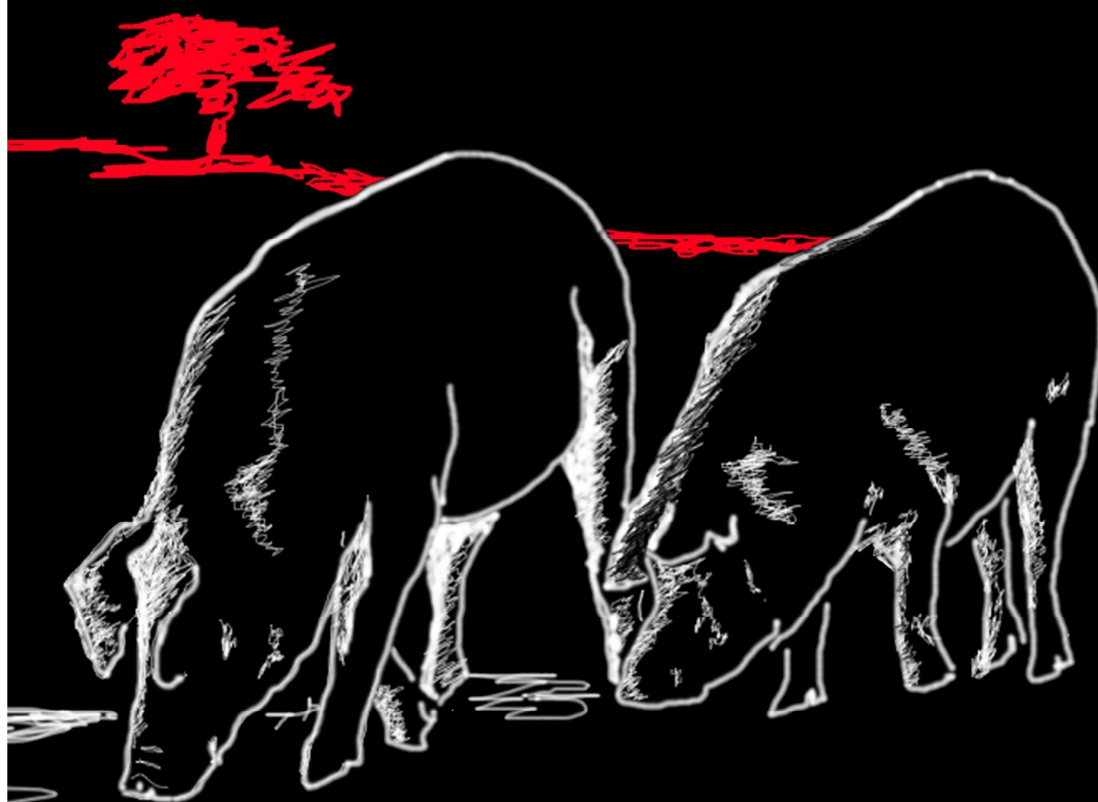


CONTRIBUCIÓN AL GASTO ENERGÉTICO  
DE LAS VÍSCERAS QUE DRENAN AL  
SISTEMA PORTA EN CERDOS IBÉRICO  
Y LANDRACE EN CRECIMIENTO



TESIS DOCTORAL

---

José Miguel Rodríguez López  
Granada, 2011



# **CONTRIBUCIÓN AL GASTO ENERGÉTICO DE LAS VÍSCERAS QUE DRENAN AL SISTEMA PORTA EN CERDOS IBÉRICO Y LANDRACE EN CRECIMIENTO**



José Miguel Rodríguez López

*Portada: María Rodríguez López.*

*Fotografías tomadas en el Instituto de Nutrición Animal de la Estación Experimental del Zaidín del Consejo Superior de Investigaciones Científicas en Armilla (Granada).*

# CONTRIBUCIÓN AL GASTO ENERGÉTICO DE LAS VÍSCERAS QUE DRENAN AL SISTEMA PORTA EN CERDOS IBÉRICO Y LANDRACE EN CRECIMIENTO

**José Miguel Rodríguez López**

**TESIS DOCTORAL**

**Granada, 2011**



*Facultad de Ciencias  
Universidad de Granada*



*Instituto de Nutrición Animal  
Estación Experimental del Zaidín*



*Consejo Superior de  
Investigaciones Científicas*

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: José Miguel Rodríguez López  
D.L.: GR 1132-2012  
ISBN: 978-84-695-1025-4



Los doctores Ignacio Fernández-Fígares Ibáñez y Manuel Lachica López, Científicos Titulares del Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal de la Estación Experimental del Zaidín (Granada), Consejo Superior de Investigaciones Científicas,

informan:

Que la memoria titulada “Contribución al gasto energético de las vísceras que drenan al sistema porta en cerdos Ibérico y Landrace en crecimiento” presentada por José Miguel Rodríguez López para optar al grado de Doctor, ha sido realizada bajo su dirección y, considerándola acabada, autorizan su presentación para que sea juzgada por la comisión correspondiente.

Y para que así conste, firman en Granada, a 28 de octubre de 2011.

Ignacio Fernández-Fígares Ibáñez

Manuel Lachica López





La realización de la presente Tesis Doctoral se ha llevado a cabo gracias a la concesión de una beca del programa de Formación del Profesorado Universitario del Ministerio de Educación (Ref. AP2006-01855). El trabajo que se expone forma parte del proyecto de referencia AGL2006-05937/GAN titulado “*Regulación del metabolismo proteico y energético en tejidos espláncnicos del cerdo Ibérico*” financiado por el Plan Nacional del Ministerio de Ciencia e Innovación.

La dirección de esta Memoria de Tesis Doctoral la han llevado a cabo los Dres. Ignacio Fernández-Fígares Ibáñez y Manuel Lachica López, del Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal, de la Estación Experimental del Zaidín (Granada), del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Para su realización ha sido fundamental la inestimable colaboración de las empresas Sánchez Romero Carvajal Jabugo, S. A. (Sevilla) y Granja el Arenal (Córdoba).

Resultados preliminares de los ensayos que recoge la presente Memoria de Tesis Doctoral han sido presentados en los siguientes congresos:

Lachica, M., Rodríguez-López J. M., González-Valero, L. Fernández-Fígares, I. 2009. Energy expenditure of splanchnic tissues in Iberian and Landrace growing gilts. 11<sup>th</sup> International Symposium on Digestive Physiology of Pigs. Montbrió del Camp (Tarragona). España.

Lachica, M., Rodríguez-López J. M., González-Valero, L., Fernández-Fígares, I. 2009. Energy expenditure of splanchnic tissues relative to the total in Iberian growing gilts. 60<sup>o</sup> Congreso de la European Association for Animal Production (EAAP). Barcelona, Spain.

Fernández-Fígares, I., Rodríguez-López, J. M., González-Valero, L., Lachica, M. 2010. Energy expenditure of portal drained viscera relative to the total in Iberian vs. Landrace growing gilts. ISEP- 3<sup>rd</sup> EAAP International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition. Parma, Italy.

Rodríguez-López, J. M., González-Valero, L., Lachica, M., Fernández-Fígares, I. 2010. Heat production of portal drain viscera (PDV) relative to the total in Iberian vs. Landrace gilts. 7<sup>th</sup> International Symposium on Mediterranean pig. Córdoba, Spain.

Rodríguez-López, J. M., Lachica, M., González-Valero, L., Fernández-Fígares, I. 2011. Catheterization of portal vein and carotid artery for studies of nutrient metabolism in iberian and landrace pigs. Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (A.I.D.A.). ITEA-XIV Jornadas sobre producción animal. Zaragoza, Spain.

y, así mismo, forman parte de las siguientes publicaciones:

Rodríguez-López, J. M., Lachica, M., González-Valero, L., Fernández-Fígares, I. 2011. Catheterization of portal-drained viscera and carotid artery for studies of nutrient metabolism in a modern and a native pig breed. *Livestock Science*. En evaluación.

Rodríguez-López, J. M., Lachica, M., González-Valero, L., Fernández-Fígares, I. 2010. Energy expenditure of splanchnic tissues in Iberian and Landrace growing gilts. *Livestock Science*, 133:61-63.

Rodríguez-López, J. M., Lachica, M., González-Valero, L., Fernández-Fígares, I. 2011. Portal-drained viscera and total heat production in Iberian and Landrace growing gilts. *Journal of Animal Science*. En evaluación.



*A mis padres y hermanas*



---

***Agradecimientos***

---





*En primer lugar, y por encima de toda obligación, me gustaría agradecer a mis directores de Tesis la paciencia, sencillez y caballerosidad mostrada desde el inicio hasta el final de estos 4 años. Agradecer a Ignacio Fernández-Fígares el que me haya dado la oportunidad de comenzar mi andadura en el mundo científico e, igualmente, su paciencia infinita ante mis miles de dudas, preguntas y consultas, sus buenos modos tras mis despistes y errores cometidos, y su ayuda en los frecuentes momentos de estrés ante los “sencillos y escasos” trámites administrativos. Del mismo modo, agradecer a Manolo Lachica, sus explicaciones, su increíble capacidad para detectar hasta el error más insospechado, sus ánimos y consejos, su sentido del humor y sus caminatas al filo de lo imposible.*

*Agradecer a mis compañeros y amigos del INA en Armilla el gran cariño recibido desde el primer día que llegué y sus ánimos siempre que nos encontrábamos por los pasillos. Me gustaría agradecer personalmente a Ana Haro su amabilidad y generosidad mostrada, así como sus intervenciones y ayuda en el laboratorio que me han facilitado y salvado los análisis en más de una ocasión. A Rafa Hueso y Juan Vera, por reparar rápido, bien y con humor los aparatos que se estropeaban siempre en el momento más inoportuno. A Alejandro Morales, por su binaria ayuda, presencial y virtual. A Paco Funes, por no negarse nunca a echarme una mano, o dos, con el manejo de los cerdos. A Mari Ángeles, Mari Carmen y María, por el esfuerzo en perdonarme la vida cuando entraba apaciblemente en un cuarto recién fregado. A Rebeca, por su simpatía, sus bromas y ese curso de esquí. A Bea Ruiz, por esas peleas ficticias liberadoras de estrés. A todos los niños de prácticas, en especial a Fran Olivas, Ana Contreras y Mari Carmen Arques, por vuestro significativo paso por Armilla. Y a los becarios de cabras: Gonzalo Martínez, por esos momentos inolvidables en Francia como la subida, o más bien bajada, al Puy de Dôme o aquel viaje accidentado a París; Eva Soto, por sus inteligentes respuestas, explicaciones y ayuda; Manolo y Tamara, por su simpatía y buenos momentos dentro y fuera del centro; Leticia, por su objetividad y honestidad, y Eva Ramos, por su gracia natural que siempre consigue hacerme reír y, vale sí, también por sus consejos.*

*Agradecer muy especialmente, a mi grupo. A Rosa Nieto y Pepe Aguilera, por responderme siempre a cualquier pregunta, consulta o petición con una sonrisa. A Luis Lara, por su significativa ayuda, sus útiles consejos, estadísticos o no, sus bromas y sus imprevistas collejas que me quitaban el sueño de golpe. A Angustias Rodríguez, que me enseñó lo que es la eficacia y el trabajo bien hecho desde la más sincera humildad. A Roberto Barea, por su gran sentido del humor, su preciada ayuda y sus sabios consejos. A Ana Navarro y Rocío, por facilitarme el trabajo, ayudarme siempre que lo he necesitado y animarme en todo momento. A Migue, por sus chistes y sus ingeniosas respuestas, cuando conseguía pillarlas. A Alberto Conde, por esa llamada que cambiaría mi vida y su disponibilidad ante cualquier problema que se me presentase. A Arancha Aguinaga, por su alegría, su arte, su vitalidad y su risa que aún hoy se palpa en la sala de becarios. A Mari Luz, por su inmenso cariño, su alegría, su bondad, sus abrazos, por aguantarme en mis momentos de bajón, por sus consejos, por su confianza, por estar a mi lado y por ser mi amiga para siempre. Y a Lucre, por haber venido a Armilla y haberte conocido, por intentar explicarme las diluciones, por enseñarme a trabajar en equipo, a ser mejor persona, a saber escuchar, gracias por tus siempre geniales consejos, por los infinitos buenos momentos y ataques de risa que hemos tenido juntos, por hacer que cualquier día de bajón termine siendo el día más increíble de todos.*

*No quisiera olvidarme de todas aquellas personas que han formado parte de mis aventuras en el exilio. Agradecer a Giuseppe Bee (Suiza) e Isabelle Ortigues-Marty (Francia) el que me hayan acogido como a uno más en sus grupos de trabajo. A Gonzalo Cantalapiedra y Camilo Pardo por vuestra confianza, ayuda y gran sentido del humor, por esas traducciones y explicaciones cuando no me enteraba de un carajo, y por vuestra apreciada amistad. Destacar igualmente a Joel Berard, Ana Feitknecht, Luzia Kaufmann, Stephanie Bethaz, Andreas Gutzwiller y Daniela Brand de mi paso por el Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP), en Suiza y a Vincent Largeau, Joe Rotwell, Mireia Blanco, Moufida Rira y Bernardo Valenti, entre otros, tras mi estancia en el Institut de la Recherche Agronomique (INRA) en Francia, porque*

*sólo el hecho de haberos conocido, ha merecido la pena el estar lejos de mi tierra.*

*Como no, gracias a mis amigos, quienes me hacen sentir tan afortunado de tenerlos. A Conchi, Noel, Pérez, Ernesto, Carmen, Enrique, José Carlos, Vero, Bea, Virgi, David, Estefa y Cristi, por vuestros ánimos, vuestras risas y vuestro afecto. A Natalia, por su apoyo incondicional. A Dani por cuidar de mí en esa celebración de beca y en tantas otras ocasiones, por su espontaneidad, su singularidad y su sincera amistad. A Virginia por su llamada reveladora, su alegría y sus constantes ánimos. A mis rondeñas (Inma, Celia y Sara), por esos años inolvidables en vuestro piso, por vuestro infinito cariño, por escucharme siempre, porque cada momento con vosotras es único, inigualable e irreplicable. A mi Vanesiya, por nuestras discusiones y críticas de la sociedad y del mundo, y por enseñarme lo que es la fuerza y el coraje. Y a David Molina, por estar siempre ahí, por sus razonamientos rallando la genialidad y por demostrarme una y mil veces lo que es tener un buen amigo cuando más lo necesitaba. Gracias por brindarme vuestra amistad y dejar que os diera la mía. Porque me habéis dejado una huella que nunca se borrará y siempre me acompañará.*

*Por último, dar las gracias a mi familia que siempre han estado apoyándome. A mi abuelo Miguel, que tanto me enseñó y al que siempre echo en falta. A mis hermanas, María y Belén, por tantos platos que me he encontrado preparados al volver a casa, por aguantar mis frecuentes indecisiones y dilemas y por escucharme siempre que lo he necesitado. A mi padre, Antonio, porque ha sido, es y será el mejor modelo a seguir en todos los aspectos. Y a mi madre, Amparo, porque no hay palabras para agradecer todo el amor y cariño que me das. Porque soy lo que soy gracias a vosotros.*



*Vive como si fueras a morir mañana. Aprende como si fueras a vivir para siempre.*

**Mahatma Gandhi (1869-1948)**

Político, abogado y pensador indio

*La cultura tecnológica está obligando al hombre a vivir en cárceles confortables, en inmensos laberintos sin horizontes, hechos de cemento, hierro y cristal.*

**Félix Rodríguez de la Fuente (1928-1980)**

Médico y divulgador ambientalista









<b>1. Introducción</b> .....	3
1.1. Origen e importancia del cerdo Ibérico.....	5
1.2. Caracterización del genotipo Ibérico.....	10
1.3. Principio de Fick: Método de la diferencia arterio-venosa.....	16
<b>2. Justificación</b> .....	31
2.1. Gasto energético del conjunto de vísceras que drenan al sistema porta.....	33
2.2. Gasto energético total .....	39
<b>3. Presentación en imágenes de la cateterización arterio-venosa y de la toma de muestras</b> .....	49
<b>4. Objetivos</b> .....	71
<b>5. Discusión</b> .....	75
5.1. Catéteres, procedimiento quirúrgico y empleo del ácido para-aminohipúrico para la determinación del flujo sanguíneo.....	77
5.2. Contribución a la producción de calor total de las vísceras que drenan al sistema porta en la raza Ibérica y Landrace.....	89
<b>6. Resumen</b> .....	103
<b>7. Conclusiones y perspectivas</b> .....	111
<b>8. Summary and conclusions</b> .....	115
<b>9. Referencias bibliográficas</b> .....	123
<b>10. Anexo artículos</b> .....	145
Artículo 1 .....	147
Artículo 2.....	175
Artículo 3.....	181



---

## ***1. Introducción***

---

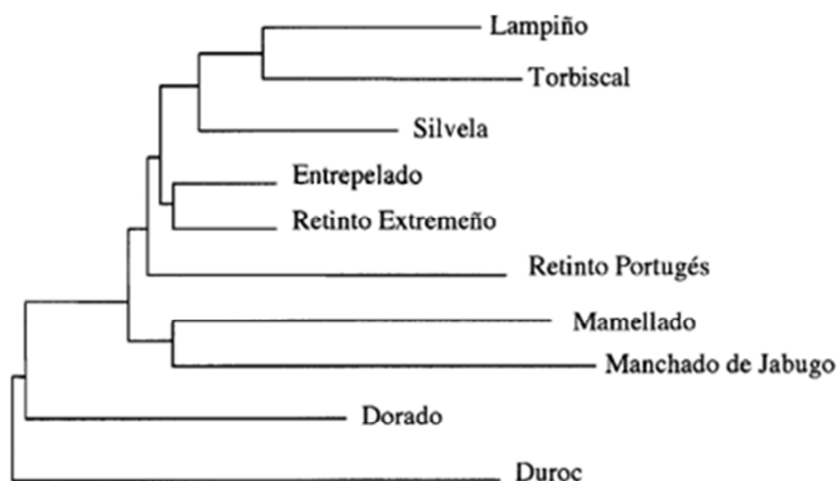


## 1.1. Origen e importancia del cerdo Ibérico

Los cerdos domésticos actuales descienden de un ancestro común del género *Sus*. En este género se encuadran las aproximadamente 100 razas porcinas reconocidas oficialmente en cuatro subgéneros: *Eusus*, *Striatosus*, *Scrofa* y *Mediterraneus*. Los dos primeros subgéneros se asentarían en Asia, siendo el *Striatosus* el precursor de la mayoría de cerdos asiáticos, destacables por su alta prolificidad y precocidad. El subgénero *Scrofa* se asentaría en el centro y norte de Europa, evolucionando por un lado en el *Scrofa ferus*, que daría origen a los cerdos célticos de los países del centro de Europa como el Landrace o Large White, y por otro en el *Mediterraneus*, adaptado a los ecosistemas de la cuenca mediterránea. El *Mediterraneus* es el precursor del actual cerdo Ibérico y de algunas razas italianas, francesas y húngaras (Clemente y col., 2006; AECERIBER, 2007). Según estudios centrados en el ADN mitocondrial, la divergencia entre razas asiáticas y europeas se situaría en 600.000 años a partir de la fecha actual (Alves y col., 2003).

El término “cerdo Ibérico” no se corresponde con una sola raza como tal, sino que engloba distintas agrupaciones raciales originadas desde un tronco común, el tronco Ibérico. La heterogeneidad interna de esta agrupación está estructurada en estirpes y líneas que, no obstante, guardan semejanza en sus principales caracteres morfofuncionales (Clemente y col., 2006). En general, se caracterizan por presentar un perfil subcóncavo, una configuración del hueso lagrimal intermedio y unas proporciones cefálicas también intermedias entre los cerdos asiáticos y célticos actuales (Laguna Sanz, 1998). Según la base de

datos internacional de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), podemos encontrar actualmente las siguientes variedades o estirpes de cerdo Ibérico, basadas principalmente en el color de la capa o piel: Retinto, Torbiscal, Negro Lampiño, Negro Entrepelado, Mamellado, Dorado Gaditano, Manchado de Jabugo y las variedades insulares Negro Canaria y Negro Mallorquín ([www.fao.org/dad-is](http://www.fao.org/dad-is), accedido en Abril 2011). Sin embargo, los frecuentes cruces entre unas razas y otras (incluyendo razas célticas para potenciar la productividad) incrementan la ya de por sí complicada clasificación de las variedades de Ibérico. Martínez y col. (2000) llevaron a cabo un estudio con marcadores microsatélites del ADN para intentar definir la estructura genética y las relaciones de las principales razas del cerdo Ibérico, empleando ejemplares de la raza Duroc como grupo externo (Figura 1).

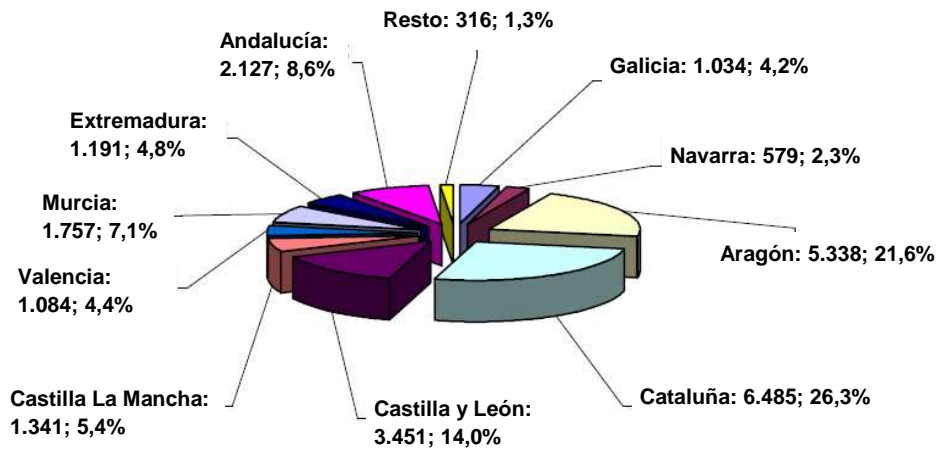


**Figura 1.** Dendrograma de las variedades de cerdo Ibérico y Duroc basadas en distancias genéticas  $D_A$  (Nei, 1983).

El cerdo Ibérico se distribuye tradicionalmente por el suroeste de la Península Ibérica, en un ecosistema surgido como resultado de la acción moduladora del hombre y de la explotación ganadera sobre el antiguo bosque mediterráneo: la dehesa. Este ecosistema se caracteriza por la presencia de numerosas especies herbáceas y arbustivas, junto a varias especies arbóreas del género *Quercus* (*Quercus suber* y *Quercus ilex rotundifolia*, principalmente) distribuidas en una baja densidad, de media 40-50 pies/ha (Toro y col., 2000; AECERIBER, 2007). La densidad media de animales en la dehesa es de menos de 2 animales/ha, siendo la carga ganadera recomendada de menos de 1 animal/ha (Rodríguez-Estévez, 2010).

Según la información proporcionada por la Subdirección General de Estadística del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM), el censo de porcino en España contó con un total de 24.702.866 ejemplares, según la encuesta de porcino de mayo de 2010; distribuidos por las distintas Comunidades Autónomas según aparece en la Figura 2 ([www.marm.es](http://www.marm.es), accedido en Abril 2011). El último dato ofrecido por el MARM situaba, provisionalmente, en 16.968.875 el número de cerdos sacrificados hasta mayo de 2011 (accedido en Agosto de 2011).



