

Nº 2175
24 J



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ABSORCION DE DEHIDROEPIANDROSTERONA A
TRAVES DEL CASCARON DE HUEVO DE GALLINA
DURANTE LA INCUBACION

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A ;

MA. EUGENIA RUBIO LEDESMA



ASESORES: M. EN C. CARMEN MENDEZ HERRERA
MVZ. LAURA PATRICIA NOE MARTINEZ

MEXICO, D. F.

1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ABSORCION DE DEHIDROEPIANDROSTERONA A TRAVES DEL
CASCARON DE HUEVO DE GALLINA DURANTE LA INCUBACION.**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
Para la obtención del Título de
Médico Veterinario Zootecnista.
por

MA. EUGENIA RUBIO LEDESMA

A s e s o r e s

M. en C. Carmen Méndez Herrera
MVZ. Laura Patricia Noé Martínez

México, D.F.

1992

I N D I C E

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
OBJETIVOS.....	8
HIPOTESIS.....	9
MATERIAL Y METODOS.....	10
RESULTADOS.....	13
DISCUSION.....	16
CONCLUSIONES.....	20
CUADROS.....	21
LITERATURA CITADA.....	34

RESUMEN

MA. EUGENIA RUBIO LEDESMA: Absorción de dehidroepiandrosterona a través del cascarón de huevo de gallina durante la incubación. Bajo la dirección de: M. en C. Carmen Méndez Herrera y MVZ. Laura Patricia Noé Martínez.

Se sabe que el cascarón de huevo de las aves es un medio de comunicación entre el embrión y el ambiente externo, constituye una barrera mecánica, es fuente de calcio, ayuda a la conservación de agua y permite el intercambio de moléculas como CO_2 , O_2 y vapor de agua. En el cascarón numerosos canales o poros en forma de tuneles están distribuidos en ángulo recto a la superficie de éste, formando pasajes conectados entre la cara interna y externa del cascarón y la cutícula.

La naturaleza porosa del cascarón se ha aprovechado anteriormente para la administración de fármacos, desinfectantes y hormonas esteroides, sin embargo en el caso de hormonas esteroides no se había determinado la cantidad, ni su cinética de absorción, a través del cascarón de huevo durante la incubación.

Se diseñaron 4 grupos experimentales, uno de ellos de huevo infértil y los 3 restantes de huevo fértil, se incubaron a 37.8°C y 80% de humedad relativa aplicando 2 μl . de Dehidroepiandrosterona (DHEA) marcada con tritio a cada huevo a diferentes días de incubación recuperando dicha hormona mediante extracciones de etanol-acetona 1:1 v/v y midiendo la recuperación final de cuentas radiactivas en un contador de centelleo líquido. Los resultados fueron: a) Hay una etapa de mínima absorción de los 0 a los 4 días de incubación incrementándose conforme ésta avanza, para finalmente reducirse luego de los 12 días de incubación, esto en el caso de los huevos tratados antes de iniciar la incubación, b) se observa una absorción inicial y luego una fase de absorción rápida para el caso del grupo tratado al día 7, y c) existe una absorción inicial mayor y una fase absorción rápida para el grupo marcado el día 14 de incubación. No se aprecian diferencias significativas en absorción entre el grupo de huevo fértil y el infértil.

La cutícula constituye una barrera mecánica que previene la penetración de sustancias al interior del huevo y se modifica o deteriora conforme avanza la incubación, se infiere que la absorción es retrasada o permitida según el día de incubación y podría estar relacionada con la integridad física de la cutícula.

I N T R O D U C C I O N

El cascarón del huevo de las aves es el único medio de comunicación entre el embrión y el ambiente externo. Constituye una barrera mecánica, es fuente de calcio^{25,26}, ayuda a la conservación de agua y permite el intercambio de moléculas como CO₂, O₂ y vapor de agua^{13,19,23}. Se ha calculado que en la superficie del huevo se encuentran entre 8,000 y 10,000 poros con un área funcional real de 2.2 mm² (0.02%) de la superficie total del cascarón^{13,26}, y que a través de él, pasan aproximadamente 6.6 g de O₂ y 7.6 g de CO₂ durante la incubación de un huevo de 60g^{15,18}. La naturaleza porosa del cascarón^{15,16} se ha aprovechado para la administración de fármacos^{13,14}, desinfectantes^{7,11,13} y hormonas esteroides^{19,20,21}, incluso por esta vía penetran microorganismos, tanto bacterias como virus^{13,14,16}, que causan importantes problemas a la avicultura.

