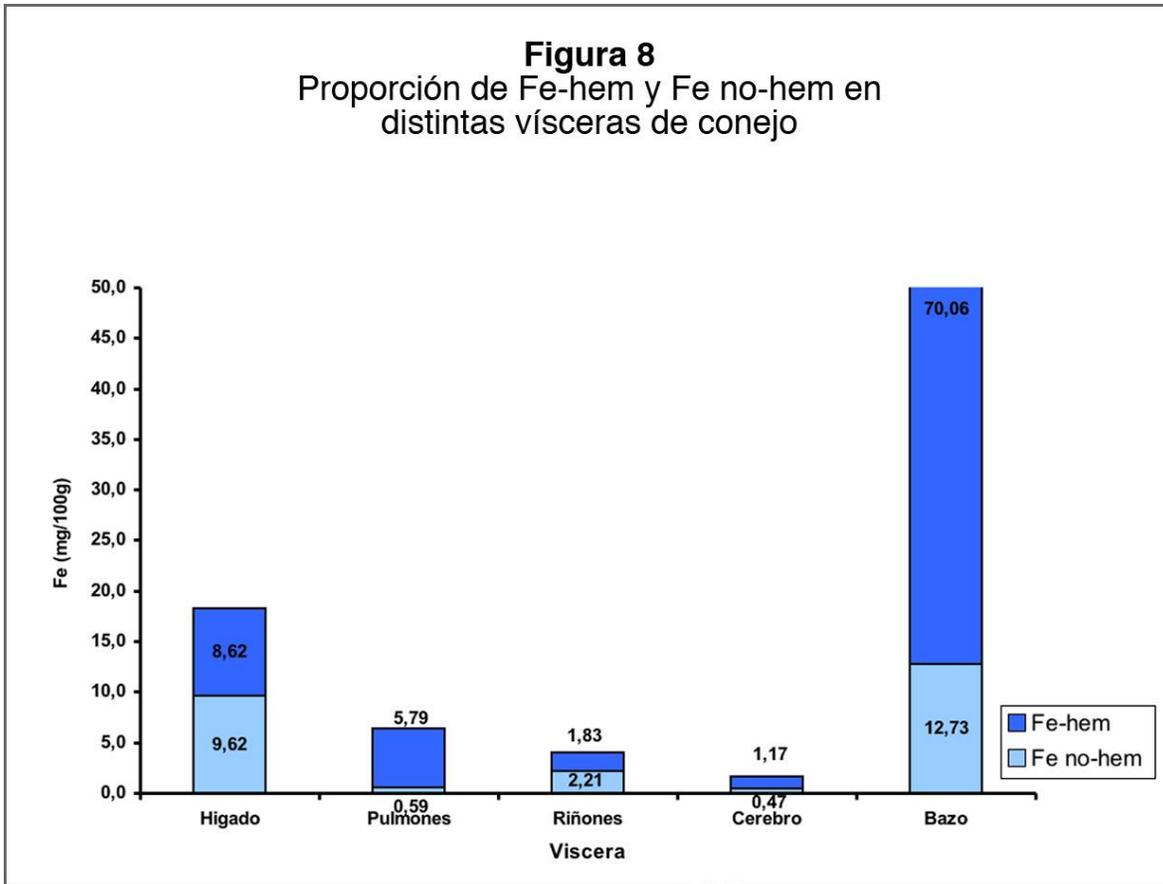
La proporción de Fe-hem y Fe no-hem en carne y vísceras se muestra en las figuras 7 y 8. La cantidad de Fe-hem superó ampliamente a la de Fe no-hem, siendo más de 65% del Fe total en los cortes de carne (tabla 7) (gráfico 7) y entre 50% y 90% del Fe total en vísceras (figura 8).