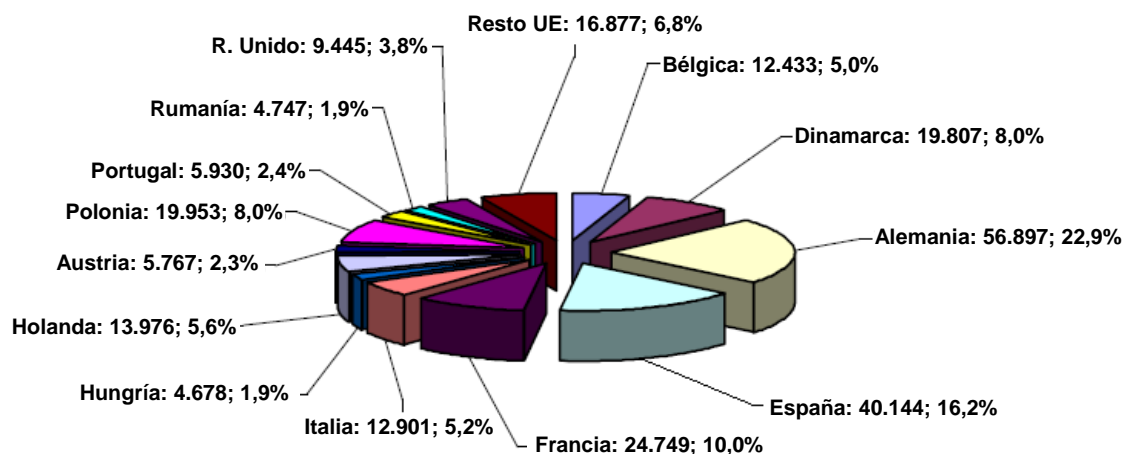


**Figura 2.** Distribución del censo de ganado porcino por comunidades autónomas, en miles de animales en mayo de 2010 (MARM, 2011).

En lo que respecta al porcino Ibérico, el censo de estos animales se situó en los 1.929.115 en mayo de 2010 (un 7,8% del total), correspondiendo a Ibérico puro 332.776 ejemplares ([www.mapa.es](http://www.mapa.es), accedido en Mayo de 2011). En cuanto al número de Ibéricos puros destinados a montanera en el tradicional sistema extensivo de acabado mediante el consumo de bellota, se situó en 500.000 ejemplares en la temporada 2010/2011 ([www.AECERIBER.es](http://www.AECERIBER.es), accedido en Agosto de 2011).

La importancia del sector porcino en España queda reflejada por la gran cantidad de productos cárnicos, principalmente en forma de jamones, paletas y lomos que se exportan anualmente a los países miembros de la Unión Europea y, cada vez más, a terceros países. Según datos registrados en 2010, España ocupó el segundo lugar en el número de ganado porcino sacrificado, siendo superada únicamente por Alemania (Figura 3). A nivel mundial, sólo China con

el 49,4% del total de producción de carne de cerdo en 2010 sobrepasó a la Unión Europea, la cual registró una producción del 21,8% con respecto al total ([www.marm.es](http://www.marm.es), accedido en Mayo 2011).

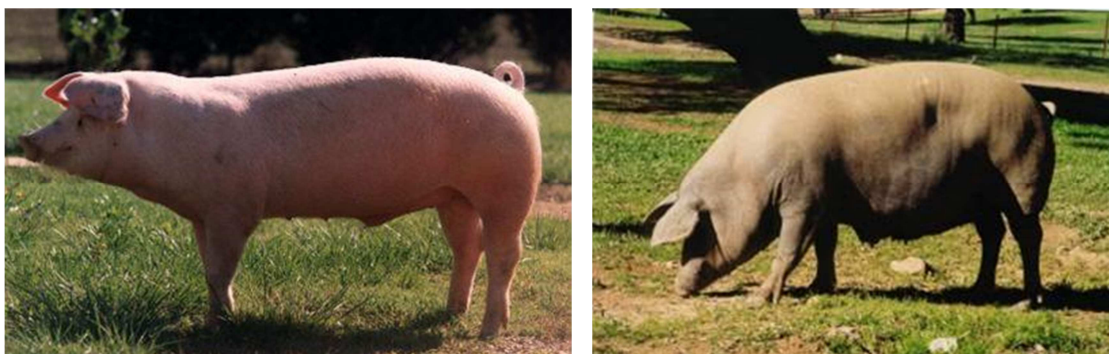


**Figura 3.** Ganado porcino sacrificado en la Unión Europea durante el año 2010 en miles de animales (MARM, 2011).

Estos datos reflejan la importancia del sector porcino en España y, más concretamente, la del porcino Ibérico, reconocido internacionalmente por sus productos de alta calidad organoléptica.

## 1.2. Caracterización del genotipo Ibérico

El cerdo Ibérico, en comparación con cerdos de razas mejoradas, se caracteriza por tener un bajo potencial genético para la deposición de tejido magro y se considera una raza lipogénica con una tasa de crecimiento lento (Figura 4).



**Figura 4.** Cerdo de la raza Landrace (izquierda) e Ibérico de la variedad “entrepelado” (derecha) según el catálogo oficial de razas del MARM.

La máxima deposición de proteína para el cerdo Ibérico en crecimiento (15-50 kg) se obtuvo al emplear dietas con un contenido de proteína bruta de 129 g/kg de materia seca (Nieto y col., 2002), mientras que en cerdos Landrace este valor se alcanzaba con dietas que contenían 160 g/kg de materia seca (BSAS, 2003). Esta menor capacidad de deposición proteica del cerdo Ibérico en comparación al Landrace se debió tanto a la menor síntesis (5,84 vs. 8,00 g N/kg<sup>0.75</sup> y día, respectivamente) como degradación proteica (4,71 vs. 6,47 g N/kg<sup>0.75</sup> y día, respectivamente) a nivel del organismo completo, al suministrarles a cada uno una dieta con cantidad óptima de aminoácidos

esenciales para que expresasen su máximo potencial genético para la deposición de tejido magro (Rivera-Ferre y col., 2006). En cambio, la tasa de síntesis proteica muscular por día era entre un 20 y un 25% mayor en la raza Ibérica que en la Landrace en los músculos *Longissimus dorsi*, *Biceps femoris* y *Semimembranosus* (Rivera-Ferre y col., 2005). Esto podría deberse a diferencias en el tipo de fibra muscular. Serra y col. (1998) registraron una mayor cantidad y diámetro de fibras tipo I (consideradas de contracción lenta y metabolismo oxidativo) y menor cantidad y diámetro de fibras tipo IIB (de contracción rápida y metabolismo glucolítico no oxidativo) en cerdos Ibéricos que en Landrace de más de 100 kg empleando técnicas de tinción metabólica en el músculo *Longissimus lumborum*. El tipo de fibra muscular depende del tipo de miosina que la constituye, y la expresión génica de un tipo u otro depende en gran medida de la función y localización anatómica del músculo esquelético del cerdo (Gunawan y col., 2007). La mayor cantidad de fibras tipo I u oxidativas detectada en la raza Ibérica ha sido igualmente descrita en otras razas salvajes, o no mejoradas, en comparación a razas domésticas (Karlsson y col., 1999). Sin embargo, a pesar de la anteriormente citada mayor tasa de síntesis proteica muscular, el cerdo Ibérico no desarrolla músculos de mayor tamaño que el Landrace, debido a una también elevada tasa de degradación proteica muscular (6,04 y 3,94%, para Ibérico y Landrace, respectivamente; Rivera-Ferre y col., 2005). Una elevada renovación proteica, con una menor deposición proteica final, tendría lugar en el músculo de los individuos Ibéricos.

La menor capacidad para la deposición proteica total descrita en la raza Ibérica en comparación con genotipos mejorados se ha puesto de manifiesto

en distintas etapas del crecimiento. Así, para animales de 9 a 25 (Conde-Aguilera y col., 2011a), de 15 a 50 (Nieto y col., 2002), de 50 a 100 (Barea y col., 2007) y de 100 a 150 kg PV (García-Valverde y col., 2008) se alcanzó un valor máximo para la deposición proteica de 60, 74, 71 y 84 g/d, respectivamente. Estos datos sugieren una tasa relativamente constante para la deposición proteica máxima diaria en cerdos Ibéricos en crecimiento. En cambio, en razas mejoradas la máxima deposición proteica alcanzada se situó en 110 g/d para cerdos Large White con 20 kg PV inicial (Noblet y col., 1987), 110 g/d para cerdos cruzados castrados de 26 a 52 kg PV (Shelton y col., 2003), 148 g/d para cerdas entre 60 y 100 kg PV (Campbell y col., 1991) y 148 g/d para cerdos castrados Large White×Landrace de 100 a 160 kg PV (Galassi y col., 2004). Estos valores son, en todos los casos, más elevados que los encontrados en Ibérico.

Otra característica de la raza Ibérica es la mayor tasa de ingesta voluntaria de alimento con respecto a la Landrace (3,5 y 2,7 kg/d, respectivamente, para cerdos comprendidos entre 88 y 108 kg PV) sin que se llegasen a encontrar diferencias significativas en cuanto a la ganancia de peso diaria (Morales y col., 2002). La mayor ingesta voluntaria de alimento sin efecto en la ganancia de peso diaria también fue registrado por Freire y col. (1998) en lechones de la raza Alentejano (porcino portugués) en comparación a los de raza Large White. En este estudio, el peso total de las vísceras (estómago, intestino grueso, hígado y páncreas) en relación al peso vivo de los lechones Alentejanos fue además significativamente mayor que en el caso de los Large

White, con la excepción del intestino delgado. En otro estudio similar empleando lechones de la estirpe Silvela y del cruce Landrace×Large White, tampoco se apreciaban diferencias significativas en cuanto a la ganancia diaria de peso, pero sí en la proporción que el peso de las vísceras y la canal representaban con respecto al peso corporal vacío del animal; siendo de nuevo mayor el peso de las vísceras (tanto el hígado como el tracto gastrointestinal) y menor el de las canales de los lechones Ibéricos en comparación a los cruzados de razas mejoradas (Aguinaga y col., 2010). En este último estudio, no se detectaron diferencias significativas para la ingesta voluntaria de alimento entre las dos razas estudiadas. Sí se ha descrito una menor ganancia diaria de peso en cerdos Ibéricos en comparación con cerdos de razas mejoradas desde los 15 a los 115 (Barea y col., 2011) y los 19 a los 27 kg PV (Rivera-Ferre y col., 2005). En este último trabajo encontraron un mayor peso tanto del tracto gastrointestinal como del hígado en relación al peso corporal total para la raza Ibérica en comparación a la Landrace. En animales de peso superior, 50 y 115 kg PV (Barea y col., 2011), se observó mayor peso relativo del hígado y de la grasa mesentérica, y menor del tracto gastrointestinal en cerdos Ibéricos en comparación a cerdos cruzados Landrace×Large White.

La menor relación ganancia/ingesta de alimento es otra de las características del cerdo Ibérico, encontrándose a su vez un mayor contenido energético corporal y una menor digestibilidad en comparación con razas mejoradas (Morales y col., 2002). Estos resultados estarían de acuerdo con un estudio comparativo reciente (Barea y col., 2011) entre la raza Ibérica y una

raza mejorada (Landrace×Large White) en el que, de manera general, se determinaron diferencias estructurales en el intestino delgado con mayor grosor total de la *Tunica muscularis* y menor de la *Tunica mucosa* del duodeno y del íleon de los cerdos cruzados de 50 kg PV; además de una mayor profundidad de las criptas duodenales e ileales, longitud de *villi*, relación *villi*/cripta, y grosor total del íleon que los harían más eficientes digestivamente que los cerdos Ibéricos. La menor tasa de conversión de alimento en Ibérico ha sido relacionada por Morales y col. (2002) con el mayor depósito de grasa dorsal, el contenido de lípidos intramusculares y la actividad de enzimas lipogénicas (enzima málica y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, principalmente). Se ha descrito también mayor actividad de enzimas pancreáticas (lipasa, tripsina, quimotripsina y amilasa) e intestinales (maltasa y sacarasa) en lechones Ibéricos Alentejanos en comparación a lechones Large White de 49 días de edad (Freire y col., 1998). Según estos autores, la mayor actividad de estas enzimas pancreáticas e intestinales supondría un mayor potencial digestivo de grasas saturadas y componentes fibrosos de la dieta, lo que podría indicar una adaptación enzimática más temprana del tracto digestivo y mejor aptitud para un destete más temprano que en razas mejoradas. Además, este mayor contenido en grasa podría explicar la entrada más temprana en la pubertad observada para las hembras de Ibérico con respecto a las del cruce Large White×Landrace, aunque el peso medio alcanzado en el momento del comienzo de la pubertad fue mayor en el caso de las segundas (González-Añover, 2010).

Un mayor depósito de grasa intramuscular fue registrado en el músculo *Longissimus dorsi* de varias estirpes de cerdo Ibérico en comparación con cerdos cruzados (Large White×Landrace)×Large White (Cava y col., 2004) para el caso del ácido palmítico, ácido oleico, total de ácidos grasos saturados y total de ácidos grasos monoinsaturados (en la fracción de lípidos neutros); y menor en ácidos poliinsaturados y ácido linoleico (tanto en la fracción de lípidos neutros como en los polares). Sin embargo, no parece existir una gran diferencia entre razas en cuanto al depósito medio de grasa en la canal. Para cerdos Ibéricos los valores se situaron en 65,9 g/d en lechones de 10 a 25 kg PV (Conde-Aguilera y col., 2011b), 140,7 g/d en cerdos entre 15 y 50 kg PV (Nieto y col., 2003) y 341,5 g/d en cerdos entre 50 y 100 kg PV (Barea y col., 2006). De manera similar, los valores de ganancia media de grasa en la canal para razas mejoradas se situaron en los 147 g/d en cerdas Landrace×(Large White×Landrace) de 23 a 59 kg PV (Cooke y col., 1972), 278 g/d en cerdas Landrace×Large White de más de 57 kg PV (Ostrowska y col., 1999) y 327 g/d para cerdas entre 60 y 90 kg PV (Campbell y col., 1990).

La diferencia entre Ibérico y Landrace con respecto a la ingesta voluntaria de alimento y la deposición de grasa podría revelar diferencias intrínsecas en el metabolismo regulatorio intermedio, como por ejemplo, en la secreción de leptina o la resistencia tisular a la misma (Morales y col., 2002). Fernández-Fígares y col. (2007), en un estudio comparativo entre cerdos Ibéricos y Landrace de aproximadamente 20 kg PV, estudiaron el perfil de distintos metabolitos y hormonas en suero, obteniendo una mayor cantidad de glucosa y creatinina para la raza Landrace, y de leptina, insulina e IGF-1 para



la raza Ibérica. Una posible resistencia a la leptina (hormona producida principalmente por los adipocitos y que disminuye la ingesta actuando a nivel del sistema nervioso central) podría existir en el genotipo Ibérico, con mayor capacidad de ingesta a pesar de presentar una mayor concentración de la misma. Más estudios sobre parámetros sanguíneos, metabolitos y hormonas circulantes ayudarían a caracterizar las peculiaridades metabólicas de la raza Ibérica, lo que en última instancia, repercutirían en la calidad de sus productos.

### 1.3. Principio de Fick: Método de la diferencia arterio-venosa

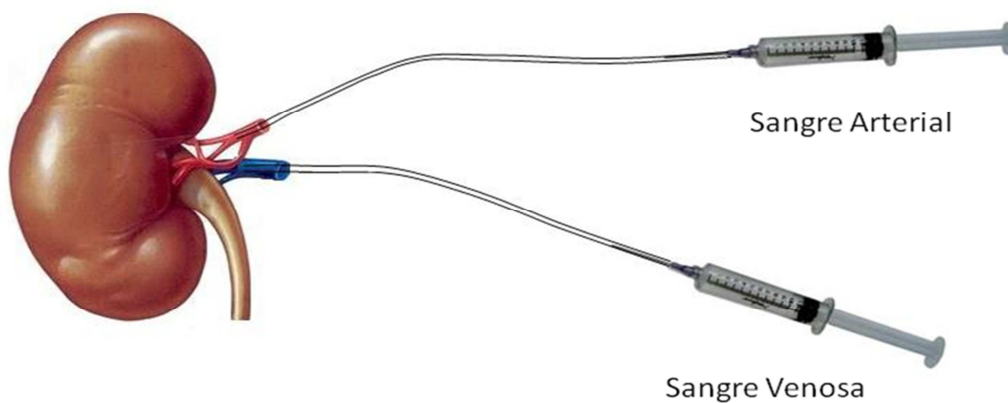
El principio de Fick (Fick, 1870) se basa en que si la concentración arterial y venosa de una sustancia X es constante, el flujo sanguíneo es constante y la captación (o liberación) de X es constante, entonces, la entrada de X a un tejido u órgano (determinado como el flujo multiplicado por la concentración arterial) es igual a la salida de X de ese tejido u órgano (flujo multiplicado por la concentración venosa) más el metabolismo del tejido u órgano de la sustancia X (donde el término del metabolismo del tejido es positivo si hay una captación y negativo si hay una liberación de la sustancia). Sin embargo, tanto el metabolismo de un órgano o tejido (cambios en la captación o liberación de una sustancia) como el propio flujo sanguíneo varían según múltiples factores, tanto internos como externos. Zierler (1961) aplicó el principio de Fick en sistemas no estables, llegando a la conclusión de que era

necesario tomar varias veces la diferencia arterio-venosa a lo largo del tiempo para poder conocer con precisión el metabolismo de un órgano o tejido y, por tanto, una única diferencia de concentración entre arteria y vena carecería de interpretación.

El método de Fick o de diferencia arterio-venosa posibilita el estudio *in vivo* del metabolismo de un órgano o tejido mediante la medición de la diferencia de concentración en los nutrientes y metabolitos que entran y salen del mismo (Irtun y col., 2001). La medición de esta diferencia es posible mediante la instalación de catéteres en los vasos sanguíneos que entran y salen del órgano (Figura 5), esto es, la instalación quirúrgica de catéteres en la vía sanguínea aferente (de entrada) y eferente (de salida). La colocación adecuada del catéter es uno de los principales problemas de esta técnica (Defronzo, 1987). Un punto esencial en el método es que la muestra venosa constituya una buena representación de toda la sangre venosa que salga del órgano o tejido, y que no haya contaminación con sangre de venas procedentes de otros órganos o tejidos que no sean del objeto de estudio (Irtun y col., 2001). Este método presenta un coeficiente de variación mayor a la hora de realizar medidas cuantitativas en la absorción de un nutriente en comparación, por ejemplo, a la implantación de cánulas ileales; sin embargo, es una herramienta necesaria para estudios de dinámica de absorción tras la ingestión de la dieta (Bach Knudsen y col., 2006). Otros inconvenientes de la técnica para conseguir resultados aceptables son las complicaciones durante los procedimientos quirúrgicos, los cuidados post-operatorios, el adecuado

mantenimiento de los catéteres y, principalmente, la correcta medición del flujo sanguíneo.

Durante todos los estudios metabólicos realizados *in vivo*, la determinación del flujo de nutrientes aferentes y eferentes de un determinado tejido recae sobre la medida del flujo sanguíneo que irriga el mismo y de las concentraciones de los metabolitos sanguíneos a nivel arterial y venoso (Isserty y col., 1998). Resulta imprescindible, por tanto, determinar el flujo plasmático o sanguíneo que atraviesa el órgano o tejido (Ten have y col., 1996).



**Figura 5.** Esquema de muestreo sanguíneo en un órgano (riñón) según el método de la diferencia arterio-venosa.

Mediante el principio de Fick se puede determinar, por ejemplo, tanto el intercambio neto de nutrientes como el consumo de O<sub>2</sub> de las vísceras que drenan al sistema porta y del hígado *in vivo* multiplicando, durante un período de tiempo determinado, la diferencia de concentración arterio-venosa a través de estos tejidos por el flujo sanguíneo (Huntington y Reynolds, 1987). De esta manera, el flujo neto de un nutriente (a excepción de los ácidos grasos de cadena larga que se transportan vía linfática) que es absorbido y que estará disponible para el animal puede ser determinado. El flujo neto se determina a partir de los procesos combinados de captación y liberación de un nutriente por un tejido. Un flujo neto positivo indica en general síntesis o producción, mientras que un flujo neto negativo indica catabolismo o consumo de un nutriente (Prior y Gross, 1995) según la siguiente ecuación:

$$\text{Captación/Liberación de un metabolito (mg/min)} = (C_a - C_v) \times \text{FS}$$

donde C representa la concentración de ese metabolito (mg/ml) en la arteria (a) o en la vena (v) que entra y sale, respectivamente, del órgano o tejido estudiado, y FS corresponde al flujo sanguíneo (ml/min) a través de ese órgano o tejido.

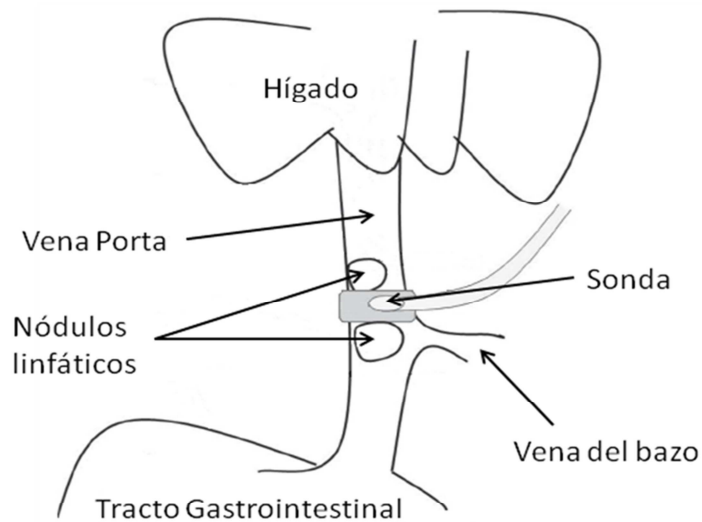
Existen distintos métodos para medir el flujo sanguíneo. Uno de estos métodos es el uso de microesferas marcadas con nucleidos, como el descrito por Rudolph y Heymann (1967) en fetos de ovejas. Son “microesferas carbonizadas” con un diámetro medio de 50  $\mu\text{m}$  y con el nucleido o isótopo adherido en su superficie. Midiendo el patrón de distribución de las microesferas emisoras de radiación gamma se puede determinar la distribución relativa del flujo sanguíneo durante días o incluso semanas. Para ello es necesario llevar a cabo una disección posterior de los tejidos y una cuantificación de la radiactividad (Eisemann y col., 1987). Recientemente, el uso de microesferas radiactivas ha sido sustituido por el de microesferas fluorescentes. Así, Thein y col. (2003) determinaron el flujo sanguíneo portal mediante una cámara mezcladora conectada quirúrgicamente a la vena porta del animal para la adecuada mezcla de las microesferas como fase previa a su paso por el hígado, ya que la vena porta presenta un flujo laminar que dificultaba la homogenización de las mismas. Sin embargo, esta técnica presenta ciertas desventajas como es el uso de un equipamiento costoso, mucho trabajo técnico, la necesidad de un estado relativamente estable del flujo sanguíneo, una leve tendencia de las microesferas a la aglomeración, la instalación de un catéter previo en la aurícula izquierda (lugar de inyección de las microesferas), el sacrificio final del animal para las mediciones en todo el organismo (Domenech y col., 1969) y la recuperación de las microsferas (Thein y col., 2003). Además, el isótopo presenta una vida media corta, no pudiendo ser utilizadas para estudios prolongados en el tiempo (Eisemann y col., 1987).

Otra técnica para la determinación del flujo sanguíneo es mediante sondas *Doppler*, cuyo principio de funcionamiento se basa en el efecto *Doppler*. Según éste, el sonido retrodispersado de un medio en movimiento cambia de frecuencia de una manera proporcional a la velocidad del medio (Satomura y Kaneko, 1960; Franklin y col., 1961, 1966). La señal recibida contiene un espectro de frecuencias que se corresponden con las velocidades sanguíneas, por lo que hay que tener en cuenta ciertas circunstancias a la hora de determinar el flujo sanguíneo con estas sondas (Reneman y col., 1973). La frecuencia media del espectro *Doppler* es en circunstancias ideales proporcional a la velocidad media en el área de la sección del vaso que contenga la sonda (Arts, 1971). Estas sondas son usadas principalmente en estudios de la circulación coronaria (Beregi y col., 1998) y sólo determinan cambios relativos en el flujo, por tanto, no sirven para la medición de flujos absolutos (Möckel y col., 2001). Para ello, inicialmente, se usaban sondas de flujo sanguíneo electromagnéticas (Rérat y col., 1980). Este método consiste en crear un campo magnético de débil intensidad, perpendicularmente a la corriente sanguínea, y que permita medir la variación de la fuerza electromotriz inducida por el desplazamiento de la sangre, variación proporcional a la velocidad de esta última (Kolin, 1952; Kolin y col., 1957; Kolin y Kado, 1959). Estas sondas están constituidas por dos semi-cilindros que pueden pivotar alrededor de una bisagra que los une a lo largo de su eje principal, formando así un brazalete o anillo alrededor del vaso (Rérat, 1971). Sin embargo, esta técnica tampoco está exenta de dificultades. Estas sondas deben estar alineadas con los vasos para asegurar una constricción de un 10%, lo cual

puede provocar aneurismas; no se pueden implantar en vasos importantes para experimentos crónicos o de larga duración; hay que calibrar el caudalímetro según el hematocrito del animal y puede desarrollarse tejido conectivo entre el vaso y la sonda (Gorewit y col., 1989) resultando en valores anormalmente bajos de la tasa de flujo a partir de las dos semanas desde su instalación (Rérat y col., 1980).