La formación del cascarón se realiza durante el paso del óvulo maduro a través del oviducto, específicamente en las porciones del itmo y el útero (Fig. 1). En el itmo se forman las membranas interna y externa del cascarón (1.15 hrs.), mismas que se encuentran entre la albúmina y la superficie interna del cascarón^{13,24,25}. La membrana externa está firmemente adherida al cascarón por numerosas fibras que se introducen a la región mamilar del mismo. Las fibras de la

membrana tienen un alto contenido de polisacáridos. La membrana externa tiene 6 capas de fibras orientadas alternativamente en diferentes direcciones. La membrana interna tiene 3 capas de fibras paralelas al cascarón. Se sabe que las proteínas de las membranas del cascarón tienen un alto contenido de histidina, cistina y prolina²³.

En el útero, también llamado "glándula del cascarón" se lleva a cabo la calcificación de la cáscara (15-16 hrs.). El cascarón del huevo está formado en su mayor parte por una matriz tejida de fibras y masas esféricas de proteína y de cristales intersticiales de calcita, una de las formas cristalinas que puede adoptar el carbonato de Calcio²⁵. La proporción de matriz y de material cristalizado es de 1:50 aproximadamente²³ (Fig.1).

La matriz ha sido dividida en 2 regiones la mamilar y la esponjosa según sus diferencias en capacidad de tinción a polisacáridos, la afinidad para cationes y la resistencia a ser destruido al ser hervido en NaOH al 10%. Los cristales de calcio están orientados al azar hacia el interior de la matriz mamilar para formar un cono, los conos están cementados juntos en la parte alta para formar una masa cohesiva. La matriz esponjosa tiene finas fibras de 0.04µ de diámetro las cuales corren paralelas a la superficie del cascarón y están asociadas a numerosas vesículas (0.04µ en diámetro). Los cristales dentro de la matriz esponjosa calcificada (capa palizada) tiene sus ejes orientados hacia la superficie del cascarón. Las fibras de

la matriz esponjosa pasan a través de los cristales en lugar de simplemente rodearlos. La composición elemental de los cristales del cascarón se considera que es: 98.2% calcio, 0.9% magnesio y 0.9% fósforo en forma de fosfato. El fósforo se detecta en la región del cono pero la mayor parte de este y de magnesio se encuentran en la porción externa del cascarón^{23,25}.

Numerosos canales o poros en forma de túneles están distribuidos en ángulo recto a la superficie del cascarón, formando pasajes conectados entre la membrana y la cutícula, dichos poros no están distribuidos uniformemente sobre la superficie, son más abundantes en el polo redondeado, y menos en el polo de la punta aguda. En su interior los poros tienen fibras de proteína²³ (Fig.2). La cáscara del huevo pesa en promedio 5g, un 40% de ésta es calcio (2g)^{25,26,27} (Fig.2). La cutícula forma una capa protectora de 10-30 μ de grosor sobre la superficie del cascarón, cubre los poros e impide la invasión bacteriana hacia el contenido del huevo^{4,16,17,23}. Tiene dos capas, una adyacente al cascarón con apariencia esponjosa y otra capa externa más compacta. Se compone de 90% de proteína con alto contenido de glicina, ác. glutámico, lisina, cistina y tirosina. Como constituyentes de polisacáridos están presentes hexosamina, galactosa, manosa y fucosa²³, posiblemente se encuentre un poco de material lipídico¹⁰. La cutícula se deposita sobre la cáscara cuando ésta se encuentra ya completamente calcificada, un poco antes de la puesta²⁵. Experimentalmente se ha demostrado que la

cutícula del huevo previene la penetración de la tinta china en la mayoría de los poros y aparentemente está involucrada en la conservación de agua en condiciones de sequedad, ya que su remoción incrementa la penetración de líquidos al cascarón de huevo⁵. Asimismo se ha observado que la absorción de antibióticos puede incrementarse si se remueve una pequeña parte de la cutícula¹. La cutícula se deteriora con la edad del huevo^{2,3}, con la fumigación, si se almacena a 24 °C, por la acción de ácidos débiles, o por digestión por mohos. Asimismo se ha observado que hay marcadas diferencias entre las gallinas de una misma raza en el grosor de la cutícula y su distribución sobre la superficie del huevo³. También se indica que la calidad del huevo está relacionada con el grosor de la cutícula⁶.

La Dehidroepiandrosterona es una hormona esteroide y está constituida por 3 anillos de ciclohexano y 1 anillo de ciclopentano. Al conjunto se le denomina ciclopentanoperhidrofenantreno o el núcleo esteroide. Dentro de los esteroides la DHEA corresponde al grupo de los androstane (C19), con un grupo hidroxilo en posición 3 β y un grupo cetona en posición 17 β . (5-androsten-3 β -ol-17-one).