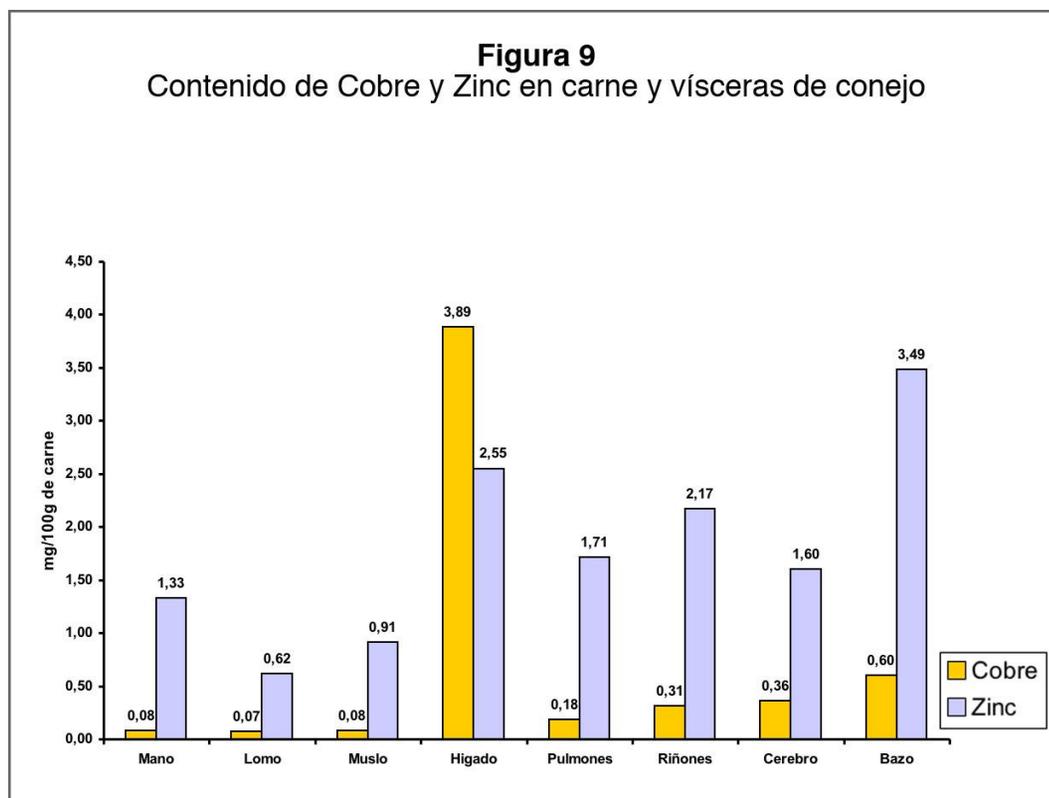
Hierro	Fe-Hem	Fe No-Hem
Corte	(mg/100g)	(mg/100g)
Mano	0,66±0,22 (67%)	0,32±0,08 (33%)
Lomo	0,44±0,15 (67%)	0,23±0,06 (33%)
Muslo	0,57±0,29 (69%)	0,26±0,11 (31%)

Tabla 7: contenido promedio de Hierro Hem y No-Hem en los distintos cortes de carne de conejo, en base materia fresca.

Figura 8
 Proporción de Fe-hem y Fe no-hem en distintas vísceras de conejo



El Zinc presente en los cortes de carne, siguió la misma tendencia que el Fe, la mano contuvo $1,33 \pm 0,12$ mg de Zn en 100g de carne, el muslo $0,91 \pm 0,17$ mg/100g y el lomo $0,61 \pm 0,04$ mg/100g. La cantidad de cobre, sin embargo, no mostró diferencia significativa entre los cortes, la mano contuvo $0,08 \pm 0,02$ mg de Cu en 100 g de carne, el muslo $0,08 \pm 0,02$ mg/100g y el lomo $0,07 \pm 0,02$ mg/100gr (tabla 6 y 8). La víscera que tuvo mayor cantidad de Zn fue el bazo con $3,49 \pm 0,63$ mg/100g y la que tuvo mas Cu fue el hígado con $3,85 \pm 2,89$ mg/100g (figura 9).



Después de desecar carne de conejo a 105° C por 24 horas se obtuvo un 68% de humedad, por lo tanto, 32% de materia seca.