Tanto las sondas electromagnéticas como las *Doppler* han sido muy utilizadas para el cálculo del flujo sanguíneo en órganos y tejidos. Sin embargo, ambas técnicas requieren la medición del diámetro del vaso para determinar el flujo y, para ello, deben estar muy bien fijadas al mismo.

Como mejora a las sondas anteriormente descritas, Drost (1978) introdujo las sondas de flujo ultrasónicas, que miden la diferencia de duración en el tiempo de los pulsos ultrasónicos propagados a favor y en contra del sentido del flujo. Éstas dan una medida directa del flujo neto a través de una ventana acústica en el sensor implantado. Requieren únicamente un contacto acústico con el vaso e incluso una sujeción débil al vaso es aceptable (Figura 6). Son, además, independientes del perfil del flujo y de las dimensiones del vaso, puesto que permiten realizar medidas en vasos en crecimiento o plegables, venas y redes de vasos (Barnes y col., 1983). Estas sondas pueden permanecer viables hasta 6 semanas después de implantarse en el animal (Ellis y col., 1995).



**Figura 6.** Colocación de una sonda ultrasónica en la vena porta (adaptado de Hooda y col., 2009).

Sin embargo, la medición del flujo sanguíneo mediante sondas ultrasónicas tampoco está exenta de inconvenientes. Uno de ellos es la calibración *in vivo*, difícil de realizar por la gran cantidad de flujo sanguíneo que requiere (Rémond y col., 1998). Otros problemas se han asociado con la dificultad de una adecuada colocación del extremo de la sonda cuando la superficie expuesta del vaso es mínima, lo que se traduciría en valores de flujo sanguíneo muy inferiores en comparación a los obtenidos con otras técnicas (Huntington y col., 1990). Esta subestimación del flujo sanguíneo determinado



a través de sondas ultrasónicas se ha puesto de manifiesto en varios trabajos al comparar estos valores con el método más empleado actualmente: la dilución con ácido para-aminohipúrico (PAH). Uno de ellos fue el llevado a cabo por Rémond y col. (1998) al comparar los resultados de flujo sanguíneo obtenidos al implantar dos tipos de sondas de flujo ultrasónicas (las sondas estándares o de serie S y otras nuevas más pequeñas o de serie A) con los resultados aportados al infundir el ácido PAH en carneros y con los encontrados por otros autores, llegando a la conclusión de que las medidas de flujo sanguíneo obtenidas con las sondas ultrasónicas de serie A estaban dentro del 10% de las medidas realizadas mediante la dilución del PAH, mientras que las realizadas con las sondas de serie S supusieron del 52 al 77% del flujo sanguíneo obtenido empleando PAH. Estos resultados fueron similares a los observados con sondas ultrasónicas de serie S en ovejas (Kristensen y col., 1996). La creación de un flujo turbulento en la zona de anclaje de la sonda podría ser la explicación de esta subestimación, afectando más a las sondas ultrasónicas de serie S que a las de serie A (Rémond y col., 1998).

El empleo de sondas tiene la ventaja de proporcionar una medida directa del flujo, sin requerir posteriores análisis químicos; mientras que los métodos de dilución tienen la ventaja de poder determinar el flujo de varios vasos desde un único punto de infusión y de realizar medidas repetidas en el tiempo en el mismo animal. Los métodos de dilución, bastante más empleados que las sondas ultrasónicas, usan tintes o colorantes (Bell y col., 1975) o agua tritiada (Oddy y col., 1981). En general, requieren una adecuada

homogenización entre el lugar de infusión y el de muestreo, que no haya ninguna pérdida del indicador entre estos dos puntos y que sea factible la determinación de la concentración del indicador infundido en las muestras sanguíneas obtenidas durante la infusión (Eisemann y col., 1987). Todos estos indicadores o marcadores deberán comportarse, por tanto, como sustancias inertes para el organismo, es decir, sustancias que no sean retiradas de la circulación sanguínea ni metabolizadas en ningún órgano o tejido. A pesar de estos requerimientos, los métodos de dilución tienen la ventaja de poder determinar simultáneamente el flujo sanguíneo de varios vasos a partir de un único lugar de infusión (Heitmman y Bergman, 1980).

Como se ha mencionado anteriormente, el ácido PAH constituye el método de dilución más empleado actualmente, siendo utilizado en la mayoría de trabajos publicados para la medición del flujo sanguíneo portal y/o hepático que permiten conocer el metabolismo gastrointestinal y/o del hígado, respectivamente. El análisis del ácido PAH se basa en la reacción coloreada de Bratton y Marshall (1939), en el que la función amina libre del PAH es dinitrogenada por el nitrito de sodio, cuyo exceso es destruido por el sulfamato de amonio. Este dinitrógeno obtenido forma un complejo coloreado en presencia de N-naphthyl etilenediamina en medio ácido y es medido mediante un espectrofotómetro. Una vez determinada la concentración de PAH en la sangre arterial y venosa, el flujo sanguíneo de un órgano o tejido se calcula empleando la siguiente ecuación:

$$\text{Flujo Sanguíneo (l/h)} = \frac{V_{\text{inf}} \text{ PAH (l/h)} \times C_{\text{inf}} \text{ PAH (mg/l)}}{[\text{PAH}]_v - [\text{PAH}]_a \text{ (mg/l)}}$$

donde  $V_{\text{inf}}$  es la tasa con que se infunde el PAH,  $C_{\text{inf}}$  la concentración del PAH en la solución infundida y  $[\text{PAH}]_v$  y  $[\text{PAH}]_a$  es la concentración de PAH en la sangre venosa y arterial, respectivamente (Huntington y col., 1990).

Para la determinación del flujo portal y/o hepático el PAH es infundido, normalmente, a través de la vena mesentérica con una concentración que varía según el tamaño del animal. Para aquellos animales con un peso vivo igual o inferior a 250 kg la concentración de PAH puede variar entre el 7 y el 10% (peso/volumen), con una tasa de infusión de 1 ml/min, mientras que si son animales más pesados (como el caso de vacas lecheras) requiere un 10% (peso/volumen) de PAH con una tasa mayor (2 ml/min) para alcanzar una concentración adecuada en sangre (Huntington y col., 1989). Según Ortigues y col. (1994) la dosis adecuada de PAH sería de 12 mg/kg PV y hora, posterior a una dosis inicial de 3,75 mg de PAH/kg PV. Huntington y col. (1989) infundían una primera dosis de PAH igual a 15 veces tasa de infusión de mantenimiento por minuto, consiguiendo finalmente concentraciones de PAH en sangre arterial en torno a 20 mg/l. La recogida de muestras sanguíneas (1 ml por muestra) comenzaba entre 20 y 45 min después de la dosis inicial de PAH, dando tiempo así a la estabilización de su concentración en sangre.

A partir de la estabilidad en la concentración de PAH arterial durante el período de infusión obtenida en cerdos, Yen y Killefer (1987) sugirieron que el riñón era capaz de limpiar y estabilizar el PAH circulante y establecer un equilibrio de PAH en el cuerpo, tal y como indicaron anteriormente Perry y Parker (1981). Por tanto, era una técnica aplicable también para estos animales, así como ya se hizo anteriormente en ovejas o perros (Katz y Bergman, 1969). Sin embargo, la medición del flujo con PAH también presenta algunos inconvenientes como el descrito por Reynolds y Huntington (1988) en bovinos, al sugerir que las variaciones en la medida del flujo sanguíneo de las vísceras que drenan a la vena porta eran debidas a una inadecuada mezcla del PAH en la sangre como resultado de la corta longitud de la vena porta y de las turbulencias creadas por la convergencia de las venas gastroesplénica y mesentérica. A la posibilidad de una inadecuada mezcla del marcador en sangre, se suman otros inconvenientes como una mala elección del lugar de infusión o de colocación de los catéteres, lo que puede provocar una gran variabilidad en la medición del flujo sanguíneo (Isserty y Ortigues, 1994). Además, este método presenta limitaciones si se quieren detectar flujos pulsátiles o cambios en el flujo sanguíneo que ocurran en segundos o minutos (Eisemann y col., 1987). Según estos autores, cualquiera de las técnicas mencionadas es válida para la medida del flujo sanguíneo. La Tabla 1 muestra el uso que de las mismas se ha hecho en investigaciones realizadas con cerdos de distintas razas y pesos.

**Tabla 1.** Valores de flujo sanguíneo portal (FSP) postprandial usando distintas técnicas y con ingestas desiguales.

<b>Especie</b>	<b>PV (kg)</b>	<b>Técnica</b>	<b>FSP (ml/min)</b>	<b>Referencia</b>
Yucatan miniature swine	57	Sonda Doppler	1100	Bjorkman y col. (1984)
German Landrace	23,5	Microesferas Fluorescentes	2175	Thein y col. (2003)
Large White	52,3	Sonda electromagnética	1957	Rérat y col. (1988)
Large White	61,9	Sonda electromagnética	2554	Rérat y Vaissade (1993)
Large White	65	Sonda electromagnética	2442	Guillot y col. (1993)
Large White×Duroc ×Hampshire	7,6	Sonda ultrasónica	395	Stoll y col. (1999)
Pitman-Moore minipigs	21,3	Sonda ultrasónica	1044	Bauchart y col. (2007)
Cruce no especificado	25	Sonda ultrasónica	813	Bach Knudsen y col. (2000)
Large White×Landrace	35	Sonda ultrasónica	1360	Ellis y col. (1995)
(Landrace×Yorkshire)× Duroc	35,2	Sonda ultrasónica	1500	Kristensen y col. (2006)
Raza no especificada	37,5	Sonda ultrasónica	1265	Hooda y col. (2009)
Landrace×Yorkshire	40	Sonda ultrasónica	1262	Reverter y col. (2000)
Large White	43,7	Sonda ultrasónica	1108	Noah y col. (2000)
Large White	58	Sonda ultrasónica	2068	Lang y col. (1999)
Yorkshire×Dutch Landrace	21	Dilución PAH	760	Bruins y col. (2000)
Dutch Landrace×Yorkshire	22,5	Dilución PAH	1262	Ten have y col. (1996)
Meishan	24,3	Dilución PAH	1264	Yen y col. (2004)
Duroc Large White	27,6	Dilución PAH	1154	Yen y col. (2004)
(Chester White×Landrace×Large White×Yorkshire)	37	Dilución PAH	1531	Yen y Killefer (1987)
(Chester White×Landrace×Large White×Yorkshire)	37,4	Dilución PAH	1702	Yen y col. (1991a)
Raza no especificada	39,3	Dilución PAH	1022	Prior y Gross (1995)
Large White×(Finnish Landrace×Dutch Landrace)	42	Dilución PAH	1277	Lenis y col. (1996)
(Chester White×Landrace×Large White×Yorkshire)	54	Dilución PAH	1979	Yen y Killefer (1987)
Great Yorkshire×(Finnish Landrace×Dutch Landrace)	55,7	Dilución PAH	1766	van der Meulen y col. (1997)
Duroc×(Danish Landrace×Yorkshire)	63	Dilución PAH	2300	Kristensen y col. (2009)

En definitiva, la técnica de la diferencia arterio-venosa es adecuada para el estudio de la cinética de captación de nutrientes, la cual puede ser determinada a partir de variaciones en la concentración de nutrientes entre la sangre aferente y eferente del tracto gastrointestinal. Uno de los factores que es necesario tener en cuenta es el nivel de ingesta, además de la composición de la dieta, puesto que influyen en el tiempo inicial de aparición del nutriente objeto de estudio en la vena porta (Rérat y col., 1984). Por ejemplo, en cerdos se ha comprobado que las diferencias porto-arteriales sólo desaparecen transcurridas entre 20 y 22 horas tras la ingestión de cebada y trigo, respectivamente (Rérat, 1981). Si no existe un tiempo de ayuno suficiente previo a la ingestión pueden quedar restos de alimento en el intestino grueso. La llegada de nuevo alimento a un tubo digestivo aún no vaciado del todo podría no provocar la hiperemia tan marcada que se produce tras un ayuno más prolongado (Rérat y Vaissade, 1993), lo que conllevaría a errores al considerar tales niveles como basales. Un periodo de ayuno prolongado antes del experimento tampoco es aconsejable porque se puede inducir un aumento en la velocidad del vaciado gástrico por parte de la dieta experimental (Rérat y col., 1984). También hay que considerar la postura del animal durante el muestreo, puesto que el flujo sanguíneo parece ser dependiente del comportamiento del animal, lo que podría alterar los estudios de cuantificación de absorción de nutrientes (Ellis y col., 1995). Por ello es aconsejable que los animales estén habituados al contacto humano antes de comenzar con las extracciones sanguíneas, para que mantengan durante todo el experimento un comportamiento normal y relajado, lo que se reflejará en la calidad de los

resultados. Además, para evitar posibles errores por pequeñas variaciones en la dilución del ácido PAH infundido entre el muestreo sanguíneo venoso y arterial, es necesario realizar ambos muestreos de forma simultánea.

---

## ***2. Justificación***

---





Varios estudios han puesto de manifiesto el mayor peso de las vísceras con respecto al PV en cerdos Ibéricos en comparación con razas mejoradas (Rivera-Ferre y col., 2005; Aguinaga y col., 2010). Sin embargo, no se ha estudiado las posibles repercusiones metabólicas del mayor peso relativo de los tejidos espláncnicos, especialmente su impacto en el metabolismo energético del animal. Conocer cuáles son los requerimientos energéticos de estos tejidos con respecto al organismo completo, puede ayudar a explicar las diferencias de crecimiento y composición corporal observadas al comparar la raza Ibérica con las mejoradas. Para alcanzar tal fin se utilizó el método de la diferencia arterio-venosa en la concentración de  $O_2$ , junto con el método de calorimetría indirecta para la medición de la producción de calor del conjunto de vísceras que drenan al sistema porta y del animal completo, respectivamente.

## 2.1. Gasto energético del conjunto de vísceras que drenan al sistema porta

En la aplicación del método de la diferencia arterio-venosa, las vías sanguíneas elegidas para la implantación de catéteres fueron, además de la vena porta, la arteria carótida para la toma de muestras; y la vena ileal para la infusión del marcador. La vena porta es de gran importancia en estudios fisiológicos puesto que en ella confluye toda la sangre procedente del estómago, tracto intestinal, páncreas y bazo, conocidos en general como el conjunto de vísceras que drenan al sistema porta (VDP), y es la principal ruta de transporte de los nutrientes absorbidos en el tracto gastrointestinal hacia los

tejidos periféricos de interés económico/productivo (músculo, glándula mamaria y útero), a excepción de los ácidos grasos de cadena larga que se transportan por vía linfática y entran en el ducto torácico (Yen y Killefer, 1987) y de ciertas proteínas sintetizadas y nutrientes absorbidos en las paredes del intestino. La técnica de la diferencia arterio-venosa presenta ciertas limitaciones, puesto que no se pueden determinar con exactitud a partir de la vena porta todos los nutrientes que estarán disponibles para el organismo (Rérat y col., 1980).

En esta Tesis Doctoral se utilizó la técnica de la diferencia arterio-venosa para la determinación del consumo de O<sub>2</sub> por el VDP tanto para la raza Ibérica como para Landrace. Para ello, se determinó la concentración de O<sub>2</sub> (mM) en sangre arterial y portal, aplicando la siguiente ecuación (Huntington y col., 1990):

$$\text{Concentración de O}_2 \text{ (mM)} = \frac{\text{Hb (g/l)} \times \text{Saturación de O}_2 \text{ (\%)} \times 1,33 \text{ ml O}_2\text{/g Hb}}{100 \times 22,4 \text{ ml O}_2\text{/mmol O}_2}$$

donde Hb es la concentración de hemoglobina en sangre, y los valores 1,33 y 22,4 son constantes que indican la cantidad de O<sub>2</sub> (ml) presente por gramo de hemoglobina y mol de O<sub>2</sub>, respectivamente. Los parámetros sanguíneos se midieron mediante un hemoxímetro OSM 3 (Radiometer Corporation, Copenhagen, Denmark).

Acto seguido, se determinó el consumo de O<sub>2</sub> (mmol/min) por el VDP empleando la ecuación siguiente:

$$\text{Consumo O}_2 = [\text{ConcO}_2\text{AC} - \text{ConcO}_2\text{VP}] \times \text{FSP}$$

donde ConcO<sub>2</sub> es la concentración de O<sub>2</sub> (mmol/l) determinada en la sangre extraída tanto de la arteria carótida (AC) como de la vena porta (VP), y FSP el flujo sanguíneo portal (l/min) determinado mediante el PAH (Katz y Bergman, 1969).

Para determinar la producción de calor del VDP se utilizó el valor de 20,4 kJ/l como equivalente energético del O<sub>2</sub> (Rérat y Vaissade, 1993), y el valor obtenido se refirió a peso metabólico y día.

Multitud de trabajos, principalmente en rumiantes, han puesto de manifiesto la importante contribución del VDP y el hígado al gasto energético del organismo completo en relación a su masa. Huntington y Reynolds (1987) indicaron que en bovino el VDP era responsable del 18 al 25% del consumo de O<sub>2</sub> total del animal, mientras que su contribución era del 8 al 10% del peso corporal. Por su parte, el consumo de O<sub>2</sub> del hígado fue aún mayor que el del VDP cuando su contribución al peso corporal era tan sólo del 1 al 2%. El consumo de O<sub>2</sub> por el VDP es una medida del metabolismo respiratorio de estos tejidos y un medio de evaluar los costes de absorción de nutrientes en

relación a la raza, el estado productivo, la dieta o el consumo de O<sub>2</sub> total por el animal (Huntington y Tyrrell, 1985). En corderos, los tejidos espláncnicos representaron el 52% del consumo de O<sub>2</sub> total, del cual del 18 al 29% correspondió al VDP y el 25% al hígado cuando su contribución al peso corporal fue aproximadamente del 7 y 2%, respectivamente (Burrin y col., 1989). Los estudios en cerdos son mucho más escasos y realizados, casi exclusivamente, en razas mejoradas. Así, Yen y col. (1989) y Yen (1997) obtuvieron que en cerdos, el VDP era responsable del 25% del consumo de O<sub>2</sub> total cuando sus masas representaban sólo el 5% del total. Stoll y Burrin (2006) mencionaron que el desproporcionado impacto del VDP en relación a su masa (4 al 6% del PV del animal) podía ser debido en gran parte a la elevada tasa de síntesis proteica fraccional y consumo de O<sub>2</sub> (más del 35% de la renovación proteica y del gasto energético total) principalmente por parte del intestino delgado. De manera similar, Webster (1981) indicó que los órganos del sistema digestivo tenían una tasa de renovación proteica considerablemente mayor que otros componentes corporales. De hecho, se ha comprobado que la síntesis proteica de los tejidos espláncnicos con respecto a la total fue superior (del 35 al 40% entre el tracto gastrointestinal, hígado, riñones y páncreas) que en el caso del músculo esquelético (del 24 al 28%) tanto en cerdos como en ganado bovino (Lobley y col., 1980; Simon y col., 1982). El tracto gastrointestinal tiene una rápida tasa tanto de síntesis como de degradación proteica, estimándose la deposición proteica neta en menos del 2% de la tasa de síntesis (Sainz y col., 1986; Early y col., 1990). Webster y col. (1978) sugirieron una estrecha relación entre la síntesis proteica corporal total y la pérdida de calor en ratas

congénitamente obesas y magras. Dentro del tracto gastrointestinal el intestino delgado, que representa únicamente el 2% del peso total en el cerdo, es el principal órgano involucrado en la producción de calor, junto al hígado, el páncreas y los riñones (Pekas y Wray, 1991). Podemos concluir, tal y como hizo Koong y col. (1983), que la producción de calor de estos órganos tan activos metabólicamente constituye una porción importante de la producción de calor total. Esto puede deberse en parte a que los tejidos espláncnicos (junto al sistema nervioso, el corazón y los riñones) reciben más aporte sanguíneo que el músculo, el tejido adiposo, la piel u otros tejidos (Ferrell, 1988).

Según Edelstone y Holzman (1981), los órganos y tejidos satisfacen sus necesidades de  $O_2$  alterando las relaciones entre el flujo sanguíneo, el suministro de  $O_2$  y su extracción. Cómo interrelacionan estos factores depende de cada órgano y tejido y del estado fisiológico, aunque, de manera general, el incremento en el consumo de  $O_2$  por el VDP se produce como consecuencia de un flujo sanguíneo más rápido a través de él en respuesta a un aumento de la ingesta energética (Lomax y Baird, 1983). El flujo sanguíneo intestinal está sujeto a mecanismos reguladores tanto intrínsecos como extrínsecos, mostrando una respuesta clara a la alimentación al aumentar pronunciadamente la irrigación sanguínea en el proceso de la digestión. Los mecanismos intrínsecos involucrados en este proceso serían los siguientes: reflejo local a la presencia de contenido luminal, liberación de hormonas gastrointestinales vasoactivas (gastrina, secretina y/o colecistoquinina) y el incremento del metabolismo intestinal (Granger y col., 1980). En cambio, el control neural extrínseco estaría influenciado principalmente por el sistema

nervioso simpático, cuya actividad reduce la resistencia vascular de las arterias y arteriolas (las venas tienen más limitada la inervación simpática). Esta resistencia vascular a través del intestino determina el flujo mesentérico y, por tanto, el flujo venoso portal (Takala, 1997).

Dada la importancia metabólica del VDP en el organismo y su mayor contribución al peso total en la raza Ibérica con respecto a razas magras o mejoradas, conocer el gasto energético de estos órganos resulta imprescindible para atender mejor las necesidades energéticas de los tejidos periféricos de interés económico productivo (músculo y glándula mamaria, principalmente) y para la mejor comprensión del metabolismo de esta raza autóctona con tendencia a la obesidad. Actualmente no hay ningún trabajo publicado sobre la contribución del VDP al gasto energético total del cerdo Ibérico.

## 2.2. Gasto energético total

La energía es el principal factor limitante en producción animal. Su disponibilidad afecta a la adaptación de los animales a su entorno, al comportamiento e incluso la estrategia de alimentación (Lachica y Aguilera, 2003). Los requerimientos de energía de los animales de granja se dividen básicamente en dos: mantenimiento y producción (crías, carne o leche, principalmente). El mantenimiento puede definirse como el estado en el cual no hay ni pérdida ni ganancia de energía por el organismo. Los requerimientos para el mantenimiento son la cantidad de nutrientes necesarios para conseguir ese estado de equilibrio en el organismo, aunque en animales en crecimiento es difícil de determinar puesto que, además de la energía para el mantenimiento, precisan energía extra para el crecimiento de los tejidos. En cerdos en crecimiento, bajo condiciones normales de alimentación, la principal fuente de energía son los hidratos de carbono, seguidos de las proteínas. Juntos proporcionan la energía suficiente para cubrir las necesidades de mantenimiento y crecimiento, mientras que, en general, la grasa de la dieta no necesita ser oxidada y es depositada (Chwalibog y Thorbek, 2000). Durante el ayuno, la movilización de las reservas de grasa llega a ser la principal fuente de energía, seguida por la oxidación de las proteínas. Con la realimentación, dejan de utilizarse las reservas de grasa y proteína del organismo, usándose los nutrientes de la dieta (Chwalibog y col., 2004).