Es el principal andrógeno suprarrenal el cual es producida por el desdoblamiento de la cadena lateral de la 17-hidroxipregnenolona. Su efecto androgénico es débil y es similar al resto de los andrógenos afectando las características sexuales secundarias. Su síntesis se lleva a

cabo en la zona fascicular de la corteza suprarrenal. La síntesis y secreción de la DHEA está controlada por la adenocorticotropina (ACTH) de la hipófisis.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Una de las características de las hormonas esteroides es su baja solubilidad en agua y ser sustancias liposolubles^{8,12}. Estas propiedades van a determinar que su absorción a nivel del cascarón difiera de las sustancias hidrosolubles. En la literatura citada se ha mencionado la aplicación de estas hormonas sobre cascarón con fines experimentales, sin embargo no se conoce la manera cómo se absorben.

En este trabajo se utiliza Dehidroepiandrosterona (DHEA), un esteroide de 19 átomos de carbono, como ejemplo que permita valorar el pasaje a través del cascarón de hormonas de tipo esteroideo.

Se considera importante la obtención de esta información por su posible utilidad como técnica de administración de sustancias esteroides a través del cascarón de huevo gallina con fines de investigación científica.

OBJETIVOS

1. Evaluar la cantidad de DHEA que se introduce al huevo durante la incubación.

2. Estimar la velocidad de absorción de DHEA durante el período de incubación.

3. Determinar si la edad del embrión en el momento en que se aplica la DHEA influye en su velocidad de absorción.

H I P O T E S I S

Si se aplica Dehidroepiandrosterona sobre el cascarón del huevo de gallina previo a la incubación, ésta será introducida al huevo mientras se incubaba.

MATERIAL Y METODOS.

En el Departamento de Embriología de la Facultad de Medicina de la UNAM, se utilizó huevo fértil e infértil de gallina White Leghorn Babcock B-300 (Alpes, S.A) dentro de los 3 días posteriores a la postura. Se incubaron a 37.8 °C durante 21 días y 80% de humedad relativa en incubadora-nacedora con circulación forzada de aire.

Se aplicaron 2 μ l de la hormona Dehidroepiandrosterona (Fig.3) marcada con tritio (3 H-DHEA), (NEN Research products), P.M. 288.4. La solución de DHEA fue diluida tomando 100 μ l de la DHEA marcada concentrada en alcohol absoluto más 20 μ l de rojo fenol en agua y 80 μ l de agua resultando una solución de DHEA en alcohol al 50% v/v. Esta se depositó sobre el cascarón en el primer tercio cercano a la cámara de aire del huevo, dentro de un círculo de 5 mm² de diámetro previamente marcado con lápiz. Se tomaron muestras de la solución de 3 H-DHEA al inicio, a la mitad y al final de su aplicación y se calculó el promedio de las tres mediciones con el objeto de determinar el número de cuentas (CPM) que se aplicaron, a las cuales se dió el nombre de Cuentas Aplicadas (C.A.). Se diseñaron cuatro grupos experimentales:

Primer grupo: (n=200) de huevos fértiles recibió 2 μ l de 3 H-DHEA el día cero de la incubación.

Segundo grupo: (n=50) de huevos fértiles recibió 2 μ l de 3 H-DHEA el día siete de incubación.

Tercer grupo: (n=50) de huevos fértiles recibió 2 μ l de 3 H-DHEA el día catorce de incubación.

Cuarto grupo: (n=50) de huevos infértiles recibió 2 μ l de 3 H-DHEA el día cero de incubación.

A las 2 hrs. post-aplicación y luego cada 2 días de incubación, se tomaron muestras para evaluar la cantidad de marca radiactiva que se recuperaba en la zona tratada. En el caso del huevo fértil sólo se registraron las mediciones cuando el embrión estaba vivo al momento de tomar la muestra.

Para obtener la muestra del cascarón se desprendió el área marcada con una pequeña sequeta y pinzas. Cada muestra se manejó individualmente en viales de vidrio. La recuperación de la hormona remanente en cascarón se hizo por extracción con 5 ml de etanol-acetona 1:1 v/v. Las extracciones se hicieron tres veces con una duración de 3 días cada una. Se colectó en un mismo vial el solvente de cada muestra para su posterior evaporación, la cual se hizo en baño maría a 37 °C bajo campana de extracción hasta su total evaporación, luego se agregaron 5 ml de líquido de centelleo y se contó la marca radiactiva en contador de centelleo líquido Beckman.