Resumiendo, el contenido de Fe promedio de la carne de conejo es $0,83 \pm 0,16 \text{ mg/100g}$, correspondiendo a Fe-hem $0,56 \pm 0,11 \text{ mg/100g}$ y a Fe no-hem $0,27 \pm 0,05 \text{ mg/100g}$. El contenido de Cu es $0,08 \pm 0,01 \text{ mg/100g}$ y el de Zn $0,95 \pm 0,35 \text{ mg/100g}$ (tabla 9).

	Conejo	Mano	Lomo	Muslo
Hierro	1	0.91	0.53	0.74
	2	0.83	0.59	0.54
	3	0.82	0.62	0.72
	4	1.11	0.71	1.12
	5	1.28	0.86	1.03
Cobre	1	0.08	0.05	0.06
	2	0.05	0.06	0.11
	3	0.07	0.07	0.09
	4	0.12	0.08	0.08
	5	0.07	0.10	0.07
Zinc	1	1.33	0.62	0.97
	2	1.29	0.61	0.67
	3	1.16	0.60	0.96
	4	1.37	0.68	1.13
	5	1.48	0.58	0.82

Tabla 8: contenido de Fe, Cu y Zn en los distintos cortes de carne de conejo (mg/100g), en base materia fresca.

Micromineral	Cantidad (mg/100g)
Hierro total	0.83±0.16
Hierro heminico	0.56±0.11
Hierro no heminico	0.27±0.05
Cobre	0.08±0.01
Zinc	0.95±0.35

Tabla 9: Contenido promedio de Hierro, Cobre y Zinc en la carne de conejo (mg/100g), en base materia fresca.

La marca isotópica de Fe tuvo la siguiente distribución: la mayor cantidad de isótopos de ^{55}Fe se encontró en el bazo con 14299 pCi/100g siendo este mismo órgano el que contuvo mayor cantidad de Fe-hem. En los cortes de carne la marca isotópica se distribuyó de la misma manera que el Fe-hem, en la mano se encontró 139 pCi/100g, en el muslo, 82 pCi/100g y por ultimo en el lomo, 42 pCi/100g (tabla 10).

Corte/Viscera	^{55}Fe (pCi/100g)
Mano	139±43
Lomo	42±6
Muslo	81±14
Hígado	2706±181
Bazo	14299±1681
Pulmones	856±349
Riñones	979±94
Cerebro	238±31

Tabla 10: Distribución de marca isotópica ^{55}Fe en cortes de carne y vísceras de conejo

DISCUSION

El conejo es un mamífero domestico con variadas utilidades, desde animal de compañía, pasando por animal de laboratorio, hasta productor de pelo y carne. La sangre del conejo ha sido utilizada como fuente de hierro hemínico en experimentos de absorción de hierro en humanos, pero hasta ahora no se sabe como este animal incorpora el hierro a la hemoglobina ni como se distribuye el hierro en los diferentes músculos (cortes de carne).

En el experimento numero uno se midió el tiempo en que se produjo la incorporación de una dosis de hierro inyectado, al eritrocito y los resultados muestran que el conejo tiene un recambio de la masa eritrocitaria muy rápida, comparadas con estudios previos realizados en perros y humanos (Hahn *et al*, 1939 y Pollycove y Mortiner, 1961). Polycove y Mortimer (1961) midieron la incorporación de ^{59}Fe al eritrocito en 13 sujetos aparentemente sanos. El gráfico 8 muestra las curvas de incorporación en las cuales todas terminan entre 80 y 100% a los 14 días post inyección de la dosis de ^{59}Fe . Este mismo estudio demuestra el rápido secuestro del hierro plasmático por el sistema eritropoyético, un día después de la inyección no se encontró radioisótopos en el plasma. Posteriormente la radioactividad progresivamente sale a circulación incorporada en la hemoglobina de los eritrocitos, completándose entre los días 2 y 6 el 80% de la incorporación (figura 10).