El principio general de conservación de la energía o primera ley de la termodinámica puede enunciarse del modo siguiente: “La energía no se crea ni se destruye, por lo que, en cualquier proceso termodinámico, la cantidad total de energía se mantiene constante”. De la propia definición se deduce de lo incorrecto del término “gasto energético” debiéndose utilizar “producción de calor” o, mejor aún, “transferencia de energía”, si bien el primero es el normalmente usado por la comunidad científica internacional. Resulta de especial interés la aplicación de este principio a los procesos que relacionan el trabajo y el calor que intercambia un sistema u organismo con su entorno, y la energía total que es capaz de almacenar (energía interna, U). Dichos parámetros están relacionados mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta U = Q - W$$

donde  $\Delta U$  es la variación de la energía interna de un sistema desde un estado inicial a uno final, Q es la suma de calor intercambiado entre el sistema y su entorno a lo largo de ese cambio de estado, y W es el trabajo realizado por el sistema o sobre éste. El sistema ganará energía si el calor absorbido es mayor que el trabajo realizado o si el calor perdido es menor que el trabajo que se realiza sobre él. Mediante la aplicación de este principio se puede conocer, por ejemplo, cuánta de la energía ingerida por el animal queda disponible para mantenimiento y producción sin recurrir al sacrificio final del animal ni a

laboriosos análisis posteriores. Para ello, basta con determinar la producción de calor del organismo en reposo.

Los animales producen calor a partir de una variedad de procesos metabólicos como el mantenimiento, la termorregulación, la actividad física y la producción. En cerdos, la producción de calor representaría más del 50% de la energía ingerida (van Milgen y Noblet, 2000). La técnica que permite medir este calor es la calorimetría, basada a su vez en la ley de Hess: “si una reacción puede producirse en varias etapas, reales o teóricas, su variación de entalpía ( $\Delta H$ ) es igual a la suma de las entalpías de reacción de estas reacciones intermedias”. Así, si una reacción *a* puede considerarse como suma de otras reacciones *b*, *c*, *d*, etc., se cumplirá:

$$\Delta H_a = \Delta H_b + \Delta H_c + \Delta H_d + \dots$$

De esta manera, al medir el calor producido estamos incluyendo todos los procesos metabólicos en los que se genera calor durante un período de tiempo determinado como por ejemplo, tras la ingestión de una cantidad conocida de alimento. La medición de la producción de calor puede realizarse por calorimetría directa o indirecta. Según Kleiber (1975) “la calorimetría indirecta mide la producción de calor de un animal; la calorimetría directa mide la pérdida de calor”. Esta última se basa en la determinación de la producción de calor mediante la suma del flujo de calor por conducción, convección, radiación

y evaporación entre el animal y el calorímetro y entre éste y los sistemas analíticos. Elegir la medición de la producción de calor por calorimetría directa o indirecta dependerá del objetivo final del estudio. Es preferible utilizar la calorimetría directa cuando interese saber si un proceso en concreto está teniendo lugar y cómo de rápido, mientras que el uso de la calorimetría indirecta estaría recomendado en aquellos casos en los que interese conocer la razón o razones de la pérdida de calor observada (Lamprecht y Schmolz, 1999).

La calorimetría indirecta se basa en el principio de que el calor sólo puede ser producido a través de la oxidación de los nutrientes (hidratos de carbono, proteínas y grasa). El cálculo de la producción de este calor metabólico se realiza midiendo el consumo de  $O_2$  y la producción de  $CO_2$  del individuo objeto de estudio. Por tanto, la producción de calor en animales puede determinarse conociendo el sustrato metabolizado, en combinación con la medida del consumo de  $O_2$  y la producción de  $CO_2$ . Una vez medida la tasa de consumo de  $O_2$  y la de producción de  $CO_2$ , se multiplica por el equivalente térmico estimado del intercambio respiratorio de gases (J/l). Sin embargo, los equivalentes térmicos tanto del consumo de  $O_2$  como de la producción de  $CO_2$  no son constantes, dependiendo de la proporción de lípidos, hidratos de carbono y proteínas que sean catabolizados. Para estimar estos equivalentes térmicos, se asumen tres supuestos: la catabolización exclusiva de lípidos en situaciones de ayuno, la catabolización de nutrientes en proporción a su abundancia en la dieta, y la relación de hidratos de carbono/lípidos oxidados,

determinada por el cociente respiratorio o RQ (respiratory quotient; Walsberg y Hoffman, 2005).

El RQ expresa los moles de  $\text{CO}_2$  producidos con respecto a los moles de  $\text{O}_2$  consumidos por el animal. El catabolismo exclusivo de hidratos de carbono y de grasas tendría un RQ de 1,0 y 0,7, respectivamente. A diferencia de estos sustratos, la oxidación de la proteína es un proceso incompleto produciéndose urea en los mamíferos, la cual es excretada a través de la orina. Suponiendo que se excrete como urea todo el nitrógeno de la proteína catabolizada, el valor del RQ para el catabolismo proteico se situaría en torno a 0,8 (Kleiber, 1961). Valores de RQ por encima de 1 son bastante comunes en animales en crecimiento alimentados con dietas bajas en grasas y altas en hidratos de carbono, donde el exceso de hidratos de carbonos se oxidaría y la energía producida se utilizaría para el almacenaje de grasas. Por su parte, valores entre 0,7 y 0,8 indicarían un estado de ayuno con oxidación de grasas y proteínas corporales. El RQ depende por tanto de la dieta y del estado fisiológico del animal, siendo más bajo en animales en ayunas que en animales que no lo están. Sin embargo, estas suposiciones no siempre reflejan el metabolismo real que tiene lugar en el organismo, puesto que en condiciones de ayuno pueden catabolizarse igualmente otras sustancias además de grasas y proteínas, desarrollarse de forma simultánea al catabolismo procesos de síntesis que consuman  $\text{O}_2$  o produzcan  $\text{CO}_2$ , producirse una incompleta oxidación de los nutrientes (como la producción de cuerpos cetónicos durante el catabolismo de los lípidos) o que haya un lapso de tiempo entre el  $\text{CO}_2$  producido y el exhalado durante un intervalo dado. Es por ello que el valor del

RQ debe interpretarse con precaución, aunque es un buen indicador de la normalidad del metabolismo de los organismos (Kleiber, 1961).

Las cámaras de respirometría existentes en el Instituto de Nutrición Animal siguen el principio de calorimetría indirecta pudiéndose realizar mediciones tanto en circuito abierto como en confinamiento (Aguilera y Prieto, 1986; Lachica y col., 1995). Para las mediciones en circuito abierto una corriente de aire procedente del exterior es bombeado continuamente al interior de la cámara y sale de ella como resultado de la acción de una bomba de succión situada en el circuito de salida de la cámara (Lachica, 1993). Para la medida del gasto energético es necesaria la determinación precisa del caudal de aire en condiciones estándar que abandona la cámara y de las concentraciones de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> en el aire que entra y sale de ella, y a partir de esto, y por la transformación de Haldane, el volumen de aire que penetra en la cámara. La siguiente ecuación muestra las operaciones realizadas por la transformación de Haldane:

$$\text{Vaire entrada} \times [\text{N}_2] \text{ entrada} = \text{Vaire salida} \times [\text{N}_2] \text{ salida}$$

$$\text{Vaire entrada} = \frac{\text{Vaire salida} \times [\text{N}_2] \text{ salida}}{[\text{N}_2] \text{ entrada}}$$

donde V es el volumen (l)

La diferencia entre estas concentraciones determina la cantidad de  $O_2$  y  $CO_2$  alterada por el metabolismo del individuo objeto de estudio (Ravussin y col., 1986). Para el desarrollo de la presente Tesis Doctoral se utilizaron cámaras de respirometría en confinamiento, en las que no existe entrada de aire desde el exterior ni salida desde el interior. Para evitar concentraciones de  $CO_2$  más allá del 1% como consecuencia del intercambio gaseoso del animal, lo que le causaría trastornos respiratorios, se renovaba el aire de la cámara minutos antes de alcanzar esa concentración. Al inicio y al final del período de medida, una alícuota de aire del interior de la cámara era analizada en  $O_2$  y  $CO_2$  y, acto seguido, era devuelta a ella formándose así un circuito cerrado cámara-analizadores de gases (Lachica, 1993). Al multiplicar el volumen de la cámara en condiciones estándar por las concentraciones de  $CO_2$  y  $O_2$ , se obtuvo el volumen de estos gases en los períodos inicial y final y, por diferencia de ambos, la cantidad producida y consumida por el animal, respectivamente (Lachica y Aguilera, 2000).

Una vez obtenidos los valores del consumo de  $O_2$  y de producción de  $CO_2$  por el animal, la producción de calor se determinó según la ecuación de Brouwer (1965):

$$PC = (16,18 \times O_2) + (5,02 \times CO_2) - (2,17 \times CH_4) - (5,99 \times N)$$

donde PC es la producción de calor (kJ), O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> representan volúmenes de O<sub>2</sub> consumido y de CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> producidos (l), y N es la cantidad (g) de nitrógeno urinario excretado (McLean, 1972). Ni el CH<sub>4</sub> ni el N se consideraron en la determinación de la producción de calor total en los experimentos llevados a cabo, ya que ambos se producen en cantidades mínimas. De hecho, incluso en cerdos alimentados con una dieta alta en fibra, la producción de CH<sub>4</sub> fue inferior al 1,3% del total de energía perdida, situándose en el 0,2% en dietas con bajo contenido; mientras que el N urinario se situó en el 2,4% del total de energía perdida (Jørgensen y col., 1996). El CH<sub>4</sub> y N urinario excretado contribuyen en torno al 1% de la producción de calor total. En general se considera que el O<sub>2</sub> contribuye aproximadamente el 75% y el CO<sub>2</sub> el 25% restante (McLean, 1972). De ahí que la mayoría de trabajos excluyan igualmente la medición de la producción de CH<sub>4</sub> y de N, realizando sólo medidas del consumo de O<sub>2</sub> y de la producción de CO<sub>2</sub> para la determinación de la producción de calor total del animal (Henken y col., 1991; Yen y col., 1991b; van Milgen y col., 1997; Lachica y Aguilera, 2000; Quiniou y col., 2001).

Tradicionalmente, se ha relacionado la producción de calor total con el peso corporal mediante una función alométrica capaz de comparar animales

adultos de distintas especies, el llamado tamaño corporal metabólico (Kleiber, 1961).

$$PC = aPV^b$$

donde “a” y “b” son constantes; “a” varía según el mayor o menor plano de alimentación y según la temperatura ambiental, y “b” es el cociente entre el incremento de la producción de calor (PC) con respecto al incremento en el peso corporal (PV). Normalmente se utiliza un valor de “b” de 0,75, obtenido a partir de comparaciones en la producción de calor en ayunas entre diferentes especies de animales adultos (Kleiber, 1975). Sin embargo, existe una gran variabilidad de esta constante en comparaciones intraespecíficas (Brown y Mount, 1982) debido a factores diversos como la edad, la raza y/o el nivel de nutrición (Burrin y col., 1989). De hecho, para cerdos en crecimiento, el exponente parece estar cercano a 0,60 (van Milgen y col., 1998). El flujo sanguíneo a través de un órgano también se ha relacionado alométricamente con el peso corporal del animal mediante un valor de “b” de 0,75, lo que significa que animales más grandes tendrían relativamente menor flujo sanguíneo a través de un órgano cuando se expresase por unidad de volumen o peso del órgano (West y col., 1997; Anderson y Holford, 2008).

En los trabajos presentados como anexo de esta memoria de Tesis Doctoral, los datos de producción de calor se expresaron en relación al peso



metabólico con un valor de “b” de 0,75 para su extrapolación a cualquier especie animal.

---

**3. *Presentación en imágenes de la cateterización arterio-venosa y de la toma de muestras***

---

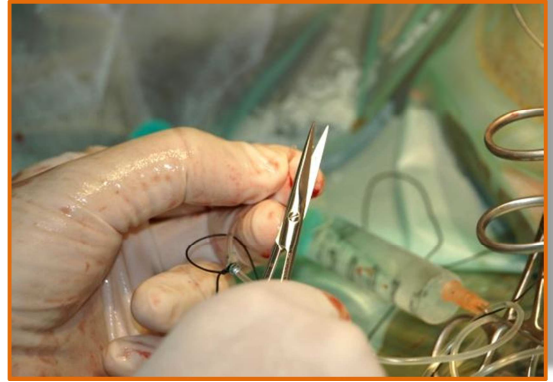




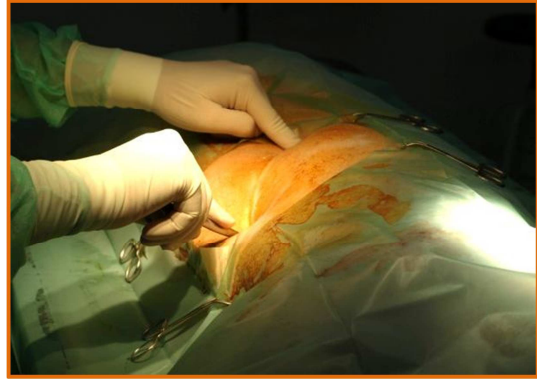
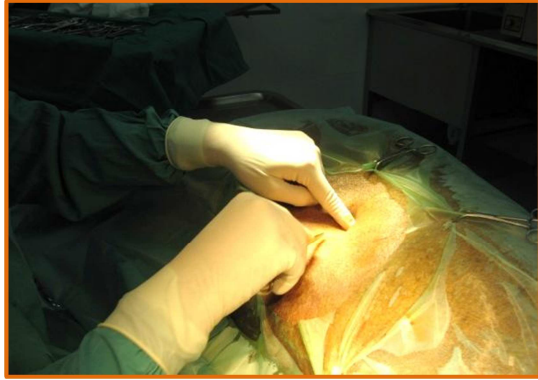
1. Afeitado, lavado y desinfección de las zonas quirúrgicas posteriormente a la inducción de la anestesia con una combinación de Ketamina (15 mg/kg PV; Imalgene 1000, Merial, Barcelona, España)/Azaperona (2 mg/kg PV; Stresnil, Steve, Barcelona, España).



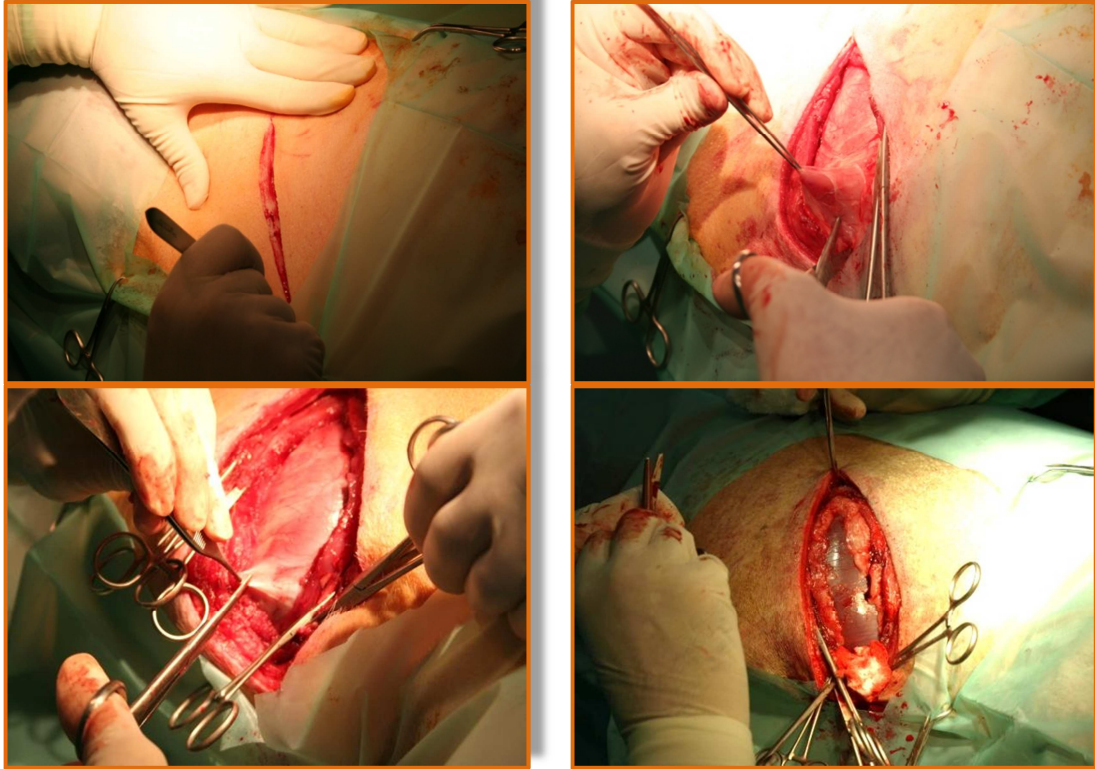
2. Traslado del animal al quirófano y colocación en posición decúbito lateral izquierdo. Mantenimiento de la anestesia mediante  $O_2$  (22-44 ml/kg PV y minuto) y halotano al 5% en los primeros minutos y al 0,5-2% durante el resto de la cirugía. Nueva desinfección de la zona abdominal con alcohol (70%) y solución yodada (7,5%) pulverizados.



3. Material quirúrgico estéril y corte del extremo craneal de los catéteres, provistos todos de dos anillos de 2 y 5 mm de longitud (proximal y distal, respectivamente), en un ángulo de 45° opuesto al lado de tendencia de en rollamiento de los mismos.

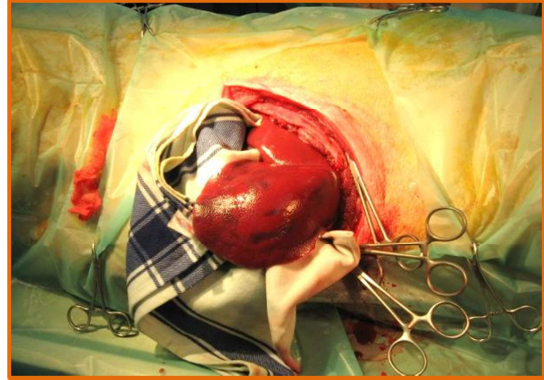


4. Campo estéril e incisión de la cavidad abdominal por detrás y paralelo a la última costilla en el lado derecho del animal.

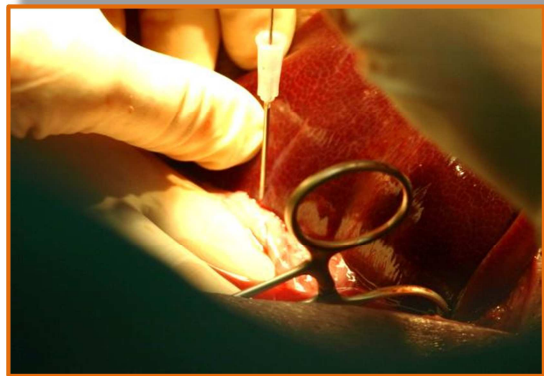
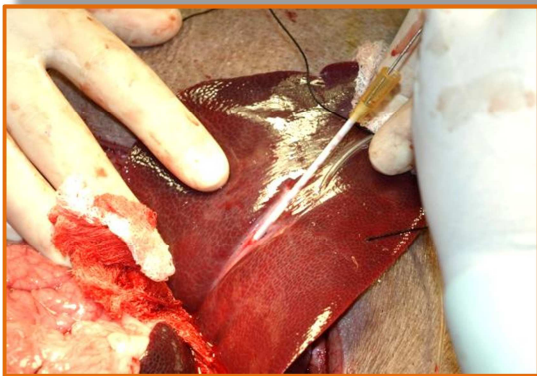
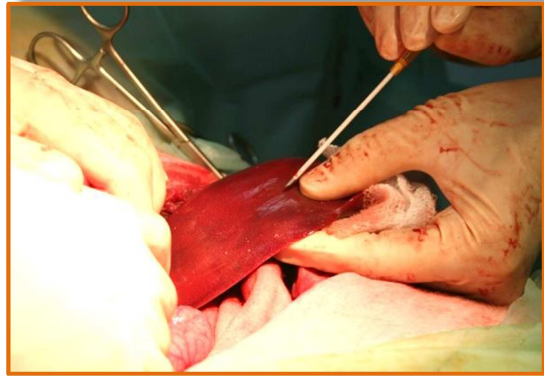
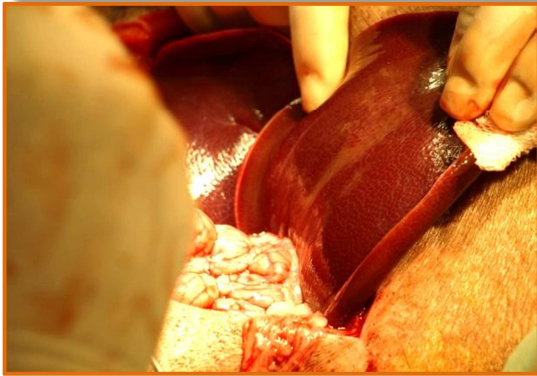


5. Acceso a la cavidad abdominal mediante corte de la piel, capas musculares y peritoneo.

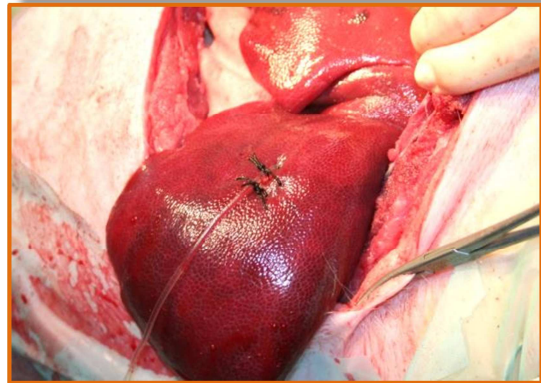
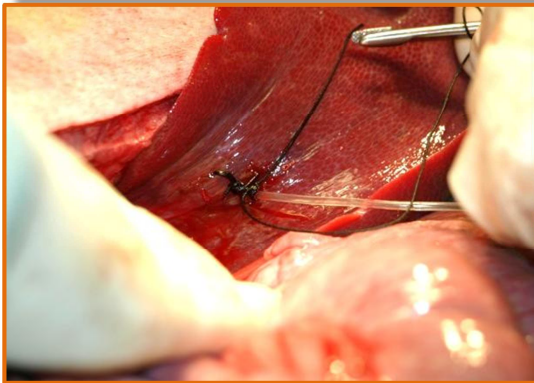
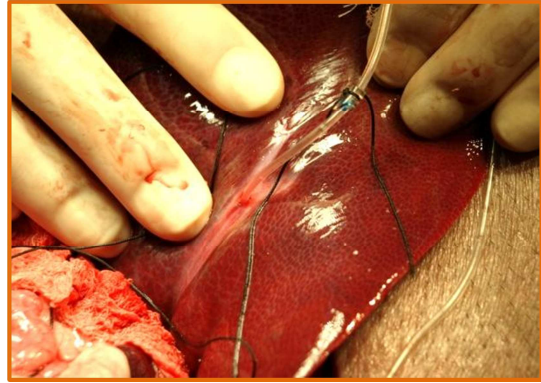
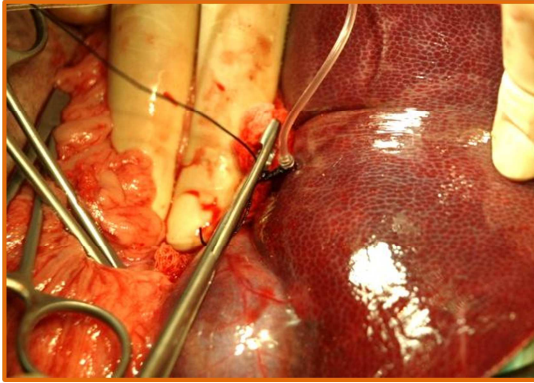




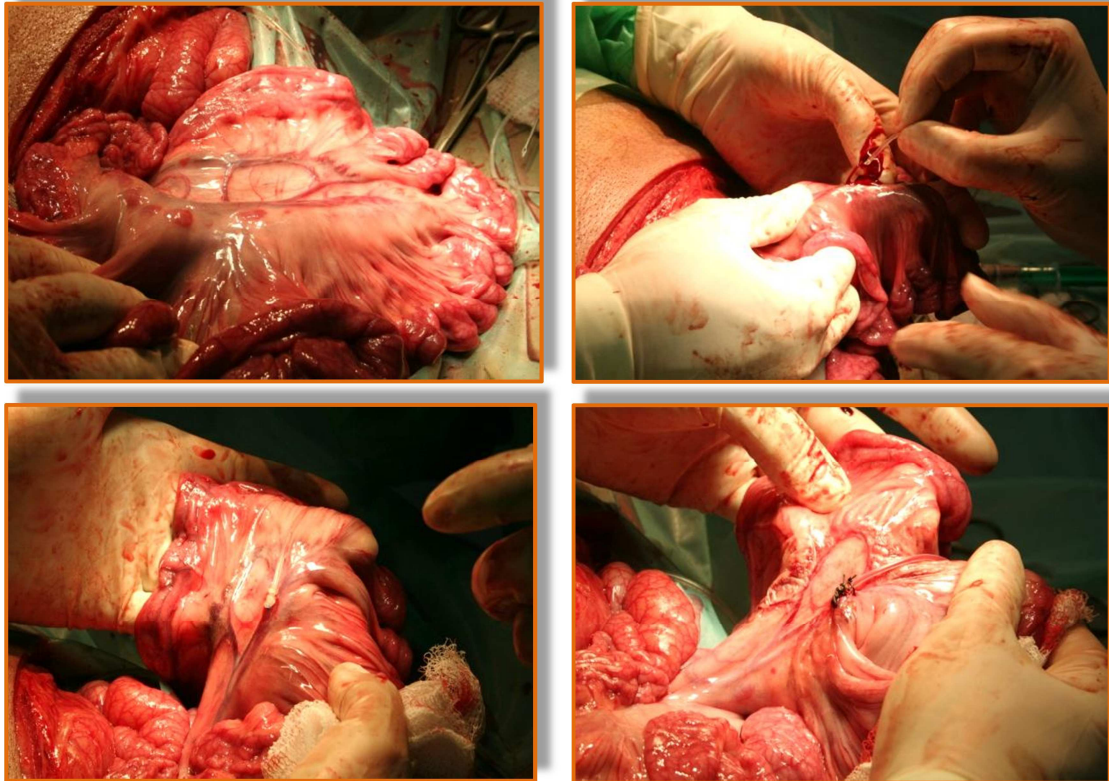
6. Uso de paño estéril, templado y húmedo para mantener las vísceras en el interior de la cavidad abdominal. Localización y aislamiento del lóbulo lateral izquierdo del hígado.