Las cuentas recuperadas del cascarón dentro de las 2 hrs. post-aplicación (tiempo cero) se les llamó Cuentas Iniciales (C.I.). Las cuentas recuperadas a tiempos distintos del cero se denominaron C.R. El porcentaje de recuperación

inicial (Ri) se tomó como la relación entre las cuentas
iniciales y las cuentas aplicadas. $Ri = \frac{C.I.}{C.A.} \times 100$

La recuperación del cascarón (Rc) en los distintos días de
incubación se expresó como porcentaje en relación a la C.I.

$$Rc = \frac{C.R.}{C.I.} \times 100$$

Los resultados se analizaron estadísticamente por medio
de análisis de varianza (ANOVA), Prueba de Tukey, Polinomios
ortogonales y contrastes utilizando el Software Statistic
Analysis System (SAS). Se consideró significativa una
diferencia cuya $P < 0.05$.

R E S U L T A D O S

En el primer grupo experimental de huevo fértil, al cual se le aplicó la DHEA marcada al día cero (previo al inicio de la incubación), se obtuvieron valores promedio de 94.2% de recuperación inicial, lográndose una recuperación del 95.5 en el 2o. día, 94.65% el cuarto día y 75.05% el 6o. día. Luego la recuperación baja hasta el 37% al día 11 para finalmente llegar al 34% a los 21 días de incubación. La curva de recuperación muestra un comportamiento que se puede dividir en 3 etapas; la primera de absorción lenta constituida por los 4 primeros días de la incubación donde se observa una absorción muy discreta, la 2a. de absorción rápida que comprende del día 4 al día 10 aproximadamente donde muestra una rápida y creciente absorción y la 3a. de absorción lenta comprendida entre los días 11 y 21 de incubación, Cuadro I (Fig.5).

El segundo grupo experimental de huevos fértiles, al cual se le aplicó la DHEA marcada el día 7 de incubación, se obtuvo 79% de recuperación inicial y las recuperaciones posteriores: 76.4% el día 9 (2o. día post-aplicación), 61.1% el día 11 (4o. día post-aplicación) y 57% el día 13 (6o. día post-aplicación) (Fig.5). Para este grupo la absorción comienza con la etapa rápida, no observándose la primera fase de absorción lenta descrita anteriormente.

El tercer grupo de huevos fértiles a los que se les aplicó la DHEA marcada el día 14, registró un porcentaje de Recuperación Inicial (Ri) de 69.4%, obteniéndose, sobre este valor inicial, un 83.51% de recuperación (Rc) al 20. día post-aplicación, 71.5% al 40. día post-aplicación y un 63.2% de recuperación al 60. día post-aplicación. Este grupo también inicia la absorción rápida sin presentar la primera etapa de absorción lenta (Fig.6).

Respecto al cuarto grupo experimental, de huevo infértil que recibió la DHEA marcada el día cero, se obtuvo 100% de recuperación inicial, obteniendo 58% de recuperación el día 7, 43.8% el día 14 y 47.7% el día 21, Cuadro II (Fig.7).

La comparación de la recuperación con la Prueba de Tukey entre el huevo fértil e infértil, no muestra ninguna diferencia significativa (Fig.7).

El comportamiento de las 3 curvas de absorción a los 2, 4 y 6 días posteriores a la aplicación cuando la misma se realiza a diferentes tiempos de incubación se compara en el Cuadro III, Fig. 8. La Prueba de Polinomios ortogonales demostró que las 3 curvas se comportan linealmente con una $P < .01$. El grupo que recibió la DHEA el día cero de incubación tiene la primera etapa de absorción lenta hasta el día 4 y continúa con la etapa de la absorción rápida. Para los grupos marcados el día 7 y 14 de incubación, la absorción es muy similar entre ellos, ambos carecen de la primera etapa de absorción lenta y presentan la fase de absorción rápida. El

análisis de contrastes muestra que en el caso de tratamiento al día 0 vs día 7, la recuperación es significativamente diferente, lo mismo que para el día 0 vs día 14, no así, comparando día 7 vs día 14.

La recuperación inicial se compara en el Cuadro IV, Fig.9 y muestra que dicha absorción es mayor cuando la DHEA se aplica el día 14 de incubación ya que al aplicarse al día 0 se recupera el 94.2%, al día 7 el 79% y al día 14 el 69.4%. El análisis de varianza demuestra que hay diferencias significativas entre ellas. Comparando los tratamientos con la Prueba de Tukey, 0 vs 7 y 0 vs 14 se tiene una $P_s .05$ y no hay diferencia entre 7 vs 14.

D I S C U S I O N

Este procedimiento que utiliza la DHEA marcada con ^3H , hace posible cuantificar mediante una medición confiable, la cantidad de cuentas radiactivas aplicadas al cascarón. La utilización de un colorante junto con la hormona y el que se haya depositado en un área previamente delimitada facilita la obtención de la muestra, evitando la posibilidad de dejar alguna área con hormona radiactiva en el resto del cascarón. El método de extracción (durante 9 días) demostró ser eficiente al obtener una recuperación de casi el 100% de las cuentas radiactivas aplicadas al cascarón del huevo no incubado. El cascarón está constituido por material estable y uniforme, pudiendo delimitar un área pequeña de trabajo que permite obtener resultados confiables. Si se tratara de localizar la hormona que penetró al interior del huevo, ésta debería extraerse en un volúmen muy grande, constituido por material biológico con proteínas precipitables lo que dificultaría su recuperación y por lo tanto daría resultados más variables.