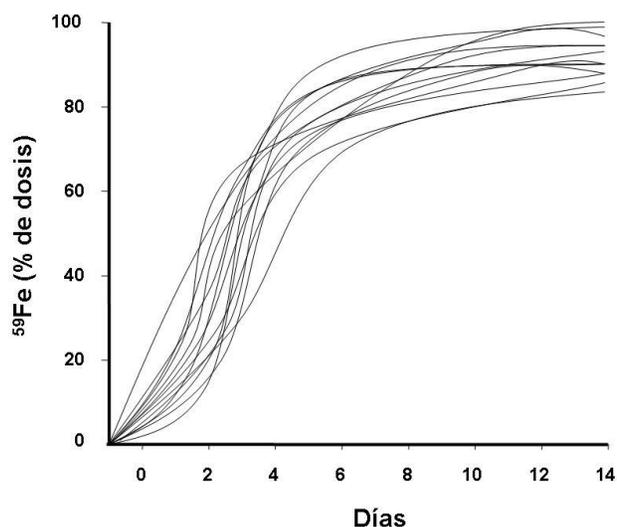


Figura 10. Porcentaje de radioisótopos incorporados a la masa eritrocitaria posterior a una inyección endovenosa de ^{59}Fe (Polycove y Mortimer, 1961).

Este estudio nos muestra que la máxima incorporación de hierro al eritrocito en humanos demoró menos que en conejos (día 14), sin embargo, en conejos al día 2 se había incorporado el 52% del hierro inyectado (Gráfico 9). Si consideramos que el conejo incorpora en total sólo un 70% de la dosis, quiere decir que el día 2 ya había incorporado un 74% de la incorporación total y al día 6 había incorporado el 97%. Así como la incorporación es mas rápida en conejos también lo es la disminución de la curva ya que en humanos se produce un plató de incorporación el día 10 que continuó, por lo menos, hasta el día 14 (figura11) y en conejos la curva decayó justo después de la máxima incorporación (día 16).

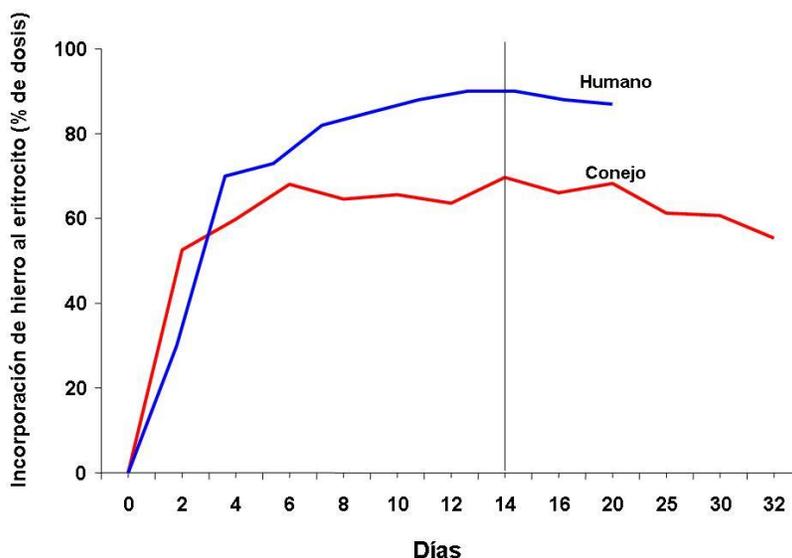


Figura 11: Curva comparativa de incorporación de hierro al eritrocito de humanos y conejos (curva conejo resultado de experimento 1, comparada con la publicada por Polycove y Mortimer (1961)).

Una de las razones por la cual la incorporación fue mucho más rápida podría ser que la vida media del eritrocito del conejo es de 55 días y la del humano y el perro es de 120 días. Esta afirmación se confirma por la pronta caída de la curva de incorporación. Si bien, hubiera sido deseable tomar muestras en las horas posteriores a la inyección de isótopos, para observar mejor la curva, no se planificaron porque se tomó como referencia lo publicado en la literatura, y no se presumió que el recambio de eritrocitos en el conejo podía ser más rápido. El porcentaje de incorporación de Fe al eritrocito también fue distinto

a lo que se sabía, ya que, si se compara con la incorporación en perros y humanos que es alrededor del 80% a 100% de la dosis y en el experimento uno se mostró que los conejos incorporaron el 70%.