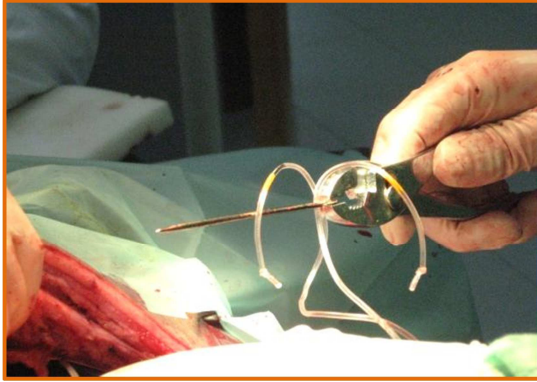
7. Localización de una rama de la vena porta en el lóbulo lateral izquierdo de la cara visceral del hígado. Punción e introducción de guía metálica.



8. Inserción del catéter portal (Tygon, d.i. 1,27 mm, d.e. 2,29 mm; Cole-Parmer, Chicago, IL, USA) y doble fijación al tejido hepático mediante sutura no absorbible anudada entre los dos anillos (una 2 mm craneal respecto al punto de inserción del catéter y otra tras el anillo distal).



9. Localización de la vena ileal en el mesenterio. Inserción del catéter ileal (Tygon, i.d. 1.02 mm, o.d. 1.78 mm; Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, USA) y doble fijación mediante sutura no absorbible alrededor de la vena (una entre los dos anillos y otra tras el anillo distal).



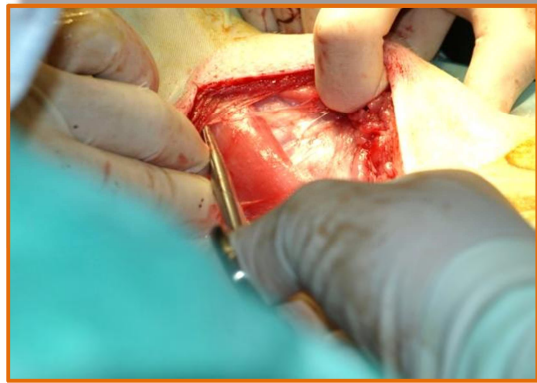
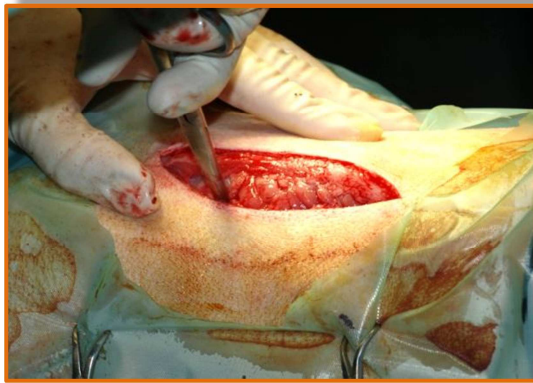
10. Exteriorización de catéteres portal e ilíaco mediante un trocar, cerca del proceso lateral de la vértebra situada entre la parte caudal del diafragma y la craneal del riñón derecho. Lavado de la cavidad abdominal mediante solución salina estéril caliente (39°C).



11. Cierre de la cavidad abdominal en tres capas, con el peritoneo incluido en la primera capa muscular, empleando antibióticos y sutura absorbible para las dos primeras capas (peritoneo y capas musculares) y sutura no absorbible para la piel.

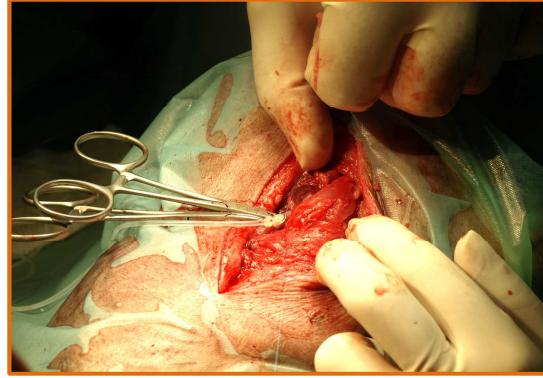
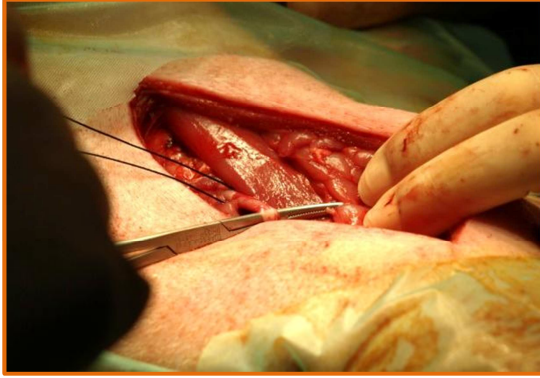


12. Cambio de posición del cerdo en decúbito supino y nueva desinfección de la zona mediante pulverización con alcohol al 70% y solución yodada al 7,5%.

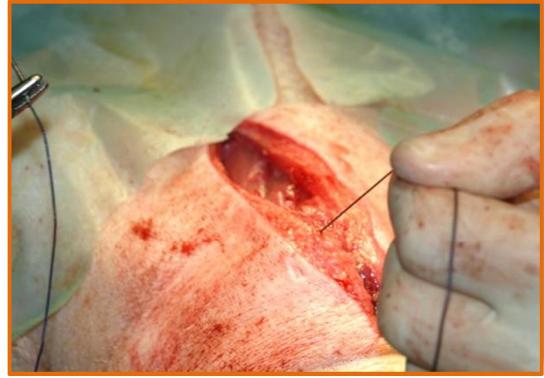
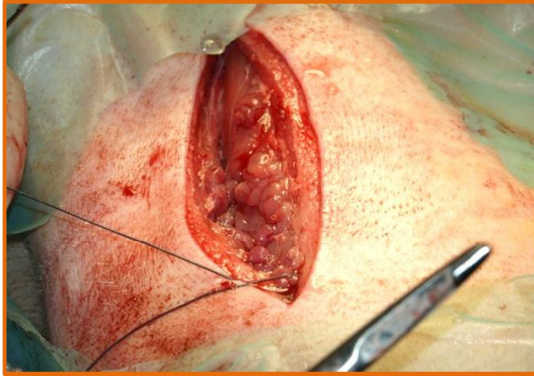


13. Incisión siguiendo el surco yugular y localización de la vaina que envuelve la arteria carótida tras la disección entre los músculos esternocleidomastoideo y braquiocefálico.





14. Aislamiento y disección de la pared de la arteria carótida del tejido conectivo. Interrupción del flujo sanguíneo con ayuda de dos hemostáticos, inserción del catéter arterial (Tygon, i.d. 1.02 mm, o.d. 1.78 mm; Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, USA) y doble sujeción mediante sutura no absorbible; la primera sutura en bolsa de tabaco realizada en la pared de la arteria y fijada entre los dos anillos del catéter, y la segunda realizada tras el anillo distal en el tejido adyacente.



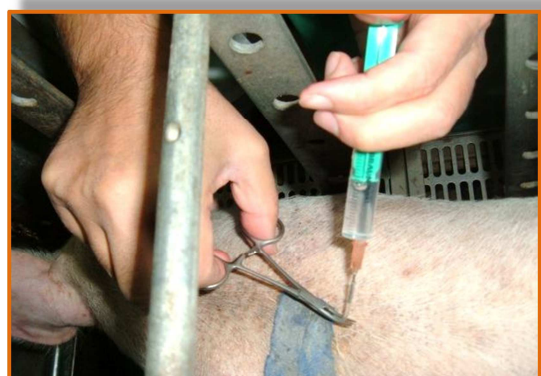
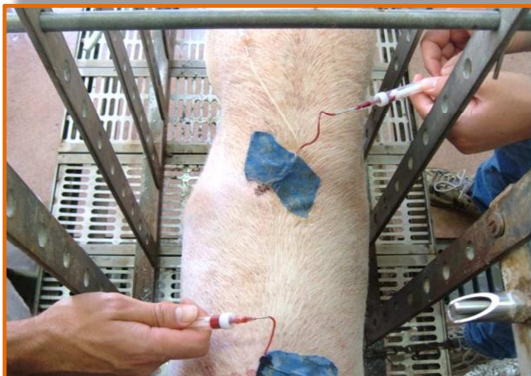
15. Exteriorización del catéter arterial dorsalmente, por debajo y detrás de la oreja, utilizando un trocar. Cierre de la incisión mediante sutura absorbible y no absorbible para tejidos subcutáneos y piel, respectivamente.



16. Fijación de los catéteres a la parte dorsal del animal mediante el pegado de parches de venda y pulverización de un antiséptico cicatrizante sobre las heridas.



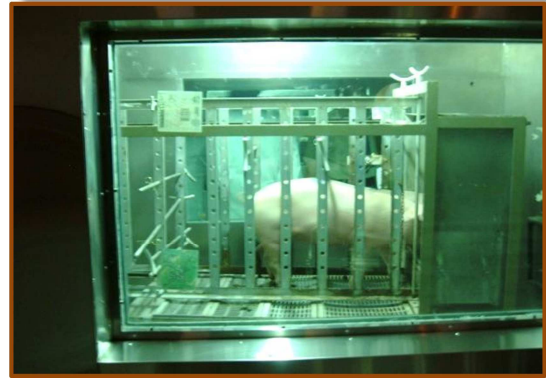
17. Recuperación de la anestesia en jaulas provistas de lámparas calefactoras previo a su alojamiento definitivo en jaulas metabólicas.



18. Infusión de ácido PAH (2% peso/volumen) a través del catéter ileal una semana después de la recuperación de los animales. Recogida de muestras sanguíneas a partir del catéter arterial y portal, simultáneamente, 5 min antes y 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5 y 6 horas después de la ingestión del 25% de la ración diaria.



19. Medición, en condiciones de anaerobiosis, de la concentración de  $O_2$  y cantidad de hemoglobina de la sangre portal y arterial mediante un hemoxímetro OSM 3. Obtención del plasma sanguíneo por centrifugación a 2.000 g y  $4^{\circ}C$  durante 30 min a partir de las muestras sanguíneas. Mantenimiento a  $-20^{\circ}C$  hasta el análisis para la determinación de la concentración de ácido PAH.



20. Traslado de los animales en sus respectivas jaulas metabólicas hasta las cámaras de respirometría para la medición, tras 18 horas de adaptación, de la cantidad total de  $O_2$  consumido y  $CO_2$  producido bajo las mismas condiciones experimentales en las que tuvo lugar la medición de la diferencia arterio-venosa de  $O_2$ .

---

## ***4. Objetivos***

---





Se planteó para el desarrollo de la presente Tesis Doctoral un estudio metabólico comparativo entre la raza Ibérica y la Landrace, considerada esta última como modelo de raza mejorada, para evaluar el impacto de las vísceras que drenan al sistema porta sobre la producción de calor del organismo completo. La hipótesis inicial era que las vísceras en el Ibérico, por su mayor peso relativo, tendrían un mayor gasto energético que en razas mejoradas explicando así en parte su menor eficiencia energética para el crecimiento. Para ello se formularon dietas que cubrieran las necesidades de proteína y energía de ambas razas. En un primer trabajo, cerdas en crecimiento de la raza Ibérica y Landrace consumieron una dieta con un nivel de proteína bruta del 12,9%, óptimo para el crecimiento de la raza Ibérica. En un segundo trabajo los animales consumieron una dieta con un 16% de proteína bruta, óptimo para el crecimiento de las cerdas Landrace. En ambos trabajos la ración diaria de alimento fue la misma para las dos razas estudiadas. Los objetivos fueron los siguientes:

- Desarrollo de un método quirúrgico para la cateterización de la vena porta, vena ileal y arteria carótida, así como el diseño de los catéteres y la pauta de mantenimiento de los mismos.
- Caracterización metabólica de la raza Ibérica y su comparación con la raza Landrace mediante la determinación de la producción

de calor tanto a nivel de las vísceras que drenan al sistema porta como a nivel global, mediante la técnica de la diferencia arterio-venosa y el empleo de la calorimetría indirecta, respectivamente. Para ello se determinó el flujo sanguíneo portal y la concentración de O<sub>2</sub> y diversos parámetros sanguíneos a partir de la extracción simultánea de sangre procedente de la arteria carótida y de la vena porta.

---

## **5. *Discusión***

---



El análisis químico de las dietas se llevó a cabo según métodos estandarizados (AOAC, 2000). Ambas dietas tuvieron, de media, aproximadamente un 2% de proteína bruta por encima de lo esperado. El contenido de proteína bruta en la dieta óptima para la raza Ibérica fue de 145 g/kg de materia seca, mientras que para la raza Landrace fue de de 187 g/kg de materia seca.

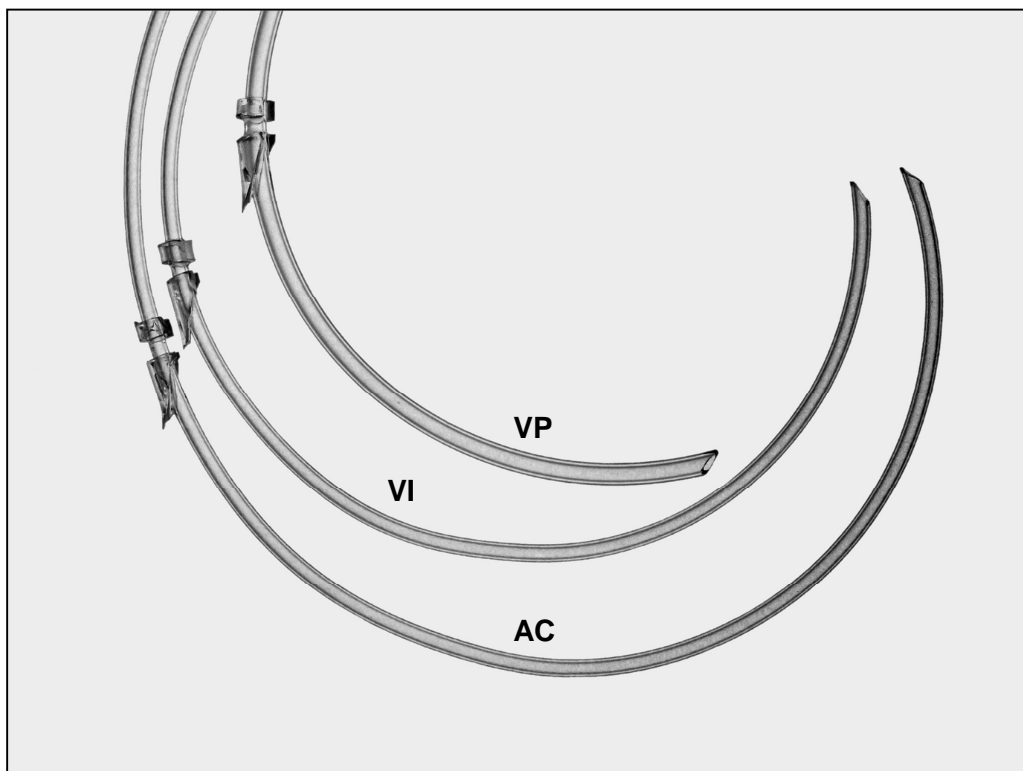
#### 5.1. Catéteres, procedimiento quirúrgico y empleo del ácido para-aminohipúrico para la determinación del flujo sanguíneo

Para la puesta a punto del método de la diferencia arterio-venosa se utilizaron cerdos de la raza Landrace de aproximadamente 24 kg de PV. Esta primera fase de la presente Tesis Doctoral quedó recogida en el Trabajo de Investigación Tutelada presentado en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada (Rodríguez-López, 2008).

El diseño de los catéteres varía ampliamente en la literatura. En la puesta a punto del método, los tres catéteres utilizados (en vena porta, vena ileal y arteria carótida) tuvieron inicialmente diámetros idénticos (i.d. 1,02 mm; o.d. 1,78 mm). Sin embargo, como consecuencia del frecuente bloqueo del catéter portal en los días posteriores a la cirugía, se decidió utilizar un mayor diámetro (i.d. 1,27 mm; o.d. 2,29 mm), empleándose a partir de entonces dos tipos de catéteres de idénticas dimensiones a los empleados en otros trabajos (Lenis y col., 1996; van der Meulen y col., 1997). Gracias a esto, no se

volvieron a detectar problemas de obstrucción en el catéter portal en ninguno de los tres experimentos recogidos en esta memoria de Tesis Doctoral. De estos, el primer experimento recoge la descripción detallada del diseño de los catéteres así como el proceso de implantación de los mismos en la vena porta, vena ileal y arteria carótida.

El tubo de Tygon® que se utilizó para fabricar los catéteres se adquirió en bovinas de 100 m lo que dio como resultado que presentaran una tendencia al enrollamiento. Aprovechando esta tendencia, el extremo craneal de los tres catéteres (vena porta, vena ileal y arteria carótida) fue cortado en un ángulo de 45° partiendo desde el lado opuesto al de su tendencia de enrollamiento (Figura 7).



**Figura 7.** Diseño del catéter de la vena porta (VP), vena ileal (VI) y arteria carótida (AC).

Este hecho evitó que el extremo de los catéteres se ocluyera al apoyar contra la pared de los vasos, sobre todo en las pequeñas ramas de los vasos principales; hecho bastante frecuente, lo que dificultaría o en la mayoría de los casos impediría el muestreo sanguíneo. Algunos autores, recurren además a la apertura de varios orificios en las paredes próximas al extremo del catéter como vía alternativa para la recogida de sangre ante una posible obstrucción del mismo (Hooda y col., 2009), aunque podría no ser recomendable por la aparición de turbulencias.

La manera en que se fija el catéter al vaso y/o al tejido circundante es variable. Para el desarrollo de los trabajos de la presente Tesis Doctoral, todos los catéteres portaban dos pequeños anillos de Tygon<sup>®</sup>, proximal y distal (5 y 2 mm de longitud, respectivamente) al extremo craneal, con una separación entre ellos de 2 mm, y situados a 6, 10 y 12 cm del mencionado extremo para la vena porta, vena ileal y arteria carótida, respectivamente (Figura 7). Sin embargo, en lugar de los anillos, hay descritos trabajos en los que se emplea una malla de nylon (Yen y Killefer, 1987) o una roseta en un ángulo de 45° con el catéter (van Leeuwen y col., 1995), fijadas con pegamento, y que se utilizaban para sujetar el catéter a los tejidos colindantes. Recientemente, se ha descrito un diseño intermedio en el que el catéter portal era equipado tanto con un anillo de silicona como con una malla de polivinilo para el anclaje al vaso y al tejido adyacente, respectivamente; por su parte, el catéter arterial era equipado con



tres anillos de silicona (Jørgensen y col., 2010). Anillos que, en todos estos casos, fueron de mayor tamaño a los utilizados en esta Tesis Doctoral.

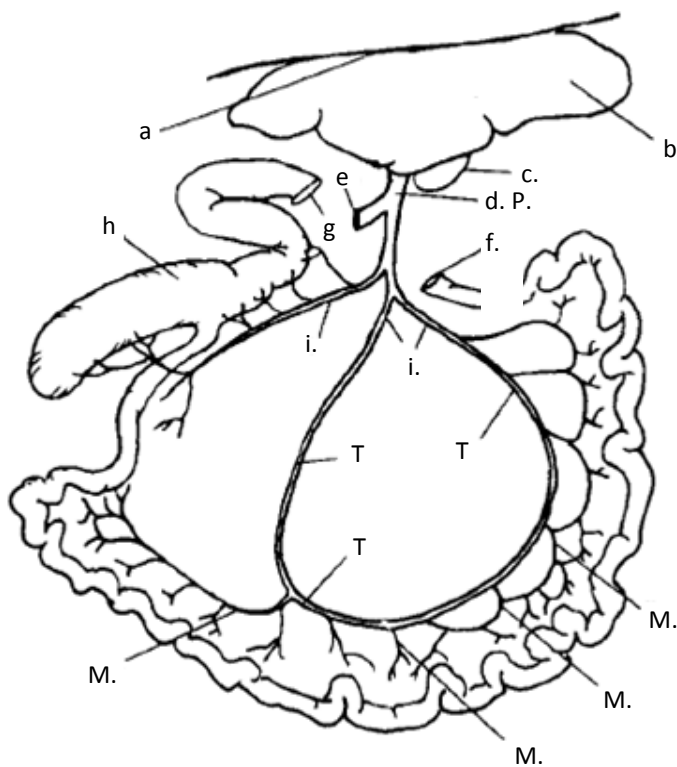
Los anillos fueron interrumpidos en su circunferencia mediante un corte (Figura 7), facilitando así su colocación alrededor del catéter, y fijados a él mediante pegamento (Loctite<sup>®</sup> Superglue-3). La unión del catéter al vaso se realizó empleando una doble fijación mediante sutura no absorbible. En la primera unión, la sutura en semicircunferencia bajo el vaso cateterizado (vena porta e ileal) o en bolsa de tabaco en la pared del mismo (arteria carótida) fue anudada entre los dos anillos del catéter. En la segunda unión, la sutura se fijaba al propio vaso (vena porta e ileal) o al tejido adyacente (arteria carótida) y se anudaba por detrás del anillo distal. De manera similar, Hooda y col. (2009) equiparon con dos anillos el catéter portal, con la peculiaridad de que llegaban a introducir el primer anillo (de 2 mm de longitud) en el propio vaso, anudando la sutura en bolsa de tabaco colocada previamente para su fijación. El segundo anillo era, así mismo, asegurado a la vaina envolvente de la vena porta. En el caso que nos ocupa, el extremo del primer anillo más cercano al extremo craneal del catéter fue cortado en un ángulo de 30° (Figura 7) quedando totalmente en contacto con el exterior del vaso. Este corte favorecía no sólo el anclaje del catéter, sino también su permanencia tangencial al vaso, evitando así posibles estrangulamientos y/o cambios de posición del extremo craneal del catéter ante movimientos del animal o durante su crecimiento. Además, la presencia de este anillo estimuló la formación de adherencias tisulares en los

vasos al incrementar la superficie de contacto, facilitando de este modo el anclaje del catéter.