Se infirió que las cuentas no recuperadas pasaron al interior del huevo, absorción de la hormona, en virtud de que es poco probable su pérdida hacia el medio ambiente⁵, además como se observa en los resultados experimentales, ésta presenta una cinética de absorción muy definida y reproducible

para pasar a través del cascarón.

En la incubación de 21 días, y cuando se aplicó la hormona al día cero de incubación, los resultados muestran que en los primeros 4 días hay una absorción muy discreta de la hormona, sin embargo es más evidente al 60. día y se incrementa conforme avanza la incubación. Esto podría explicarse porque los primeros días, la cutícula del huevo está íntegra, lo que hace al cascarón casi impermeable a la hormona y se modifica conforme avanza la incubación por el deterioro natural de la cutícula^{2,3}. Existe también una etapa de estabilización en la absorción de la hormona, a partir del día 11 de incubación, misma que podría deberse a que el remanente de la DHEA que se aplicó quedó lejos de los poros, que son el sitio de absorción o bien que se fijó a algún componente químico del poro que lo retuvo. Si la hormona es aplicada al día 7 de incubación, la absorción inmediata es evidente no existiendo el lapso de absorción lenta antes mencionada, al aplicar la hormona al día 14 de incubación, la entrada de la hormona es más rápida aún, lo que confirma la hipótesis de que la absorción está permitida por el deterioro o la modificación natural de la cutícula durante la incubación.

Una de las posibilidades que se consideró para explicar este fenómeno de absorción retardada, es que se empezara a absorber cuando el embrión desarrollara su membrana corioalantoidea¹³ sin embargo, aparentemente no hay intervención por parte del embrión para impedir o permitir la absorción de la hormona.

Esto se demuestra comparando los resultados de los experimentos con huevo fértil e infértil, ambos son muy similares a lo largo de la incubación. Lo anterior evidencia que existe una barrera para la penetración inicial de la hormona al interior del huevo debida a los componentes propios del cascarón, misma que parece deteriorarse o disminuir conforme avanza la incubación. En base a lo expuesto se considera que la barrera es más física que biológica.

Como ya lo hemos mencionado, la cutícula constituye una barrera para la penetración de líquidos y bacterias^{4, 6, 17, 23}, pero a lo largo de la incubación, tanto el cascarón como la cutícula sufren un constante deterioro de su integridad estructural^{2, 3}. La curva de absorción durante la incubación completa para huevo fértil e infértil es similar, ambos grupos fueron sometidos a iguales condiciones de incubación donde prevaleció un ambiente de humedad, factor que según los autores³, deteriora la capa protectora que proporciona la cutícula y ésta permite a partir de ese momento el paso de la hormona.

Estos resultados son importantes experimentalmente porque demuestran que no se obtiene el mismo efecto al aplicar un tratamiento hormonal al día 0, 7 y 14 de incubación ya que la permeabilidad del cascarón a la hormona es diferente. La diferencia se observa tanto en la absorción inicial como en el comportamiento de absorción subsecuente durante el desarrollo de la incubación.

Otra observación de interés es que las hormonas esteroides, que son poco hidrosolubles, se absorben muy lentamente, por lo que se logra una administración de depósito. El cascarón actúa como factor de retención pero sin embargo al final se absorbe el 60% de lo aplicado. Este hecho es muy interesante porque el metabolismo de las hormonas esteroides es rápido y en general se requiere su administración prolongada, incluso generalmente se las incluye en cápsulas de Silastic para obtener su efecto biológico en humanos.

Sería interesante evaluar por otros métodos cual es la modificación de la cutícula durante la incubación y su papel en la permeabilidad a hormonas y sustancias de interés veterinario, tanto en el aspecto productivo como de investigación científica.

CONCLUSIONES

1. La DHEA aplicada en la superficie del cascarón se absorbe lentamente través de éste, durante la incubación del huevo de gallina.
2. La cantidad de DHEA que penetra al interior del huevo durante la incubación es similar en el huevo fértil y el infértil, lo que sugiere que la absorción del esteroide no es modificada por la presencia del embrión.
3. La cantidad de hormona que penetra inicialmente al huevo depende del tiempo de incubación del mismo siendo mayor al aumentar el tiempo de incubación.
4. Durante los primeros 4 días de incubación la penetración de la hormona es mínima y la curva temporal de absorción depende del tiempo de incubación en que se aplique el esteroide.