Respecto del contenido de Hierro en la masa muscular de conejo la distribución de Fe en los distintos cortes de carne mostró que la mano y el muslo contenían mayor cantidad de Fe que el lomo, creemos que esto se debe a que las extremidades requieren mayor nutrición y oxigenación, por lo tanto, mayor irrigación y mayor depósito de mioglobina y de hemoglobina, porque son músculos que tienen mucho más movimiento que el lomo. Observando el contenido de Fe en las extremidades se ve que claramente la mano tiene más Fe que el muslo, creemos que esto se debe a que los conejos utilizados en el experimento se mantenían en cautiverio, como la mayoría de los conejos destinados a consumo, por lo tanto, las extremidades anteriores son más utilizadas y se mueven más que las posteriores, habría que medir la cantidad de hierro en las extremidades de conejos silvestres, para comprobar esta idea.

Es importante destacar que existen diferencias considerables sobre la cantidad de hierro de los distintos cortes de carne de conejo, y las tablas de composición de alimentos, presentadas más adelante, no toman en cuenta estas diferencias, que para el consumidor tiene gran importancia, ya que el conejo se come trozado, por lo tanto, la información entregada por las tablas estaría sesgada, debería hacerse la diferencia de los cortes como se hace en otras especies como la carne de vacuno o pollo. La cantidad de Fe de los diferentes cortes de carne de conejo obtenidos en este experimento fue: 0,99, 0,83 y 0,66 para mano, muslo, y lomo respectivamente.

Un estudio comparable al presente, es el de Lücker *et al* (1997) quienes determinaron el contenido de Fe de mano, muslo y lomo de 49 conejos neocelandeses utilizando la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, y sus resultados fueron: 0,79, 0,45 y 0,35 mg Fe/100g respectivamente y un promedio de 0.53 mg Fe/100g como contenido de Fe total en la carne de conejo. Los resultados de Lücker *et al* (1997) son más bajos a los obtenidos en este experimento. Una explicación a estas diferencias podrían atribuirse a las distintas dietas administradas a los conejos, situación que se repite cuando se revisan algunas tablas de composición de alimentos publicadas, se observa que la

variación de los datos es muy grande. Como ejemplo: la tabla publicada por el instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) dice que la carne cruda de conejo de crianza tiene 1.57 mg Fe/100g; la tabla de composición de alimentos de América Latina dice que la carne sin hueso de conejo neocelandés tiene 2.7 mg Fe/100g; la tabla publicada por Rivera *et al* (1989) citado por Póo (1992) en Chile dice que la carne de conejo neocelandés contiene 2.6 mg Fe/100g, y finalmente la tabla publicada por la asociación de cunicultores de Chile (ACUCH) dice que la carne de conejo tiene 3.5 mg Fe/100g.

El mismo estudio de Lücker *et al* (1997), señala que las canales de los mamíferos beneficiados se componen de 400 a 500 músculos individuales, donde su composición química varía considerablemente según su función. La diferencia de los contenidos de hierro se puede deber a varios factores (métodos de sangría, alimentación, raza, etc) uno de los más importantes es la sangre residual que se retendría en el músculo y que afectaría el contenido Fe-hem. Para reducir la variación de las muestras, generalmente se homogenizan, sin embargo, es imposible homogeneizar a todo un animal, por otra parte el factor contaminación no se puede eliminar durante el muestreo, el tratamiento previo y la homogenización de la muestra, especialmente cuando el mineral que se analiza es abundante en el ambiente como el Fe. Una vez homogeneizada la muestra no es posible obtener información sobre la variación biológica inducida o secundaria, debida a la contaminación (Lücker *et al*, 1997).

Las diferencias encontradas en las tablas de composición de alimentos son muy grandes, dificultando la credibilidad de éstas. Algunas de las razones de estas diferencias, además de las que describe Lücker *et al* (1997), podrían ser el alimento y agua y la cantidad de hierro que estas contengan, ya que, los requerimientos de Fe del conejo no se han establecido todavía, sólo se sabe que es raro encontrar carencias nutricionales de hierro como anemia en conejos silvestres y en cautiverio. Otro punto que puede influir en estas diferencias son las técnicas de preparación de muestras y los instrumentos de medición utilizados para obtener los datos, que no se especifican en ninguna de las tablas consultadas.