La vena porta es una sección corta de vaso tras la unión de la vena gastroesplénica (procedente del bazo y del estómago) con la vena mesentérica (procedente del intestino), bifurcándose posteriormente dentro del parénquima hepático en dos ramas principales que irrigan los 4 lóbulos macroscópicos del hígado (Balén y col., 2000). La cateterización de cualquier vaso puede ser directa o indirecta. En el caso de la vena porta, lo más frecuente es indirectamente a través de la vena mesentérica, o directamente (van Leeuwen y col., 1995; Figura 8). Son numerosos los trabajos publicados que describen una cateterización directa a través de la pared de la vena porta (Rérat y col., 1980; Yen y Killefer, 1987; Huntington y col., 1989; Burrin y col., 1989; Prior y Gross, 1995; van Leeuwen y col., 1995; van der Meulen y col., 1997; Hooda y col., 2009). En cambio, pocos llevan a cabo una cateterización indirecta. En la presente Tesis Doctoral, la cateterización indirecta se llevó a cabo a través de la cara visceral del lóbulo lateral izquierdo del hígado, al igual que hicieron Paschen y Müller (1986). Accesos indirectos a la vena porta han sido descritos a través de la vena del bazo (Ten have y col., 1996), por punción a través del lóbulo medio izquierdo del hígado (Olesen y col., 1989), por aplastamiento manual del tejido hepático (Ortigues y col., 1994) o por corte transversal a 3-4 cm desde la parte superior de un lóbulo hepático (Jørgensen y col., 2010).

El acceso indirecto a través del hígado en una de las ramas de la vena porta tiene la ventaja añadida de introducir el catéter a contracorriente hacia

ramas de mayor diámetro, lo que ayuda a solventar los problemas de fluidez de la sangre en el catéter ocasionados por el desarrollo de tejido fibroso en su extremo o el bloqueo del mismo entre pequeñas ramas secundarias, hecho relacionado frecuentemente con la cateterización directa (Ortigue y col., 1994). Sin embargo, en todos los casos hay que comprobar la correcta localización del extremo del catéter en la vena porta (Hecker, 1974).



**Figura 8.** Esquema del circulatorio y principales lugares de inserción de catéteres en la región portal (imagen tomada de Huntington y col., 1989). Donde **a.** representa el diafragma, **b.** el hígado, **c.** la vesícula biliar, **d.** la vena porta, **e.** la vena procedente del bazo, **f.** el yeyuno, **g.** el resto del intestino grueso, **h.** el ciego, e **i.** las ramas principales del arco mesentérico. A su vez **M.** representa los lugares más frecuentes de inserción del catéter mesentérico, **P.** el del catéter portal y **T.** la localización del extremo de los catéteres mesentéricos.

Por su parte, la cateterización de la arteria carótida se realizó sin oclusión del flujo sanguíneo, a diferencia de otros trabajos en los que dicho flujo quedaba bloqueado (Yen y Killefer, 1987; Prior y Gross, 1995; van Leeuwen y col., 1995; Hooda y col., 2009); aunque como indicó Rérat y col. (1980), la oclusión por ligadura de una de las dos arterias carótidas no causa ningún detrimento fisiológico debido al proceso de anastomosis de esta arteria con la arteria vertebral en la zona submaxilar.

Debido al elevado riesgo de embolias o incluso de muerte que supondría la entrada de aire en la arteria carótida, muchos autores se decantan por la cateterización de otras arterias. En la bibliografía, las más utilizadas son la aorta abdominal (Yen y Killefer, 1987; Bruins y col., 2000) y la arteria mesentérica (Burrin y col., 1989; Huntington y col., 1990; Goetsch y col., 1994; Ellis y col., 1995; Reverter y col., 2000; Kristensen y col., 2006). Sin embargo, es más que frecuente el fallo de estos catéteres arteriales por bloqueo de los mismos tras la formación de trombos y/o tejido fibroso en sus extremos, además del elevado riesgo de producir peritonitis al disminuir el riego en determinadas zonas. Ante esto, algunos autores recomiendan instalar un mínimo de dos catéteres en la arteria mesentérica como medida de prevención ante el fallo por oclusión de alguno de ellos (van der Meulen y col., 1997). A pesar de ello, es frecuente la exclusión de animales de un experimento ante el mal funcionamiento del catéter arterial, cuya solución pasa finalmente por realizar una nueva cirugía y la instalación de nuevos catéteres en otras arterias siendo elegida, normalmente, la arteria carótida.

En cambio, la cateterización de la vena ileal para la inyección del marcador (PAH) es un proceso mucho más estandarizado en la bibliografía, introduciéndose el catéter en una de las ramas de esta vena y asegurándolo a ella con sutura no absorbible (Prior y Gross, 1995). Sin embargo, esta cateterización tampoco está exenta de variantes. Hay autores que, en lugar de la vena ileal, eligen otras venas, como la mesentérica, para la infusión del PAH (Lenis y col., 1996; van der Meulen y col., 1997; Kristensen y col., 2009); del mismo modo a como se realizó inicialmente en el Trabajo de Investigación Tutelada previamente mencionado (Rodríguez-López, 2008) o en el segundo de los trabajos presentados en esta Tesis Doctoral en que los animales ingirieron una dieta con un nivel de proteína óptimo para la raza Landrace. La elección de una u otra vena no es crítica. El uso de la vena ileal en lugar de la mesentérica supuso un ahorro de tiempo y esfuerzo por la facilidad de su localización, el mayor tamaño, y la ausencia de capilares sanguíneos lo que evitaba la ocurrencia de hemorragias en sábana durante el procedimiento quirúrgico, en comparación a las ramas mesentéricas. También hay quienes llevan a cabo una doble cateterización de la vena mesentérica en distintos puntos (Huntington y col., 1990) como medida preventiva ante el fallo de funcionalidad de alguno de ellos, debido probablemente a la formación de tejido fibroso en el extremo del catéter al ser introducido a favor de la corriente sanguínea. Sin embargo, no hay que olvidar que la principal utilidad de este catéter es la infusión del PAH y no la recolección de muestras sanguíneas, por lo que normalmente, la instalación de un único catéter es suficiente.

Las estrictas condiciones de asepsia antes y después de la cirugía, de esterilidad durante la misma, el empleo de un paño húmedo para evitar la proyección de las vísceras hacia el exterior, el lavado de las vísceras con solución salina caliente (39°C), el uso de antibióticos de amplio espectro en el cierre de la cavidad abdominal y la forma de insertar y anclar los catéteres, supusieron una rápida recuperación de los animales, siendo la recuperación del apetito el mejor índice para su evaluación. Tanto las cerdas de la raza Ibérica como las de raza Landrace mostraban un apetito normal transcurrido sólo un día tras su paso por el quirófano. Sin embargo, sólo se les permitió consumir el total de la dieta habitual transcurridos 2 días tras la cirugía para evitar una sobrecarga del tracto digestivo. Este período de recuperación es relativamente corto en comparación a los más de 4 (van Leeuwen y col., 1995; Prior y Gross, 1995), 7 (Yen y Killefer, 1987; Yen y Nienaber, 1992) o 10 a 14 días (Yen y Nienaber, 1993; Lang y col., 1999; Jørgensen y col., 2010) descritos por otros autores. Ningún animal mostró además malestar o fiebre.

En la mayoría de los trabajos publicados se realizaba una comprobación diaria de la funcionalidad de los catéteres (Yen y Killefer, 1987; Ortigues y col., 1994; Ellis y col., 1995; Ten Have y col., 1996; Kristensen y col., 2006; Hooda y col., 2009). En cambio, durante el desarrollo de los trabajos que conforman esta Tesis Doctoral, su verificación y mantenimiento se realizó únicamente una vez por semana, al igual que van der Meulen y col. (1997), reduciendo al máximo la posible contaminación de los mismos y, por tanto, problemas que pudiesen derivar en su bloqueo. De hecho, estudios en humanos (Smith y col.,

1991; Kelly y col., 1992) demostraron la ausencia de diferencias significativas en cuanto a las complicaciones en catéteres cuando su mantenimiento se realizaba cada 1 o 2 días o cada semana. En todo momento los catéteres estaban llenos de una solución salina heparinizada.

El cierre del extremo de los catéteres se realizó mediante nudos una vez finalizado el muestreo sanguíneo o su mantenimiento. Como media, cada vez que un catéter era utilizado, 1 cm del mismo era cortado. Para reducir el gasto excesivo del catéter portal y arterial durante los procesos de 6 horas de extracción de muestras sanguíneas, ambos fueron equipados con aguja (18 G Sterican<sup>®</sup>, B. Braun<sup>®</sup> Melsungen AG, Alemania) y tapón de rosca (Combi-Stopper, B. Braun<sup>®</sup> Melsungen AG, Alemania) en su extremo, facilitando y agilizando el acoplamiento de las jeringas de extracción (Blood Gas-Monovette<sup>®</sup>, Sarstedt, Nümbrecht, Alemania). Tanto en las operaciones de mantenimiento como durante los muestreos se trató siempre de mantener la asepsia para reducir al máximo la entrada de contaminantes en los períodos de no utilización.

El método elegido para la determinación del flujo sanguíneo ha sido el de dilución usando ácido para-aminohipúrico (PAH), método mayoritariamente empleado en la bibliografía consultada. A pesar de que se trata de un método bien establecido, hay autores que introducen ciertos cambios para lograr una medida más exacta del flujo sanguíneo. Una de estas mejoras es la infusión del PAH a través de varios puntos y de forma simultánea para una mejor mezcla del marcador, disminuyendo así las posibles variaciones en la medición del

flujo sanguíneo como las descritas por Reynolds y Huntington (1988) ocasionadas por una incompleta mezcla de la sangre procedente de la vena gastroesplénica y la mesentérica (Hecker, 1974). Estos lugares de infusión varían según los autores. Hay descritas infusiones de PAH empleando dos ramas de la vena mesentérica distintas (van der Meulen y col., 1997), dos ramas arteriales de la aorta abdominal (Eisemann y col., 1987), la vena del bazo y la aorta abdominal (Ten have y col., 1996; Bruins y col., 2000) o una vena mesentérica y una ruminal (Ortigues y col., 1994). La la infusión múltiple del PAH está especialmente aconsejada en estudios que precisen la medición del flujo sanguíneo a través del hígado (Ortigues y col., 1994). Ushioda y col. (1982) recomiendan, además, la inclusión del corazón siempre que sea posible entre el lugar de infusión y el de muestreo para que tenga lugar una buena mezcla del indicador en la sangre.

Otra variante del método del PAH es la inclusión de una etapa de desacetilación. En rumiantes, concretamente en ovejas, se comprobó que una pequeña parte de este ácido era metabolizada a nivel hepático convirtiéndolo en ácido PAH acetilado (Katz y Bergman, 1969). Más tarde, Isserty y col. (1998) demostraron que realmente existe una subestimación de la concentración del ácido PAH de la sangre procedente de la vena hepática, estimándose en un 13% del ácido PAH infundido en ovinos y, en consecuencia, una sobreestimación del flujo sanguíneo a nivel del hígado y en particular de la arteria hepática. Para corregir esto, los mencionados autores recomendaban realizar una etapa de desacetilación en ácido clorhídrico a 90°C durante 60 min



previa al análisis del ácido PAH. En cambio, Goetsch y col. (1994) no incluían esta etapa a la hora de determinar la concentración del ácido PAH en un estudio de absorción de nutrientes y consumo de O<sub>2</sub> llevado a cabo en ovejas. Según ellos, los errores potenciales derivados de la subestimación en la concentración del ácido PAH parecen ser muy pequeños, puesto que la relación flujo sanguíneo arterial/venoso que obtuvieron en el hígado fue similar a la de otros estudios que sí incluían la etapa de desacetilación. En cerdos, son pocos los trabajos que incluyen esta etapa de desacetilación (Ten have y col., 1996; Bruins y col., 2000), no existiendo ninguno que refleje la necesidad de llevarla a cabo.

Para comprobar la idoneidad del método de medición del flujo usando PAH y de la implantación de catéteres anteriormente descritos, se llevó a cabo un experimento piloto, recogido en el primero de los trabajos que conforman esta memoria de Tesis Doctoral. En dicho trabajo, se determinó el flujo neto de glucosa a través del VDP en cerdas Ibéricas y Landrace de 28 kg PV restringidas al 85% de *ad libitum* con una dieta al 18,7% de proteína bruta. Los resultados mostraron valores de flujo sanguíneo portal pre (563 vs. 1059 ml/min) y postprandial (866 vs. 1464 ml/min) inferiores en la raza Ibérica en comparación a la Landrace y valores mayores de hematocrito (30.3 vs. 25.9%) y hemoglobina (6.3 y 5.7 mmol/l). Todos estos resultados estuvieron dentro de los valores medios obtenidos en los otros dos trabajos (ver discusión en el siguiente capítulo). El flujo neto de glucosa no difirió significativamente entre razas (221 vs. 225 mg/min para Ibérico y Landrace, respectivamente). Ambos

flujos se encontraron dentro del rango de valores obtenidos por otros autores (Rérat y col., 1984; Prior y Gross, 1995; Kristensen y col., 2009), aunque hay muchos factores que pueden afectar el flujo de glucosa en el organismo, por lo que su comparación e interpretación debe tomarse con precaución. Sin embargo, el hecho de que el flujo neto de glucosa en Ibérico no difiriese significativamente del obtenido para Landrace a pesar del menor flujo sanguíneo portal del primero, indica, probablemente, una mayor captación de glucosa por el VDP en Ibérico en comparación al Landrace. Se ha descrito anteriormente menor concentración de glucosa en sangre venosa de cerdas Ibéricas de 20 kg PV en comparación a las Landrace (Fernández-Fígares y col., 2007) y en cerdos cruzados obesos en comparación a magros, seleccionados ambos a partir de una misma línea genética (Pond y col., 1981).

## 5.2. Contribución a la producción de calor total de las vísceras que drenan al sistema porta en la raza Ibérica y Landrace

Para intentar explicar la diferente capacidad de crecimiento entre la raza Ibérica y la Landrace, se realizaron dos experimentos, segundo y tercer trabajo de la memoria, en que se midió el gasto energético del VDP dando a los animales dietas con un contenido en proteína bruta de 18,7 y 14,5%, respectivamente.

En estos trabajos, los valores de flujo sanguíneo portal preprandial para la raza Landrace de entre 20 y 30 kg PV (965-1012 ml/min) fueron similares a los obtenidos por otros autores (Yen y Killefer, 1987; Yen y col., 2004; Hooda y col., 2009). Igualmente, los valores postprandiales (1133-1357 ml/min) estuvieron dentro del rango de valores publicados por otros autores al emplear sondas ultrasónicas (Noah y col., 2000; Reverter y col., 2000; Bauchart y col., 2007; Hooda y col., 2009) o ácido PAH (Prior y Gross, 1995; Ten have y col., 1996; Lenis y col., 1996; Yen y col., 2004) en razas mejoradas. De los datos publicados en la bibliografía (Tabla 1) se puede deducir que los valores más altos de flujo sanguíneo portal (en torno a 2000 ml/min) se registraban, salvo casos puntuales, en cerdos con pesos superiores a los 50 kg, lo que confirma la relación alométrica existente entre el flujo sanguíneo portal y el peso del animal comentada en un apartado anterior. Los valores de flujo sanguíneo portal de la raza Ibérica (654-728 y 746-970 preprandial y postprandial, respectivamente) resultaron equiparables a los descritos para cerdos cruzados de similares pesos mediante el uso de sondas ultrasónicas (Bach Knudsen y col., 2000) o del ácido PAH (Bruins y col., 2000). Sin embargo, la mayoría de los valores encontrados en la literatura se encontraban por encima de los obtenidos para el cerdo Ibérico.

El flujo sanguíneo está regulado por mecanismos tanto intrínsecos como extrínsecos (Takala, 1997) y parece ser dependiente tanto del comportamiento del animal en el día del muestreo como de la composición de la dieta consumida (Ellis y col., 1995). Es por tanto importante que las condiciones experimentales sean lo más constantes posibles (Ten have y col., 1996), así

como que los animales estén habituados al contacto y la manipulación del operador.

En nuestro caso, ambas razas recibieron la misma cantidad de alimento. El menor flujo sanguíneo detectado tras la ingestión de las dietas, independientemente de su contenido proteico, en la raza Ibérica en comparación a la raza Landrace fue inesperado. Además, la diferencia de flujo sanguíneo entre razas en ambos experimentos resultó exactamente la misma (387 ml/min). Nuestra hipótesis inicial era obtener un mayor flujo sanguíneo de la raza Ibérica, en comparación a razas de genotipo más magro, debido al mayor peso de las vísceras de Ibérico en relación al total (Rivera-Ferre y col., 2005; Aguinaga y col., 2010), aunque en cerdos de mayor tamaño (50 y 115 kg PV), las diferencias en el tamaño relativo de los órganos no fueron tan patentes (Barea y col., 2011).

Según un estudio con corderos alimentados *ad libitum* y a nivel de mantenimiento, el flujo sanguíneo de los tejidos esplácnicos fue mayor en los primeros (Burrin y col., 1989). En la presente Tesis Doctoral, el flujo sanguíneo postprandial tanto de la raza Ibérica como de la raza Landrace fue menor que los valores medios encontrados en la literatura, probablemente como consecuencia del bajo nivel de ingesta suministrado durante la medición tanto del gasto energético del VDP como del animal completo. El nivel de ingesta energética tiene un efecto en el flujo sanguíneo del VDP tal y como obtuvieron otros autores (Lomax y Baird, 1983; Huntington, 1984; Lapierre y col., 2000).

Este hecho, junto con las diferentes condiciones experimentales, podría explicar las variaciones de flujo sanguíneo portal observadas entre las distintas razas (Tabla 1). Puesto que tanto las cerdas Ibéricas como Landrace tenían la misma ingesta, diferencias con respecto a la máxima capacidad de ingestión (Nieto y col., 2001; BSAS, 2003) podrían explicar el menor flujo sanguíneo portal en el Ibérico con respecto al Landrace ya que resultaron en el 71 y el 90% de *ad libitum*, respectivamente.

Por otro lado, el flujo sanguíneo portal fue mayor tras la ingestión de la dieta de mayor contenido proteico (18,7% de proteína bruta) con valores de 970 y 1357 ml/min, respectivamente en Ibérico y Landrace, que tras la ingestión de la dieta de menor contenido (14,5% de proteína bruta) con valores de 746 y 1133 ml/min, respectivamente. No hay trabajos en la literatura que relacionen el flujo sanguíneo portal con el nivel de proteína de la dieta.

El menor flujo sanguíneo pre y postprandial a través del VDP en la raza Ibérica podría compensarse con la mayor concentración de O<sub>2</sub> y de hemoglobina en sangre de esta raza en comparación a la Landrace, lo que se manifiesta más claramente cuando el consumo de oxígeno se mide preprandial (4% mayor en cerdas Landrace que en las Ibéricas) que postprandialmente, (31% mayor en las cerdas Landrace).

En general, los valores de concentración de hemoglobina para las dos razas estudiadas (de 5,8 a 6,5 mmol/l) son un poco más elevados a los encontrados en la bibliografía, con valores de 5,1 y 5,2 mmol/l en cerdos

Landrace (Thein y col., 2003) y cruzados (Bruins y col., 2000), respectivamente.

La mayor concentración de hemoglobina observada en la sangre de Ibérico en ambos trabajos podría estar relacionada con su carácter menos “doméstico” en comparación a razas mejoradas, puesto que su aptitud para el ejercicio físico favorece la acumulación de pigmentos hemínicos (pigmentos con el grupo hemo en su estructura) como adaptación fisiológica para conseguir un mayor metabolismo oxidativo (Galián Jiménez, 2007), lo que estaría de acuerdo a su vez con la mayor cantidad y diámetro de las fibras musculares tipo I (oxidativas) detectadas en el músculo *Longissimus lumborum* de Ibéricos, en comparación a cerdos Landrace (Serra y col., 1998). La morfología del cerdo Ibérico (con pelo y piel oscura, morro puntiagudo, y fuertes y proporcionalmente largas patas) es propicia para resistir altas temperaturas en verano y recorrer grandes distancias en busca de alimento (Toro y col., 2000). Esta adaptación fisiológica al movimiento para el pastoreo a través de la dehesa derivó en un perfil atlético, adaptado al ejercicio físico y, probablemente, en un mayor nivel de hemoglobina en sangre, lo que incrementaría la eficiencia de utilización de O<sub>2</sub> y, consecuentemente, reduciría el flujo sanguíneo portal.

Las diferencias de concentración de O<sub>2</sub> arterio-portal en Ibérico fueron a su vez superiores a las obtenidas para Landrace. Sin embargo, en ambos casos se situaron por debajo de los valores pre (2-2,4 mmol/l) y postprandial (2,2-2,8 mmol/l) observados en otros trabajos (Yen y col., 1989; Yen y

Nienaber, 1992, 1993; Yen y col., 2004). Esto pudo deberse a la baja ingesta (25% de la ración diaria) ofrecida a los animales durante el periodo de muestreo. En cuanto al valor del hematocrito, los resultados obtenidos en Ibérico y Landrace fueron muy similares a los obtenidos en la literatura (Yen y col., 1991a; Reverter y col., 2000; Gudmundsson y col., 2001; Thein y col., 2003).

Son varios los trabajos en los que se realizan estudios comparativos entre cerdos magros occidentales y cerdos Meishan, originarios de China. Esta raza destaca por su alta prolificidad, característica que le ha llevado a estar presente en muchos de los cruces que se han realizado en el mundo con el objetivo de aumentar la producción. La raza Meishan presenta algunas características que la asemejan a la Ibérica. En primer lugar, el tracto gastrointestinal de los cerdos Meishan, junto a otras vísceras como el hígado o el pulmón, expresados como porcentaje de PV es mayor que el de otras razas porcinas como Large White (Fevrier y col., 1988) o los cruzados Duroc×White composite (Yen y col., 1991b; Yen y col., 2004) al igual que ocurre en el caso de los cerdos Ibéricos (Rivera-Ferre y col., 2005; Aguinaga y col., 2010). Otra similitud compartida entre la raza Meishan e Ibérico es la menor tasa de crecimiento en comparación con las razas mejoradas; a una misma edad el peso vivo al sacrificio fue significativamente mayor para los cerdos cruzados magros que para los Meishan (van Milgen y col., 1998; Yen y col., 2004). Sin embargo, son las similitudes metabólicas las que más interesan. Al igual que en la raza Ibérica, la retención de nitrógeno por los cerdos Meishan es menos

eficiente que en cerdos de razas mejoradas (Fevrier y col., 1988; Kemp y col., 1991; Yen y col. 2004). Esta menor retención de nitrógeno de los cerdos Meishan se reflejaba en un 45% menos de músculo (Yen y col., 1991b) y un 59% menos de deposición proteica diaria (Hansen y col., 1997) que en el caso de razas mejoradas, mientras que presentaban mayores depósitos grasos (Yen y col., 1991b). Por tanto, la raza Meishan podría ser equiparable a la Ibérica, al ser ambas razas no mejoradas, de crecimiento lento, con tendencia a la obesidad, con baja capacidad para la deposición proteica y con un elevado peso relativo de las vísceras con respecto al total.