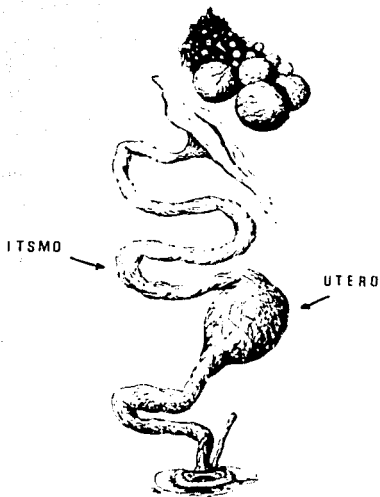


Fig. 1. Aparato reproductor femenino de la gallina doméstica. En la región del itsmo y el útero se lleva a cabo la formación y calcificación del cascarón del huevo.

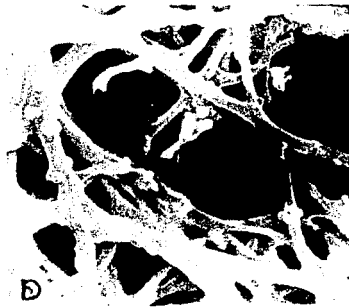
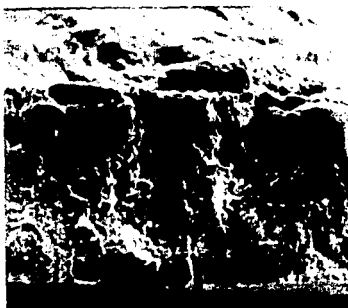
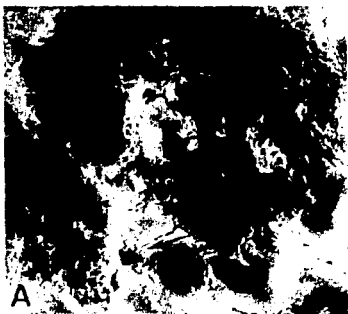
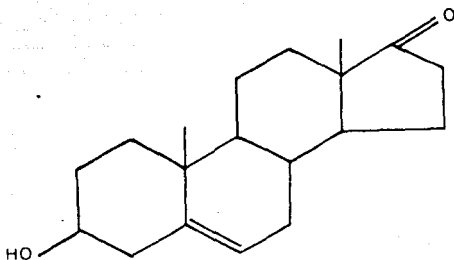


Fig. 2. A) Poros en la superficie del cascarón. B) Sección transversal del cascarón del huevo mostrando el trayecto del canal del poro. C) Unión de dos cuerpos mamilares formando un poro. D) Matriz esponjosa de fibras de 0.04m de diámetro asociadas a numerosas vesículas.



DHEA

Fig. 3. Estructura química de la Dehidroepiandrosterona.

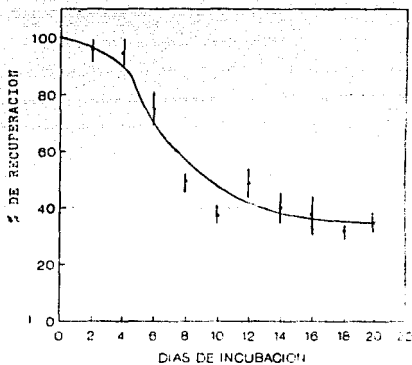


Fig. 4. Curva de decaimiento de la DHEA recuperada del cascarón a diferentes días de incubación. La hormona se aplicó al día 0. Los resultados muestran la media \pm el error estándar.

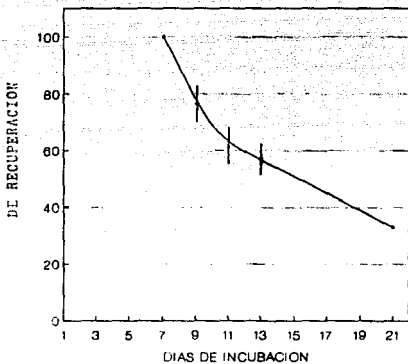


Fig. 5. Curva de decaimiento de la DHEA recuperada del cascarrón a los 2,4,6 y 21 días post-aplicación. La hormona se aplicó al día 7 de incubación. Los resultados muestran la $\bar{X} \pm$ el error estándar.

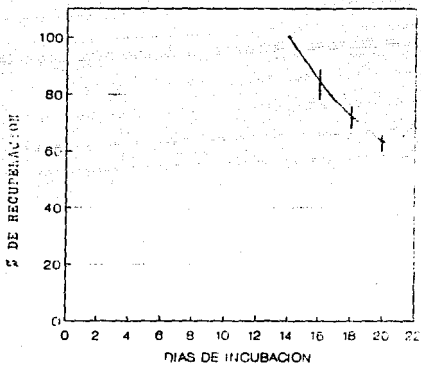


Fig. 6 Curva de decaimiento de la DHEA recuperada del cascarón a los 2, 4 y 6 días post-aplicación. La hormona se aplicó al día 14 de incubación. Los resultados muestran la $\bar{X} \pm$ el error estándar.