Respecto a la distribución de la marca isotópica inyectada en los conejos del experimento dos, podemos destacar que el corte (mano) que presentó mayor cantidad de hierro total, a su vez presentó mayor incorporación de marca isotópica y vice-versa

($r=0.99$). Esta observación corrobora la idea de que el músculo que tiene mayor movimiento presenta mayor contenido de hierro y por tanto mayor incorporación.

Otro factor que nunca había sido evaluado es la proporción de Fe-Hem en la carne de conejo, lo que es un gran aporte teniendo en cuenta que el hierro hemínico tiene una biodisponibilidad mucho mas alta que el hierro no hemínico o inorgánico. Como no hay datos al respecto nuestros resultados no pueden ser comparados con valores de Fe-Hem en carne de esta misma especie, pero si con datos obtenidos en vacunos, en los que se encontró 58,3% de Fe-Hem en un corte de miembro anterior (posta paleta), 70,3% en el lomo liso y 56,6% en un corte del miembro posterior (posta negra) ¹. Los resultados de este estudio fueron: 66,6%, 66,7% y 68,7% para mano, lomo y muslo respectivamente, superior en alrededor de 10% mas que los cortes de las extremidades de vacuno y menos de 5% menos que el lomo, además cabe destacar que las proporciones de hierro hemínico y no-hemínico en carne de conejo son menos variables entre cortes que en la carne de vacuno.

¹ Datos no publicados

CONCLUSIONES

Como conclusión se puede decir que:

- la máxima incorporación de hierro al eritrocito se produjo al día 14 y se incorporó un 69,7% de la dosis radioisotópica inyectada y se observó que a causa del metabolismo muy rápido del conejo la curva resultó muy distinta a la conocida en perros y humanos.
- Del experimento dos se concluye que el hierro hemínico representó más de 65% del hierro total en todos los cortes estudiados y la marca isotópica tuvo una distribución en los músculos del conejo correlacionada directamente con las concentraciones de hierro total de estos músculos.
- El contenido de Fe en los distintos cortes de carne de conejo fue considerablemente inferior a los publicados en las tablas consultadas, pero no por esto, la carne de conejo va a ser nutricionalmente un bajo aporte de hierro, muy por el contrario, ya que contiene una alta proporción de Fe-Hem que tiene una muy alta biodisponibilidad.

Anexo 1: Técnica de doble marcaje isotópico de Eakins y Brown (1966)

I. Etapa: Digestión

a) Estándares: los estándares con que trabajamos en los estudios consistieron en triplicados de las cápsulas usadas en cada uno de ellos. Así, la primera semana del estudio se obtenían seis cápsulas estándares, tres que correspondían a ^{55}Fe y tres a ^{59}Fe , y de esta misma forma ocurría en la segunda semana de estudio.

b) Blancos y muestras: ambos ítems se trabajaron en duplicados. Las muestras blanco correspondieron a 5 mL de sangre de banco de sangre del Instituto de Salud Pública (ISP). Las muestras como tal, correspondieron a 8 mL de sangre de cada sujeto participante del estudio.

Cada estándar, blanco y muestra, se puso en un tubo de digestión y se colocaron 6 a 8 perlas de vidrio de 5 mm de diámetro y se le agregó primero 3 mL de ácido sulfúrico al 95-97% p.a. (Merck, Germany) y luego 2 mL de ácido nítrico al 65% p.a. (Merck, Germany) y se dejó reposar al menos una noche, idealmente todo el fin de semana.

Ya transcurrido este tiempo, se colocaron los tubos de digestión en un digestor marca Quimis distintos tiempos a distintas temperaturas:

- 95°C por 10 minutos
- 135°C por 5 minutos
- 150°C por 5 minutos
- 200°C por 10 minutos
- 250°C por 10 minutos
- 290°C por 15 minutos y se apagó (muestra color petróleo).