Teniendo en cuenta todas estas similitudes entre la raza Ibérica y la Meishan cabría esperar resultados parecidos en cuanto al flujo sanguíneo y/o consumo de  $O_2$  por el VDP. Sin embargo, en un estudio empleando cerdos Meishan y cerdos cruzados Duroc×White composite se obtuvo un mayor flujo sanguíneo portal pre y postprandial y un mayor consumo de  $O_2$  por el VDP previo a la ingestión de alimento para los cerdos Meishan en comparación a los mejorados, sin que se produjesen diferencias significativas en el consumo de  $O_2$  del VDP tras la ingestión de la dieta (Yen y col., 2004). Además, estos autores indican que la masa del VDP probablemente no sea el único factor involucrado en el consumo de  $O_2$  del VDP.

El consumo de  $O_2$  por el VDP tras la ingestión de la dieta fue un 21 (18,7% proteína bruta) y un 26 % (14,5% proteína bruta) menor en la raza Ibérica que en la Landrace, sin diferencias para los valores preprandiales. El consumo de oxígeno por el VDP fue mayor en ambas razas al ingerir la dieta



de mayor contenido proteico, tal y como observaron Jørgensen y Zhao (1997) al medir el consumo de O<sub>2</sub> en la mucosa duodenal de ratas alimentadas con dietas con distinto contenido proteico. Igualmente, la producción de calor del VDP fue menor en Ibérico que en Landrace un 28,5 y 20,4%, respectivamente, a pesar del mayor peso relativo de las vísceras de cerdos Ibéricos de similares pesos a los empleados en la presente Tesis Doctoral obtenidos por Rivera-Ferre y col. (2005). La menor longitud de las vellosidades, relación *villi*/cripta y *Tunica muscularis* ileal descrita en el cerdo Ibérico (Barea y col., 2011) con respecto a razas mejoradas podría explicar en parte el menor consumo de O<sub>2</sub> por el VDP respecto al Landrace. El aumento de las capas musculares intestinales está relacionado con la mayor resistencia de paso del alimento por el intestino (Redlich y col., 1997), lo cual incrementaría el tiempo que el alimento permanece en él (Laplace y col., 1994) y, consecuentemente, el consumo de O<sub>2</sub> de este tejido.

En general, la producción de calor del VDP tanto de la raza Landrace (93-99 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día) como Ibérica (74-77 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día) son menores que los valores obtenidos para otras razas como la Large White (163-172 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día) en machos castrados de unos 59 kg PV (Rérat y Vaissade, 1993), aunque estas diferencias podrían tener su explicación en diferencias asociadas al tipo de dieta, nivel de ingesta o en el peso de los animales considerados. El menor consumo de O<sub>2</sub> del VDP de la raza Ibérica se tradujo igualmente en una menor contribución al gasto energético total. De media, el VDP representó el 8,0 y 9,5% en Ibérico frente al 12,2 y 13,4% del total en Landrace para las dietas con 14,5 y 18,7% de proteína bruta, respectivamente. La contribución del VDP en

ambas razas fue considerablemente inferior al 30 y 48% observado para Duroc×White composite y Meishan, respectivamente (Yen y col., 2004) o del 20 al 25% del consumo de O<sub>2</sub> total en cerdos magros cruzados (Yen y col., 1989; Yen y Nienaber, 1992; Yen, 1997). Los bajos valores obtenidos para Ibérico y Landrace podrían deberse a la baja ingesta energética ofrecida para realizar las mediciones, ya que los animales consumieron sólo el 25% de la ración diaria (<10 g dieta/kg PV), cantidad de alimento ajustada a las 6 horas de duración del muestreo (0,25 × 24 h). De este modo, la producción de calor del VDP y la total pudieron ser extrapoladas a 24 horas sin incurrir en la sobreestimación de esta última debida al incremento en la producción de calor que se produciría si toda la ración se hubiera dado al inicio del periodo de medida. Sin embargo, al comparar el cociente producción de calor del VDP/total con el descrito por otros autores, los obtenidos en Ibérico y Landrace fueron menores debido a la fracción proporcionalmente mayor de producción de calor en ayunas (energía neta para el mantenimiento; ENm) con respecto a la producción de calor total (ENm + ENretenida + producción de calor asociada) y del VDP. Los valores de RQ tanto en Ibérico como en Landrace (0,75 y 0,79, respectivamente) indican que los animales estaban probablemente por debajo de mantenimiento.

Es interesante la menor producción de calor del VDP en Ibérico cuando la producción de calor total observada fue mayor en comparación al Landrace, teniendo en cuenta el mayor peso relativo de los órganos de cerdos Ibéricos (Rivera-Ferre y col., 2005; Aguinaga y col., 2010), ya que se ha relacionado el

mayor peso de los órganos con una mayor producción de calor total (Koong y col., 1982, 1983; Ferrell y col., 1986; Yen y col., 1991b).

A pesar del también mayor tamaño de los órganos de la raza Meishan en comparación a cerdos cruzados Duroc×White composite, no se encontraron diferencias significativas respecto a la producción de calor total (501 y 529 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día, respectivamente; Yen y col., 2004). Estos autores, sugirieron que el peso del VDP probablemente no sea el único factor implicado en el consumo de O<sub>2</sub> de estos tejidos. En cambio, sí hubo diferencias respecto a la producción de calor en ayunas y en reposo entre la raza Meishan (481 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día) y Large White (626 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día) o Piétrain (563 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día), entre 22 y 27 kg PV (van Milgen y col., 1998). La producción de calor total de las cerdas Landrace en nuestros experimentos (739-762 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día) estuvieron dentro de los valores encontrados en la literatura en cerdos de distintas razas y pesos (Schrama y col., 1996; Henken y col., 1991; Yen y col., 1991a; Jørgensen y col., 1996; Brown-Brandl y col., 2001; Chwalibog y col., 2004); mientras que la producción de calor de la raza Ibérica fue superior (809-925 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día). Estos valores resultaron incluso superiores a los encontrados en cerdos Ibéricos castrados, aunque de un peso algo superior a los utilizados en nuestro caso (Lachica y Aguilera, 2000), quizás por el descenso proporcional que se produce en la producción de calor total al incrementarse el peso vivo del animal (van Milgen y col., 1998; Barea y col., 2010).

La producción de calor en ayunas de los cerdos Meishan fue menor que la de razas magras (van Milgen y col., 1998), lo que indica que aunque sea una raza obesa, existen diferencias metabólicas importantes entre cerdos Meishan e Ibéricos.

Es evidente que la composición corporal tiene un efecto en la producción de calor en ayuno del animal tal y como reflejan numerosos trabajos en la literatura. Utilizando cerdos seleccionados genéticamente a lo largo de varias generaciones para obtener canales magras o grasas, es posible eliminar el factor genético como causa de variación y estudiar de qué manera la composición corporal afecta al metabolismo energético del animal. Así, Tess y col. (1984a) mostraron diferencias de producción de calor entre genotipos no atribuibles a la composición corporal sino más bien al metabolismo proteico, mientras que el metabolismo de las grasas contribuiría en menor medida a la producción de calor. Se ha sugerido una posible relación entre la producción de calor en ayunas y la tasa de deposición de proteína, independientemente de la composición corporal de los animales (Tess y col., 1984b). En general, los animales obesos y de crecimiento lento presentan una menor producción de calor en ayunas que los más magros y de crecimiento rápido (Sundstøl y col., 1979; Koong y col., 1983). Con otra perspectiva, van Milgen y col. (1998) invirtieron la relación causa-efecto aseverando que los animales alimentados *ad libitum* y con alta producción de calor en ayunas (necesidades de mantenimiento) permanecen magros (como en el caso de las razas mejoradas), mientras que aquellos con igual capacidad de ingesta y menor producción de calor en ayunas llegaban a ser más grasos.

Aunque la existencia de una relación positiva entre la tasa de deposición de proteína y la producción de calor está aceptada, es difícil determinar qué proceso es causa o consecuencia del otro. De hecho, según indicaron Yen y Nienaber (1992), la producción de calor asociada con la deposición de proteína en animales no rumiantes es aproximadamente el doble de la de deposición de grasa. Ferrell (1988) en una revisión bibliográfica concluía que la eficiencia energética para la deposición proteica (entre el 40 y 50% en rumiantes y del 10 al 40% en monogástricos) es menor que la de la deposición de grasa (del 60 al 80%), lo que se explica en parte por el elevado coste energético asociado a la síntesis y a la renovación proteica (van Milgen y Noblet, 2003). Sin embargo, los resultados obtenidos en la comparación Ibérico-Landrace parecen opuestos a estas afirmaciones, puesto que la producción de calor tras la ingestión de la dieta fue siempre numéricamente superior en la raza más grasa y de crecimiento más lento (Ibérico) que en la más magra y de crecimiento más rápido (Landrace). La mayor renovación proteica muscular en el cerdo Ibérico en comparación con razas mejoradas (Rivera-Ferre y col., 2005), podría explicar en parte la mayor producción de calor encontrada para esta raza en la presente Tesis Doctoral. Estos autores observaron una mayor tasa de síntesis proteica fraccional y, sobre todo, una elevada tasa de degradación proteica fraccional en músculo (>50% en comparación a Landrace), siendo responsable esta última de la degradación de más del 75% de la proteína muscular sintetizada en Ibérico, frente al aproximadamente 60% que tendría lugar en Landrace. Estos resultados estarían en concordancia con la mayor capacidad

de las razas mejoradas para la deposición proteica global frente a la raza Ibérica (Rivera-Ferre y col., 2006). Sin embargo, la menor renovación proteica a nivel del organismo completo (Rivera-Ferre y col., 2006) y el menor consumo de oxígeno y producción de calor de las PDV en la actual Tesis Doctoral a pesar del mayor peso relativo de estas vísceras (Rivera-Ferre y col., 2005) en el cerdo Ibérico respecto al Landrace, actuarían en el sentido de una menor producción de calor del cerdo Ibérico.

Es probable que la raza Ibérica, como consecuencia del origen común con el jabalí (*Sus scrofa*; Alves y col., 2003), presente una mayor actividad física espontánea y nivel de alerta lo que daría como resultado una mayor producción de calor en comparación a las razas mejoradas, las cuales comparten un origen asiático (Giuffra y col., 2000). De hecho, numerosos trabajos describen una relación negativa entre el grado de domesticación y el gasto energético total (Robert y col., 1987; Gustafsson y col., 1999). El menor RQ en Ibérico frente a Landrace en esta Tesis podría ser un reflejo de su mayor renovación proteica muscular (Rivera-Ferre y col., 2005), indicando una oxidación preferente de aminoácidos, o bien de un mayor nivel de alerta que podría inducir la oxidación de lípidos. De cualquier forma, aunque el RQ es un buen indicador del metabolismo animal, los cambios del mismo deben interpretarse con precaución.



---

## **6. Resumen**

---





Las diversas variedades o estirpes agrupadas bajo el término “cerdo Ibérico” presentan una serie de características fisiológicas y metabólicas que las diferencian de genotipos porcinos convencionales o magros. Entre ellas cabe destacar su menor potencial para el crecimiento, su tendencia a acumular grasa (obesidad), su baja capacidad para la deposición de proteína, su menor relación ganancia de peso/ingesta de alimento o su mayor tamaño relativo de las vísceras. Este último aspecto es de especial interés dada la elevada aportación del conjunto de vísceras que drenan al sistema porta (VDP; tracto gastrointestinal, páncreas y bazo) al consumo de O<sub>2</sub> del organismo completo (hasta un 25% en cerdos) cuando su contribución al peso corporal es relativamente baja (5%). La menor tasa de crecimiento de los cerdos Ibéricos respecto a razas mejoradas podría deberse en parte a la mayor importancia de las vísceras, que además de ser tejidos no productivos, contribuyen sustancialmente al gasto energético.

En la presente Tesis Doctoral se ha pretendido determinar la contribución del VDP a la producción de calor total en cerdos Ibéricos y Landrace en crecimiento mediante la aplicación de la técnica de la diferencia arterio-venosa, midiendo el flujo por el método de dilución con ácido paraaminohipúrico (PAH), y la calorimetría indirecta empleando cámaras de respirometría en confinamiento. Para ello se utilizaron dos dietas isoenergéticas (14-14,5 MJ de energía metabolizable/kg de materia seca) que diferían en el contenido de proteína bruta (14,5 y 18,7%) para adecuarse a la necesidades del cerdo Ibérico y el Landrace, respectivamente.

Un aspecto esencial de esta Tesis Doctoral ha sido la puesta a punto de la técnica quirúrgica de implantación de catéteres permanentes para determinar diferencias arterio-venosas en cerdos Ibéricos y Landrace. Para ello se utilizaron 3 cerdos Ibéricos y 3 Landrace de 25 kg de PV medio a los que se les implantaron catéteres en la vena porta, vena ileal y arteria carótida. El catéter de la vena porta fue de un mayor diámetro (Tygon®; i.d. 1,27 mm, o.d. 2,29 mm) que los otros dos (Tygon®; i.d. 1,02 mm, o.d. 1,78 mm) debido a los frecuentes problemas de obstrucción del primero observados en estudios previos. Aprovechando la tendencia natural de enrollamiento que presentaban los catéteres debido a su almacenamiento en bovinas, el extremo craneal de los mismos fue cortado en ángulo de 45° partiendo desde el lado opuesto al de su tendencia de enrollamiento. Este hecho evitó que el extremo craneal del catéter se ocluyera al apoyarse contra la pared de los vasos, sobre todo en el caso de encontrarse en ramas de menor diámetro. A su vez, todos los catéteres llevaban dos pequeños anillos, proximal y distal (5 y 2 mm de longitud, respectivamente) respecto al extremo craneal de los mismos, separados 2 mm entre sí, y situados a 6, 10 y 12 cm del mencionado extremo para los catéteres portal, ilíaco y arterial, respectivamente. El extremo del anillo proximal más cercano al extremo craneal del catéter fue cortado en un ángulo de 30° para mantenerlo en una posición tangencial una vez introducido en el vaso, evitando así su giro y su posible estrangulamiento, y favoreciendo la formación de adherencias tisulares que refuerzan el anclaje del catéter. Los catéteres de la vena porta e ileal se fijaron al vaso mediante doble sutura no absorbible; la primera realizada entre los dos anillos y la segunda tras el anillo

distal, rodeando ambas al vaso y al catéter. En la doble fijación del catéter carotídeo, la primera se realizó sin oclusión permanente del flujo, mediante sutura no absorbible en bolsa de tabaco sobre la pared de la arteria sin perforarla, y la segunda en el tejido adyacente. El diseño de los catéteres y la técnica quirúrgica, las estrictas condiciones de asepsia antes y después de la cirugía, de esterilidad durante la misma, el empleo de un paño húmedo para evitar la proyección de las vísceras hacia el exterior, el lavado de las vísceras con solución salina caliente (39°C), el uso de antibióticos de amplio espectro en el cierre de la cavidad abdominal, el llenado de los catéteres con solución salina heparinizada y la verificación semanal de los mismos, supusieron la rápida recuperación de los animales tras la cirugía y el correcto funcionamiento de los catéteres durante el período de recolección de muestras sanguíneas.

En un experimento piloto recogido en el primer trabajo de esta Tesis y encaminado a verificar el adecuado funcionamiento de los catéteres y de las técnicas aplicadas, se determinó el flujo neto de glucosa postprandial a través del VDP en la raza Ibérica y Landrace. En este experimento el catéter ileal se utilizó para la infusión de PAH (ver descripción de las condiciones experimentales más adelante), y el portal y arterial para el muestreo simultáneo de sangre 5 min antes y 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5 y 6 h después de ingerir el 25% de la ración diaria de una dieta con un contenido en proteína bruta de 18,7% y energía metabolizable de 14-14,5 MJ/kg de materia seca. La sangre se centrifugó y el plasma resultante se analizó para la determinación de la concentración de PAH y, a partir de ella, del flujo sanguíneo portal. El flujo portal preprandial fue 563 y 1059 ml/min, y el postprandial 866 y 1464 ml/min,

para Ibérico y Landrace, respectivamente. Las diferencias tanto en el flujo pre como postprandial fueron significativas ( $P < 0,05$ ) entre ambas razas. Sin embargo, no se detectaron diferencias en el flujo neto de glucosa, con un valor de 221 y 225 mg/min para Ibérico y Landrace, respectivamente.

Tanto para el desarrollo del segundo como del tercer experimento de la Tesis, se utilizaron 6 cerdas Ibéricas y 6 Landrace de aproximadamente 28 kg PV, equipadas con los mencionados catéteres siguiendo el protocolo ya descrito. Una vez recuperadas de la cirugía y en grupos de 2 animales por día, una dosis inicial de 15 ml de PAH (2% peso/volumen) fue inyectada a través del catéter ileal 45 min antes del muestreo sanguíneo, seguida de una infusión continua de 0,8 ml/min. La recolección de muestras sanguíneas se efectuó a partir del catéter portal y arterial, simultáneamente y en anaerobiosis, 5 min antes de recibir el 25% de la ingesta diaria habitual ( $< 10$  g dieta/kg PV) y 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5 y 6 h postprandial. Las muestras sanguíneas se analizaron de forma inmediata mediante un hemoxímetro para la determinación de la concentración de  $O_2$  y cantidad de hemoglobina, así como del hematocrito. El flujo sanguíneo de la vena porta se determinó a partir de la concentración de PAH en el plasma portal y arterial. Transcurridas las 6 horas de muestreo, los animales fueron trasladados a cámaras de respirometría en confinamiento donde consumieron el 75% restante de la dieta. Al día siguiente y tras ingerir nuevamente el 25% de la ración diaria, se determinó durante 6 horas el consumo de  $O_2$  y la producción de  $CO_2$  total. El período de adaptación a las cámaras de respirometría antes de la medición fue de 18 horas.

El flujo sanguíneo a través de la vena porta en las cerdas Ibéricas fue menor que en las Landrace tanto antes (691 vs. 989 ml/min) como después de consumir las dietas con 14,5 (746 vs. 1133 ml/min) y 18,7% (970 vs. 1357 ml/min) de proteína bruta. La concentración media de O<sub>2</sub> portal fue de 4,3 y 4,0 mmol/l, con una concentración arterial media de 6,1 y 5,7 mmol/l en la raza Ibérica y Landrace, respectivamente. En cuanto a la concentración de hemoglobina se obtuvieron valores medios de 6,4 para la raza Ibérica y 5,9 mmol/l para la Landrace.

El menor flujo sanguíneo pre y postprandial a través del VDP en la raza Ibérica podría compensarse con la mayor concentración de O<sub>2</sub> de esta raza en comparación a la Landrace, lo que se manifiesta más claramente cuando el consumo de oxígeno se mide preprandial (el consumo de O<sub>2</sub> de Landrace es un 4% mayor que Ibérico) que postprandialmente (el consumo de Landrace es un 35% mayor que Ibérico). La producción de calor postprandial del VDP también fue menor en la raza Ibérica que en la Landrace (76 y 96 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día, respectivamente) a pesar del mayor tamaño relativo de las vísceras de la primera observado con anterioridad. Aunque la cantidad de dieta ofrecida fue idéntica para ambas razas, la restricción respecto a la capacidad máxima de ingesta fue mayor en las cerdas Ibéricas que en las Landrace (71 y 90% *ad libitum*, respectivamente), existiendo varios trabajos que han puesto de manifiesto la relación existente entre el nivel de ingesta energética y el flujo sanguíneo portal. El bajo nivel de energía metabolizable ofrecido a los animales durante la medida de la producción de calor quedó reflejado en el relativamente bajo cociente respiratorio (RQ) para ambas razas (0,75-0,79).

La producción de calor total resultó en cambio superior en la raza Ibérica en comparación a la Landrace (867 vs. 751 kJ/kg<sup>0,75</sup> y día), probablemente debido a su alta tasa de renovación proteica muscular junto con una mayor actividad y nivel de alerta. Este hecho estaría en consonancia con los menores valores para el RQ encontrados en la raza Ibérica.

La contribución del VDP a la producción de calor total fue menor en Ibérico (8,8%) que en Landrace (12,8%), valores inferiores a los obtenidos por otros autores como consecuencia probable del bajo nivel de energía metabolizable ofrecido durante las mediciones.

---

## ***7. Conclusiones y perspectivas***

---





Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral permiten establecer las siguientes conclusiones:

1) Las novedades en el diseño de los catéteres y en el procedimiento quirúrgico supusieron una rápida recuperación postquirúrgica de los animales. La técnica de la diferencia arterio-venosa es una potente herramienta que permite estudiar el impacto de los tejidos que drenan al sistema porta en el metabolismo del animal.

2) Los cerdos Ibéricos de 30 kg de peso vivo tienen un flujo portal y una producción de calor de las vísceras que drenan al sistema porta, menor que los cerdos Landrace.

3) La producción de calor total postprandial fue mayor en Ibéricos que en cerdos Landrace.

4) La contribución de las vísceras que drenan al sistema porta a la producción de calor total fue mayor en Landrace que en cerdos Ibéricos.

### Conclusión general

La técnica de medición de la diferencia arterio-venosa desarrollada en esta Tesis Doctoral, permite estudiar la cinética de nutrientes a través de las vísceras que drenan al sistema porta, y así, diferencias en la utilización de nutrientes entre razas porcinas nativas y mejoradas.



---

## ***8. Summary and conclusions***

---



Cerdo Ibérico is an autochthonous, rural pig breed, originating from the Iberian peninsula, the most meaningful Mediterranean swine type in population and economic importance. The Iberian breed group is characterized by its fat producing ability and is perfectly adapted to the ecosystem of the Mediterranean oak forest. Compared with modern breeds, Iberian pigs show a distinct metabolite and hormone profile, lower average daily gain, tendency to fat accumulation, low capacity for protein deposition, low weight gain/feed intake ratio and heavier relative viscera weight. Portal-drained viscera (PDV; gastrointestinal tract, pancreas and spleen) are responsible for 25% of total oxygen consumption while their masses represent only 5% of total body mass. We hypothesized that the lower growth rate observed in Iberian compared to improved pigs could be partly explained by the high contribution of PDV, to energy expenditure.

This PhD project aimed to determine PDV relative to total heat production of Iberian and Landrace growing gilts, by means of arterio-venous difference technique, using the para-aminohippuric acid (PAH) dilution to measure blood flow, and indirect calorimetry using confinement-type respiration chambers.

The cornerstone of this PhD Thesis was to set up the surgical procedure to fit permanent indwelling catheters, to measure arterio-venous differences in PDV in Iberian and Landrace pigs. With that purpose, 3 Iberian and 3 Landrace 25 kg BW gilts were fitted with catheters in portal vein, ileal vein and carotid

artery. The portal vein catheter had a wider diameter (i.d. 1.27 mm; o.d. 2.29 mm) than ileal vein and carotid artery catheters (i.d. 1.02 mm; o.d. 1.78 mm) to avoid blockage problems observed in previous studies. Each catheter was assembled with two tygon rings 2 and 5 mm wide, distal and proximal, respectively, to the cranial catheter tip. The cranial side of the 5 mm ring was cut with an angle of 30°. Proximal ring was 6, 10 and 12 cm from portal vein, ileal vein and carotid artery cranial catheter tips, respectively. For the three catheters, the cranial tip was cut with an angle of 45°, opposite the side of catheter twisting tendency to prevent occlusion. Portal and ileal catheters were anchored to the vessel with a double stitch: the first one between the two rings and the second one behind the distal ring, underneath vessel and catheter. The catheter in carotid artery was secured with a double stitch: the first by means of a purse-string suture on the artery wall avoiding flow occlusion, and the second tied on the surrounding tissue. Catheter design and surgery procedure, strict aseptic condition, sterility during surgery, the use of a wet sterile towel to contain the viscera inside the abdominal cavity, the viscera rinsing with warm sterile saline solution, the use of a broad spectrum antibiotic before closing the abdominal cavity, the filling of the catheters with heparinized saline solution with patency verified weekly, the sum of factors resulted in a rapid recuperation of the animals after surgery and catheter patency during the sampling period. To verify proper catheter operation and the procedure applied, a pilot experiment was performed where postprandial glucose net flux through the PDV in Iberian and Landrace breed was determined. Ileal vein catheter was used for PAH infusion and portal and arterial catheters were used for the simultaneous blood

sampling 5 min before and 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after ingestion of 25% of daily ration of a diet with 18.7% crude protein content and 14-14.5 MJ ME/kg dry matter. Blood was centrifuged and plasma analyzed for PAH. Preprandial (563 and 1059 ml/min, respectively) and postprandial (866 y 1464 ml/min, respectively) portal flow was lower in Iberian compared to Landrace gilts. However, no difference was found for glucose net flow (221- 225 mg/min) between breeds.