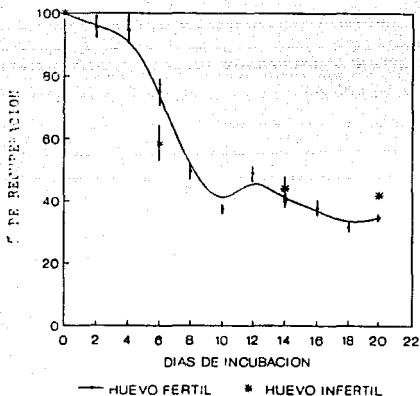


Fig. 7. Comparación en la recuperación de DHEA del cascarrón (R.C.) entre el huevo fértil e infértil durante la incubación completa. Los resultados muestran la $\bar{X} \pm$ el error estándar.

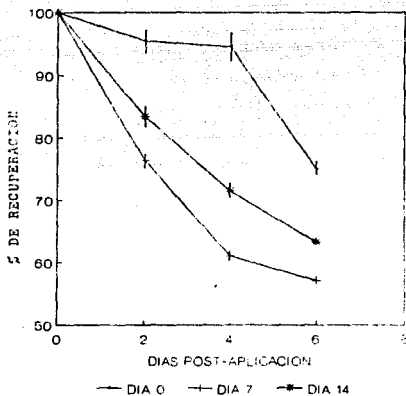


Fig. 8. Comparación en la recuperación de DHEA del cascarón durante los días 2,4 y 6 post-aplicación, cuando la misma se aplica en diferentes días de incubación. Los resultados muestran la \bar{X} + el error estándar.

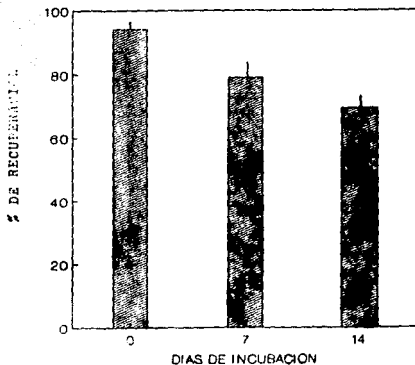


Fig. 9. Comparación de la recuperación inicial de DHEA del cascarón cuando se aplicó a los días 0, 7 y 14 de incubación. Los resultados muestran la $\bar{X} \pm$ el error estándar.

ABSORCION DE DHEA EN CASCARON		
DURANTE LOS 21 DIAS DE INCUBACION.		
DIAS DE INCUBACION	NUMERO DE CASOS	PORCENTAJE DE RECUPERACION
0	21	100
2	16	95.8
4	15	93.8
6	18	75.7
8	8	49.5
10	8	43.1
12	8	40.7
14	17	37.8
16	8	35.4
18	19	34.4
21	36	34.4

Cuadro I. Los porcentajes de recuperación disminuyen conforme avanza la incubación, siendo esto más evidente después del 4o. día.

COMPARACION ENTRE HUEVO FERTIL E INFERTIL					
HUEVO FERTIL			HUEVO INFERTIL		
DIA	n	% R.C.	n	DIA	% R.C.
0	20	100	10	0	100
7	8	71.1	9	7	62
14	17	40.7	9	14	43
21	36	34.4	10	21	41

Cuadro II. Comparación de los porcentajes de recuperación (Rc) entre el huevo fértil y el infértil.

ABSORCION DE DHEA A DIFERENTES SEMANAS DE INCUBACION EN HUEVO FERTIL						
TOMA DE MUESTRA	PORCENTAJE DE RECUPERACION					
	DIA DE APLICACION					
DIA	n	DIA CERO	n	DIA SIETE	n	DIA CATORCE
0	20	100	15	100	15	100
2	16	95.8	15	77.1	15	83.2
4	15	93.8	15	65.3	22	70
6	18	75.7	14	58	25	61

Cuadro III. Comparación de los porcentajes de recuperación (Rc) entre diferentes tiempos de aplicación de DHEA.

ABSORCION INICIAL ³ H-DHEA		
DIA DE INCUBACION	NUMERO DE CASOS	PORCENTAJE DE RECUPERACION
0	20	92.3
7	15	76.9
14	15	69.4

Cuadro IV. Se compararon los tratamientos 0 vs 7 y 0 vs 14 con la prueba de Tukey Studentized Range, el resultado fue significativamente diferente con una P<5%. Para la comparación 7 vs. 14 no hubo diferencia significativa.