Luego, se agregó 1 mL de ácido perclórico al 70-72% p.a. (Merck, Germany) a cada tubo y se siguió con la digestión a:

- 220°C por 10 minutos
- 250°C por 5 minutos

- 290°C hasta que la muestra quede color amarillo pálido (aproximadamente 60 minutos).

Luego, los matraces se sacaron del digestor y cuando ya estaban fríos, se les agregó 10 mL de ácido clorhídrico fumarante 37% p.a. (Merck, Germany).

II. Etapa: Precipitación 1

En tubos de fondo redondo de 100 mL siliconados, se agregó cantidad necesaria de carrier según la siguiente fórmula:

$$\text{Mg de Fe que tiene la muestra} = \frac{\text{Hb} * 3,39 * \text{volumen de sangre}}{100}$$

$$\text{mL de carrier} = \frac{5 - \text{mg de Fe de la muestra}}{5 \text{ mg de Fe/mL (Concentración Carrier)}}$$

Se trasvasió la muestra completa desde el tubo de digestión al tubo de 100 mL incluyendo las perlas de vidrio. Se lavó cinco veces el matraz con 4 mL de agua desionizada enjuagando las paredes del cuello del matraz y vortexeando en cada lavado.

Se adicionó hidróxido de amonio 10 M enérgicamente con pizeta la cantidad necesaria para formar un precipitado de color café e insoluble en agua. Se dejó decantar el precipitado y luego se centrifugó a 1.800 rpm durante 30 minutos a 22°C. Terminado el proceso, se descartó el sobrenadante sin perder el precipitado, y se agregó 1 mL de ácido clorhídrico 1N.

III. Etapa: Precipitación 2

Se trasvasió el contenido completo del tubo de 100 mL a tubos de 15 mL y se realizaron 4 lavados en vortex con 2,5 mL de agua desionizada.

Se adicionó hidróxido de amonio 10 M enérgicamente con pizeta la cantidad necesaria para formar un precipitado de color café. Esta precipitación en particular, se hace en vortex cuidando que la formación de precipitado llegue hasta el fondo del tubo. Se dejó decantar el precipitado y luego se centrifugó a 2.500 rpm durante 20 minutos a 22°C. Después, se eliminó el sobrenadante y se agregaron 10 mL de agua desionizada, se agitó en vortex hasta

que se levantó el precipitado y se lavaron las paredes con 5 mL más de agua desionizada. Se repitió la centrifugación a 2.500 rpm durante 20 minutos a 22°C. Luego, se eliminó el sobrenadante y se agregó 0,5 mL de ácido ortofosfórico al 85% p.a. (Merck, Germany) (la muestra queda transparente) y después se precipitó en vortex con 10 mL de cloruro de amonio en etanol 0,05 M, más 5 mL de la misma solución sin vortexear. Se repitió la centrifugación a 2500 rpm durante 20 minutos a 22°C. Después, se eliminó el sobrenadante y se agregaron 4 mL de etanol absoluto (Merck, Germany), se agitó en vortex hasta que se levantó el precipitado y se lavaron las paredes con 8 mL más de etanol absoluto (Merck, Germany). Se repitió la centrifugación a 2.500 rpm durante 20 minutos a 22°C y se eliminó el sobrenadante.

IV. Etapas: Conteo

A cada tubo, se agregó 4 mL de Ultrafluor (Complete liquid scintillation counting solution for aqueous radioactive samples; Nacional Diagnostics, USA) y se agitó en vortex. Luego, el contenido de los tubos fue trasvasiado a viales de conteo que fueron previamente llenados a tres cuartos de su capacidad con CAB-O-SIL (Thixotropic gelling powder, scintillation grade; Nacional Diagnostics, USA). Los tubos, fueron lavados posteriormente dos veces con 4 mL de Ultrafluor y agitados en vortex para luego ser trasvasiados al vial. Finalmente, cada vial fue agitado en vortex aproximadamente 30 segundos hasta homogenizar el gel y se guardó en cajas en un lugar oscuro durante 48 a 36 horas. Cumplido este tiempo, las muestras estuvieron aptas para su lectura en el contador de centelleo líquido.

BIBLIOGRAFIA

ANAC Asociación nacional de amigos del conejo. s/f.
<<http://www.anacweb.com/modules/>> [consulta: 24 abril 2007].

AOAC Official Methods of Analysis. 1980. 13th ed., Washington, DC; Association of Official Analytical Chemist: 212p.

Beard, JL; Dawson, H; Piñero, DJ. 1996. Iron metabolism: A comprehensive review. Nutr Rev; 54: 295-317.

Eakins, JD; Brown, DA. 1966. An improved method for the simultaneous determination of iron-55 and iron-59 in blood by liquid scintillation counting. Int J. Appl. Radiact Isotopes 17: 191-197.

González, H. (s/f). Mercado nacional de la carne de conejo.<<http://www.indap.gob.cl>> [consulta: 24 abril 2007].

International Anemia Consultative Group (INACG). 1985. Measurements of iron status. Washington: Nutrition Foundation: 35-54.

Instituto de Nutrición de Centroamérica (INCAP); Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2006. Tabla de composición de alimentos de Centroamérica. Segunda edición. Guatemala: 11p.

Hahn, P.F; Bale, W.F; Lawrence, E.O; Whipple, G.H. 1939. Radioactive iron and metabolism in anemia. J Expe Med; 69:739-753.

Hallberg, L; Bjorn-Rasmussen, E; Howard, L; Rossander, L.1979. Dietary heme iron absorption. A discussion of possible mechanisms for the absorption-promoting effect of meat and for the regulation of iron absorption. Scand J Gastroent; 14:769-779.

Hallberg, L; Solvell, L. 1967. Absorption of hemoglobin iron in man. Acta Med. Scand; 181: 335-54.

Martinez-Torres, C; Layrisse, M. 1971. Iron absorption from veal muscle. Am J Clin Nutr; 24: 531-540.

Muñoz, A; Molina, A. 2004. Tratado de Hierro. Acción Medica. España: 931-970.

N.R.C Committee on Animal Nutrition. 1977. Nutrient Requirements of Rabbits, Second Revised Edition: 1-5pp.

Leonart, F; Campo, JL; Valls, R; Castelló, JA; Costa, P; Pontes, M. 1980. Tratado de cunicultura 1, principios básicos, mejora y selección, alimentación. Primera edición. España: 14-83.

Lücker, E; Failing, K; Lange, K; Walker, G; Bülte, M. 1998. Content and Distribution of Iron in Rabbit Meat, A Model Study on Nutritional Values and Bio-Analytical Variance. Academic Press Limited. Germany: 150-154.

Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. (s/f). Tabla de Composición de Alimentos de América Latina. <<http://www.rlc.fao.org/bases/alimento/default.htm>> [consulta: 24 abril 2007].

Palomo, I; Olivares, M; Arredondo, M; Pizarro, F. 2005. Hematológica, fisiopatología y diagnóstico. Editorial Universidad de Talca, Chile: 133-159.

Philpott, CC. 2002. Molecular aspect of iron absorption: insights into the role of HFE in hemochromatosis. *Hepatology* 35: 993-1001.

Pollycove, M; Mortimer, R. 1961. The quantitative determination of iron kinetics and hemoglobin synthesis in human subjects. *J Clin Invest*; 40:753-780.

Póo, D. 1992. Producción, consumo y características generales del conejo de carne en Chile. Tesis de grado de Nutrición y Dietética. U. Chile, Facultad Medicina Norte. Santiago, Chile. 37p.

Raggi, L. 1999. Fisiología y terapéutica para la clínica de pequeños mamíferos y reptiles. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. U. Chile. Santiago, Chile: 41-50.

STATISTICA for Windows. 1997. Release 5.1 '97 Edition, StatSoft, Inc. Tulsa, OK, USA.

Vacha J, Dungal J, Kleinwachter V. 1978. Determination of heme and non-heme iron content of mouse erythropoietic organs. *Exp Hematol.* 6:718-724.