L I T E R A T U R A C I T A D A

- 1.- Alls, A.A. et al: Treatment of hatching eggs for diseases prevention-factors affecting permeability and a visual detection of drug absorption. *Avian Dis.* 8: 245-256(1964).
- 2.- Baker, J.R. y Balch, D.A.: A study of the organic material of the hen's eggshell. *Biochem. J.* 82 352-361 (1962).
- 3.- Ball, R.F., Logan V. and Hill, J.F.: Factors affecting the cuticle of the egg as measured by intensity of staining. *Poult. Sci.* 54: 1479-1484 (1975).
- 4- Board, R.G.: The course of microbial infection of the hen's egg. *J. Appl.Bact.,* 29: 319-341 (1966).
- 5.- Board, R.G.: The cuticle: a barrier to liquid and particle penetration of the shell of the hen's egg. *Br. Poult. Sci.* 14: 69-97 (1973).
- 6.- Cacho, A.J.: Distribución de la gravedad específica y su relación con el grosor de la cutícula de huevo procedentes de reproductoras pasadas de 60 semanas de edad. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional*

- Autónoma de México. México, D.F. 1991.
- 7.- Ensminger, M.E.: Poultry Science 2nd. edition. *Printers and Publishers Inc.* Danville, Ill. 1980.
- 8.- Ganong, W.F.: Fisiología Médica. 11a. edic. *El Manual Moderno.* México, D.F. 1988.
- 9.- Glick, B.: Influence of dipping eggs in male hormone solutions on lymphatic tissue and antibody response of chickens. *Endocrinology.*, 69: 984-985 (1961).
- 10.- Hodges, R.D.: The histology of the fowl; *Academic Press,* London, 1974.
- 11.- Insko, W.M., Steele, D.C. and Hinton, C.M.: The hatchability of chickens eggs as influenced by environment and heredity. *Agr. Expl. Sta. Bull.* 416: 117-138 (1980).
- 12.- Martín, D.W., Mayes, P.A. y Rodwell, V.W.: Bioquímica de Harper. 9a. edic., *El Manual Moderno,* México, 1984.
- 13.- North, M.O. y Bell, D.D.: Commercial chicken production manual. 4a. edic. *AVI.* N.Y. 1990.
- 14.- Quintana, J.A.: Avitecnia. 3a. edic. *Edit. Trillas.* México, D.F., 1988.

- 15.- Rahn H.: Pores and gas exchange of avian eggs. A review. *The Journal of Experimental Zoology supplement* 1:165-172 (1987).
- 16.- Rauch, W.: The influence of egg-shell porosity on the number of chickens hatched from incubating eggs. *Poult. Sci* 31: 589-594 (1951).
- 17.- Romanoff, A.L.: Why some eggs do not hatch. *Cornell Univ. Bull. No. 205* 540-541 (1931).
- 18.- Romanoff, A.L.: *Biochemistry of the Avian Embryo. Willy-Interscience. N.Y., 1967.*
- 19.- Romanoff A.L. : *Pathogenesis of the Avian Embryo. Willey-Interscience. N.Y., 1972.*
- 20.- Salzgeber, B., Reyss-Brion, M., et Baulieu, E.E.: Modifications des gonades femelles de l'embryon de poulet après l'action du tamoxifene. *C.R. Académic Sc. Sér. III. 293: 133-137 (1981).*
- 21.- Scheib, D. et Baulieu, E.E.: Action antagoniste du tamoxifene sur la differenciation normale des gonades femelles de l'embryon de caille. *C.R. Acad. Sc., 293: Sér. III 513-518*

(1981).

22.- Simons, P.C. and Wiertz, G.: Notes on the structure of membranes and shell in the hen's egg. An electron microscopical study. *Z. Zellforsch* 59: 555-567 (1963).

23.- Stadelman, W.J. and Cotterill, O.J.: Egg Science and Technology. 2nd. edit. *AVI.*, 1977.

24.- Sturkie, P.D.: Avian Physiology. 2nd. edition. *Comstock Publishing Associates*. N.Y. 1965.

25.- Taylor, T.G.: Como se forma la cáscara del huevo. En: Vertebrados estructura y función. Editado por H. Blume Ediciones., 395-402, *Selecciones de Scientific American*, 1970.

26.- Tullett, S.G., Lutz, P.L., and Board, R.G.: The fine structure of the pores in the shell of the hen's egg. *Br. Poult. Sci.* 16: 93-95 (1975).

27.-Tyler, C.: Avian eggs: their structure and characteristics. *Int. Rev. Gen. Exp. Zool.* 4: 82-127 (1969).