To study the contribution of PDV to heat production in Iberian compared to Landrace gilts, two experiments were carried out. Isoenergetic (14-14.5 MJ ME/kg dry matter) diets were formulated with protein content adjusted to the protein requirements of Iberian and Landrace growing gilts (14.5 and 18.7%, respectively). Six Iberian and 6 Landrace 28 kg BW gilts per experiment were surgically fitted with indwelling catheters as described before. After recovery from surgery, 2 animals per day were infused with a 15 ml priming dose of PAH (2% weight/volume) through the ileal catheter 45 min prior blood sampling, followed with a continuous infusion of 0.8 ml/min. Simultaneous blood sampling from portal and arterial catheters was done anaerobically, 5 min before feeding 25% of daily ration (10 g diet/kg BW) and 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h postprandial. Blood samples were analyzed immediately using an hemoximeter for O<sub>2</sub> and total haemoglobin concentration, and hematocrit. Portal and arterial plasma was analyzed for PAH concentration, and portal blood flow estimated. After 6 hours of sampling, animals were moved to confinement-type respirometry chambers and fed with the remaining 75% of the daily ration. Next



day (18 h of adaptation), gilts consumed 25% of the daily ration and total O<sub>2</sub> consumption and CO<sub>2</sub> production were determined for 6 hours.

Postprandial portal blood flow was lower in Iberian compared to Landrace gilts fed 14.5 (746 vs. 1133 ml/min, respectively) and 18.7% (970 vs. 1357 ml/min, respectively) crude protein diets and the same pattern was observed for preprandial portal blood flow (691 vs. 989 ml/min). Oxygen concentration was higher in Iberian compared to Landrace both in portal vein (4.3 and 4.0 mmol/l) and in carotid artery (6.1 and 5.7 mmol/l). Haemoglobin concentration was greater in Iberian than Landrace pigs (6.4 vs. 5.9 mmol/l).

The lower blood flow through the PDV in Iberian breed might be compensated by a higher blood O<sub>2</sub> concentration compared to Landrace. When preprandial blood flow is considered Landrace is 4% higher than Iberian while postprandial O<sub>2</sub> consumption in Landrace is 35% higher than in Iberian gilts. Postprandial PDV heat production was lower in Iberian than Landrace breed (76 and 96 kJ/kg<sup>0.75</sup> and day, respectively) despite the greater relative viscera weight of Iberian pigs previously reported. Although the same amount of diet was offered for both breeds, feed restriction was higher in Iberian than Landrace gilts (71 and 90% *ad libitum*, respectively). A relation between energy intake and portal blood flow has been described by several authors. Respiratory quotient (RQ) was in agreement with the low metabolizable energy level offered to animals during heat production measurements (0.75-0.79).

However, total heat production was higher in Iberian compared to Landrace gilts (867 vs. 751 kJ/kg<sup>0.75</sup> and day). A possible explanation is the high muscle protein turnover, activity and level of alertness in Iberian pigs. Contrary to our hypothesis, portal-drained viscera contribution to total heat production was lower in Iberian (8.8%) than in Landrace gilts (12.8%).

## Conclusions

- 1) Catheters design and surgical procedure developed implied a fast recovery of the pigs after surgery. The arterio-venous difference technique is a powerful instrument to study the impact of the portal-drained viscera on whole animal metabolism.
- 2) Portal vein blood flow and PDV heat production is lower in Iberian compared to Landrace pigs.
- 3) Postprandial heat production was higher in Iberian than in Landrace pigs.
- 4) Portal-drained viscera contribution to total energy expenditure was higher in Landrace than in Iberian pigs.

## General Conclusion

The arterio-venous difference technique developed allows for the study of nutrient kinetic through the portal-drained viscera and hence differences in nutrient utilization between native and modern pig breeds.

---

## **9. Referencias bibliográficas**

---



- AECERIBER, Asociación española de criadores de ganado porcino selecto Ibérico puro y tronco Ibérico. 2007. Manual de Cerdo Ibérico. 2ª Edición.
- Aguilera, J. F., Prieto, C. 1986. Description and function of an open-circuit respiration plant for pigs and small ruminants and the techniques used to measure energy metabolism. *Archives of Animal Nutrition*, 36:1009-1018.
- Aguinaga, M. A., Conde-Aguilera, J. A., Ruiz-Guerrero, V., Navarro, A. I., Aguilera, J. F., Nieto, R. 2010. Incorporation of lysine from microbial origin into tissue protein of Iberian and Landrace×Large White piglets. *Livestock Science*, 133:104-106.
- Alves, E., Ovilo, C., Rodriguez, M. C., Silio, L. 2003. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogenetic relationships among Iberian pigs and other domestic and wild pig populations. *Animal Genetics*, 34:319-324.
- Anderson, B. J., Holford, N. H. 2008. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 48:303–332.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis. 17th Ed. Arlington, VA, USA.
- Arts, M. G. J. 1971. On the instantaneous measurements of blood flow by ultrasonic means. TH-Report 71-E-20, Eindhoven University of Technology: Eindhoven.
- Bach Knudsen, K. E., Jørgensen, H., Canibe, N. 2000. Quantification of the absorption of nutrients derived from carbohydrate assimilation: model experiment with catheterised pigs fed on wheat- or oat-based rolls. *British Journal of Nutrition*, 84:449-458.
- Bach Knudsen, K. E., Lærke, H. N, Steinfeldt, S., Hedemann, M. S., Jørgensen, H. 2006. *In vivo* methods to study the digestion of starch in pigs and poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 130:114-135.
- Balén, E. M., Sáez, M. J., Cienfuegos, J. A., Zazpe, C. M., Ferrer, J. V., Herrera, J., Lera, J. M. 2000. Anatomía del cerdo aplicada a la experimentación en cirugía general. *Cirugía Española*, 67:586-593.

- Barea, R., Nieto, R., Lara, L., García, M. A., Vílchez, M. A., Aguilera, J. F. 2006. Effects of dietary protein content and feeding level on carcass characteristics and organ weights of Iberian pigs growing between 50 and 100 kg live weight. *Animal Science*, 82:405-413.
- Barea, R., Nieto, R., Aguilera, J. F. 2007. Effects of the dietary protein content and the feeding level on protein and energy metabolism in Iberian pigs growing from 50 to 100 kg body weight. *Animal*, 1:357-365.
- Barea, R., Dubois, S., Gilbert, H., Sellier, P., van Milgen, J., Noblet, J. 2010. Energy utilization in pigs selected for high and low residual feed intake. *Journal of Animal Science*, 88:2062-2072.
- Barea, R., Nieto, R., Vitari, F., Domeneghini, C., Aguilera, J. F. 2011. Effects of pig genotype (Iberian v. Landrace×Large White) on nutrient digestibility, relative organ weight and small intestine structure at two stages of growth. *Animal*, 5:547-557.
- Barnes, R. J., Comline, R. S., Dobson, A., Drost, C. J. 1983. An implantable transit-time ultrasonic blood flow meter. *Journal of Physiology*, 35:2-3.
- Bauchart, C., Savary-Auzeloux, I., Mirand, P. P., Thomas, E., Morzel, M., Rémond, D. 2007. Affects carnosine net release into the portal vein of minipigs. *Journal of Nutrition*, 137:589-593.
- Bell, A. W., Gardner, J. W., Manson, W., Thompson, G. E. 1975. Acute cold exposure and the metabolism of blood glucose, lactate and pyruvate, and plasma amino acids in the hind leg of the fed and fasted young ox. *British Journal of Nutrition*, 33:207-217.
- Beregi, J-P., Lahoche, A., Willoteaux, S., McFadden, E., Bordet, R., Gautier, C., Etchrivi, T. 1998. Renal artery vasomotion: *In vivo* assessment in the pig with intravascular Doppler. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 12:613-618.
- Bjorkman, O., Crump, M., Phillips, R. W. 1984. Intestinal metabolism of orally administered glucose and fructose in Yucatan miniature swine. *Journal of Nutrition*, 114:1413-1420.
- Bratton, C. A., Marshall, E. K. 1939. A new coupling component for sulfanilamide determination. *Journal of Biological Chemistry*, 128:537-550.

- Brouwer, E. 1965. Report of sub-committee on constants and factors. Page 441 in Energy Metabolism. EAAP Publ. No. 11, Troon, Scotland.
- Brown-Brandl, T. M., Eigenberg, R. A., Nienaber, J. A., Kachman, S. D. 2001. Thermoregulatory profile of a newer genetic line of pigs. *Livestock Production Science*, 71:253-260.
- Brown, D., Mount, L. E. 1982. The metabolic body size of the growing pig. *Livestock Production Science*, 9:389-398.
- Bruins, M. J., Soeters, P. B., Deutz, N. E. P. 2000. Endotoxemia affects organ protein metabolism differently during prolonged feeding in pigs. *Journal of Nutrition*, 130:3003-3013.
- Burrin, D. G., Ferrell, C. L., Eisemann, J. H., Britton, R. A., Nienaber, J. A. 1989. Effect of level of nutrition on splanchnic blood flow and oxygen consumption in sheep. *British Journal of Nutrition*, 62:23-34.
- BSAS, British Society of Animal Science. 2003. Nutrient requirement standards for pigs. Whittemore, C. T., Hazzledine, M. J., Close, W. H., Penicuik, United Kingdom.
- Campbell, R. G., Johnson, R. J., King, R. H., y Taverner, M. R. 1990. Effects of gender and genotype on the response of growing pigs to exogenous administration of porcine growth hormone. *Journal of Animal Science*, 68:2674-2681.
- Campbell, R. G., Johnson, R. J., Taverner, M. R., King, R. H. 1991. Interrelationships between exogenous porcine somatotropin (PST) administration and dietary protein and energy intake on protein deposition capacity and energy metabolism of pigs. *Journal of Animal Science*, 69:1522-1531.
- Cava, R., Ferrer, J. M., Estévez, M., Morcuende, D., Toldrá, F. 2004. Composition and proteolytic and lipolytic enzyme activities in muscle Longissimus dorsi from Iberian pigs and industrial genotype pigs. *Food Chemistry*, 88:25-33.
- Chwalibog, A. Thorbek, G. 2000. Estimation of net nutrient oxidation and lipogenesis in growing pigs. *Archives of Animal Nutrition*, 53:253-271.



- Chwalibog, A., Tauson, A. H., Thorbek, G. 2004. Energy metabolism and substrate oxidation in pigs during feeding, starvation and re-feeding. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 88:101-112.
- Clemente, I., Membrillo, A., Azor, P., Dorado, G., Rodero, A., Molina, A. 2006. Algunas consideraciones sobre las diferentes clasificaciones del tronco porcino Ibérico: una propuesta integradora. *Sólo Cerdo Ibérico*, 16:7-18.
- Conde-Aguilera, J. A., Aguinaga, M. A., Aguilera, J. F., Nieto, R. 2011a. Nutrient and energy retention in weaned Iberian piglets fed diets with different protein concentrations. *Journal of Animal Science*, 89:754-763.
- Conde-Aguilera, J. A., Aguinaga, M. A., Lara, L., Aguilera, J. F., Nieto, R. 2011b. Carcass traits and organ weights of 10-25-kg body weight Iberian pigs fed diets with different protein-to-energy ratio. *Animal Feed Science and Technology*, 164:116-124.
- Cooke, R., Lodge, G. A., Lewis, D. 1972. Influence of energy and protein concentration in the diet on the performance of growing pigs 1. Response to protein intake on a high-energy diet. *Animal Production*, 14:35-46.
- Defronzo, R. A. 1987. Use of the splanchnic/hepatic balance technique in the study of glucose metabolism. *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1:837-862.
- Domenech, R. J., Hoffman, J. I., Noble, M. I., Saunders, K. B., Henson, J. R., Subijanto, S. 1969. Total and regional coronary blood flow measured by radioactive microspheres in conscious and anesthetized dogs. *Circulation Research*, 25:581-596.
- Drost, C. J. 1978. Vessel diameter-independent volume flow measurements using ultrasound. *Proceedings of the San Diego Biomedical Symposium*, 17:299-302.
- Early, R. J., McBride, B. W., Ball, R. O. 1990. Growth and metabolism in somatotropin-treated steers: III. Protein synthesis and tissue energy expenditures. *Journal of Animal Science*, 68:4153-4166.
- Eisemann, J. H., Huntington, G. B., Ferrell, C. L. 1987. Blood flow to hindquarters of steers measured by transit time ultrasound and indicator dilution. *Journal of Dairy Science*, 70:1385-1390.

- Edelstone, D. I., Holzman, I. R. 1981. Oxygen consumption by the gastrointestinal tract and liver in conscious newborn lambs. *American Journal of Physiology*, 240:297-304.
- Ellis, P. R., Roberts, F. G., Low, A. G., Morgan, L. M. 1995. The effect of high-molecular-weight guar gum on net apparent glucose absorption and net apparent insulin and gastric inhibitory polypeptide production in the growing pig: relationship to rheological changes in jejunal digesta. *British Journal of Nutrition*, 74:539-556.
- Fernández-Fígares, I., Lachica, M., Nieto, R., Rivera-Ferre, M. G., Aguilera, J. F. 2007. Serum profile of metabolites and hormones in obese (Iberian) and lean (Landrace) growing gilts fed balanced or lysine deficient diets. *Livestock Science*, 110:73-81.
- Ferrell, C. L., Koong, L. J., Nienaber, J. A. 1986. Effect of previous nutrition on body composition and maintenance energy costs of growing lambs. *British Journal of Nutrition*, 56:595-605.
- Ferrell, C. L. 1988. Contribution of visceral organs to animal energy expenditures. *Journal of Animal Science*, 66:23-34.
- Fevrier, C., Bourdon, D., Aumaitre, A., Peiniau, J., Lebreton, Y., Jaguelin, Y., Meziere, N., Blanchard, A. 1988. Digestive capacity of the Chinese pig – Effect of dietary fibre on digestibility and intestinal and pancreatic enzymes. Pages 172-179 in *Proc. of IV Int. Seminar of Digestive Physiology in Pigs*, Jablona, Poland.
- Fick, A. 1870. Ueber die messung des blutquantums in den herzventrikeln. *S.-B. phys.-med. Ges. Würzburg* p. 16.
- Franklin, D. L., Schlegel, W., Rushmer, R. F. 1961. Blood flow measured by Doppler frequency shift of backscattered ultrasound. *Science*, 134:564-565.
- Franklin, D. E., Watson, N. W., Pierson, K. E., Van Citters, R. L. 1966. Technique for radio telemetry of blood-flow from unrestrained animals. *American Journal of Medical Electronics*, 5:24-28.
- Freire, J. P. B., Peiniau, J., Cunha, L. F., Almeida, J. A. A., Aumaitre, A. 1998. Comparative effects of dietary fat and fibre in Alentejano and Large

- White piglets: Digestibility, digestive enzymes and metabolic data. *Livestock Production Science*, 53:37-47.
- Galassi, G., Crovetto, G. M., Rapetti, L., Tamburini, A. 2004. Energy and nitrogen balance in heavy pigs fed different fibre sources. *Livestock Production Science*, 85:253-262.
- Galián Jiménez, M. 2007. Características de la canal y calidad de la carne, composición mineral y lipídica del cerdo Chato Murciano y su cruce con Ibérico. Efecto del sistema de manejo. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia, España.
- García-Valverde, R., Barea, R., Lara, L., Nieto, R., Aguilera, J. F. 2008. The effects of feeding level upon protein and fat deposition in Iberian heavy pigs. *Livestock Science*, 114:263-273.
- Giuffra, E., Kijas, J. M. H., Amarger, V., Carlborg, Ö., Jeon J. T., Andersson, L. 2000. The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics*, 154:1785-1791.
- Goetsch, A. L., Ferrell, C. L., Freetly, H. C. 1994. Effects of different supplements on splanchnic oxygen consumption and net fluxes of nutrients in sheep consuming bromegrass (*Bromus inermis*) hay *ad libitum*. *British Journal of Nutrition*, 72:701-712.
- González-Añover, P., Encinas, T., Gomez-Izquierdo, E., Sanz, E., Letelier, C. A., Torres-Rovira, L., Pallares, P., Sanchez-Sanchez, R., Gonzalez-Bulnes, A. 2010. Advanced onset of puberty in gilts of thrifty genotype (Iberian Pig). *Reproduction in Domestic Animals*, 45:1003-1007.
- Gorewit, R. C., Aromando, M. C., Bristol, D. G. 1989. Measuring bovine mammary gland blood flow using a transit time ultrasonic flow probe. *Journal of Dairy Science*, 72:1918-1928.
- Granger, H. J., Richardson, P. D. I., Kviety, P. R., Mortillaro, N. A. 1980. Intestinal blood flow. *Gastroenterology*, 78:837-863.
- Gudmundsson, F. F., Gislason, H. G., Dicko, A., Horn, A., Viste, A., Grong, K., Svanes, K. 2001. Effects of prolonged increased intra-abdominal pressure on gastrointestinal blood flow in pigs. *Surgical Endoscopy*, 15:854-860.

- Guillot, E., Vaugelade, P., Lemarchal, P., Rérat, A. 1993. Intestinal absorption and liver uptake of medium-chain fatty acids in non-anaesthetized pigs. *British Journal of Nutrition*, 69:431-442.
- Gunawan, A. M., Park, S. K., Pleitner, J. M., Feliciano, L., Grant, A. L., Gerrard, D. E. 2007. Contractile protein content reflects myosin heavy-chain isoform gene expression. *Journal of Animal Science*, 85:1247-1256.
- Gustafsson, M., P. Jensen, F. H. de Jonge, and T. Schuurman. 1999. Domestication effects on foraging strategies in pigs (*Sus scrofa*). *Applied Animal Behaviour Science*, 62:305- 317.
- Hansen, J. A., Yen, J. T., Nelssen, J. L., Nienaber, J. A., Goodband, R. D., Wheeler, T. L. 1997. Effects of somatotropin and salbutamol in three genotypes of finishing barrows: growth, carcass, and calorimeter criteria. *Journal of Animal Science*, 75:1798-1809.
- Hecker, J. F. 1974. *Experimental surgery on small ruminants*. Butterworths and Co., London.
- Henken, A. M., van der Hel, W., Brandsma, H. A., Verstegen, M. W. 1991. Difference in energy metabolism and protein retention of limit-fed growing pigs of several breeds. *Journal of Animal Science*, 69:1443-1453.
- Heitmann, R. N., Bergman, E. N. 1980. Transport of amino acids in whole blood and plasma of sheep. *American Journal of Physiology*, 239:242-247.
- Hooda, S., Matte, J. J., Wilkinson, C. W., Zijlstra, R. T. 2009. Technical note: An improved surgical model for the long-term studies of kinetics and quantification of nutrient absorption in swine. *Journal of Animal Science*, 87:2013-2019.
- Huntington, G. 1984. Relationship of portal blood flow to metabolizable energy intake of cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 64:16-17.
- Huntington, G. B., Tyrrell, H. F. 1985. Oxygen consumption by portal-drained viscera of cattle: comparison of analytical methods and relationship to whole body oxygen consumption. *Journal of Dairy Science*, 68:2727-2731.

- Huntington, G. B., Reynolds, C. K. 1987. Oxygen consumption and metabolite flux of bovine portal-drained viscera and liver. *Journal of Nutrition*, 117:1167-1173.
- Huntington, G. B., Reynolds, C. K., Stroud, B. H. 1989. Techniques for measuring blood flow in splanchnic tissues of cattle. *Journal of Dairy Science*, 72:1583-1595.
- Huntington, G. B., Eisemann, J. H., Whitt, J. M. 1990. Portal blood flow in beef steers: comparison of techniques and relation to hepatic blood flow, cardiac output and oxygen uptake. *Journal of Animal Science*, 68:1666-1673.
- Irtun, Ø., Martini, W. Z., Ozkan, O., Wolfe, R. R. 2001. Caval backflow: A potential problem during blood sampling from the hepatic vein. *Metabolism*, 50:189-193.
- Isserty, A., Ortigues, I. 1994. Méthodes d'exploitation de données concernant les débits sanguins mesurés au niveau des viscères et du train-arrière chez la brebis. *Reproduction Nutrition Development*, 34:399-413.
- Isserty, A., Ortigues, I., Remond, D. 1998. Mesure des débits splanchniques par dilution de marqueur: comparaison de quatre méthodes de dosage de l'acide para-amino-hippurique. *Reproduction Nutrition Development*, 38:93-106.
- Jørgensen, H., Zhao, X. Q., Eggum, B. O. 1996. The influence of dietary fibre and environmental temperature on the development of the gastrointestinal tract, digestibility, degree of fermentation in the hind-gut and energy metabolism in pigs. *British Journal of Nutrition*, 75:365-378.
- Jørgensen, H., Serena, A., Theil, P. K., Engberg, R. M. 2010. Surgical techniques for quantitative nutrient digestion and absorption studies in the pig. *Livestock Science*, 133:57-60.
- Karlsson, A. H., Klont, R. E., Fernandez, X. 1999. Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. *Livestock Production Science*, 60:255-269.
- Katz, M. L., Bergman, E. N. 1969. Simultaneous measurements of hepatic and portal venous blood flow in the sheep and dog. *American Journal of Physiology*, 216:946-952.

- Kelly, K., Dumenko, L., McGregor, S., McHutchion, M. 1992. A change in flushing protocols of central venous catheters. *Oncology Nursing Forum*, 19:599-605.
- Kemp, B., den Hartog, L. A., Klok, J. J., Zandstra, T. 1991. The digestibility of nutrients, energy and nitrogen in the Meishan and Dutch Landrace pig. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 65:263-266.
- Kleiber, M. 1961. *The fire of life*. ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Kleiber, M. 1975. *The fire of life. An introduction to animal energetic*. 2nd ed. Robert E. Krieger Publishing Co., New York.
- Kolin, A. 1952. Improved apparatus and technique for electromagnetic determination of blood flow. *Review of Scientific Instruments*, 23:235-242.
- Kolin, A., Assali, N., Jensen, R., 1957. Electromagnetic determination of regional blood flow in unanesthetized animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 43:527-540.
- Kolin, A., Kado, R. T. 1959. Miniaturization of the electromagnetic blood flowmeter and its use for the recording of circulatory responses of conscious animals to sensory stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 45:1312-1321.
- Koong, L. J., Nienaber, J. A., Pekas, J. C., Yen, J. T. 1982. Effects of plane of nutrition on organ size and fasting heat production in pigs. *Journal of Nutrition*, 112:1638-1642.
- Koong, L. J., Nienaber, J. A., Mersmann, H. J. 1983. Effects of plane of nutrition on organ size and fasting heat production in genetically obese and lean pigs. *Journal of Nutrition*, 113:1626-1631.
- Kristensen, N. B., Danfaer A., Tetens, V., Agergaard, N. 1996. Portal recovery of intraruminally infused short-chain fatty acids in sheep. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science*, 46:26-38.
- Kristensen, J. B., Jørgensen, H., Mu, H. 2006. Diacylglycerol oil does not affect portal vein transport of nonesterified fatty acids but decreases the postprandial plasma lipid response in catheterized pigs. *Journal of Nutrition*, 136:1800-1805.

- Kristensen, N. B., Nørgaard, J. V., Wamberg, S., Engbæk, M., Fernández, J. A., Zacho, H. D., Poulsen, H. D. 2009. Absorption and metabolism of benzoic acid in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 87:2815-2822.
- Lachica, M. 1993. Estimación del gasto energético de la actividad física en ganado caprino. Comparación de técnicas calorimétricas y no calorimétricas. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, España.
- Lachica, M., Prieto, C., Aguilera, J. F. 1995. A confinement respiration chamber for short gaseous exchange measurements. *Archives of Animal Nutrition*, 48:329-336.
- Lachica, M., Aguilera, J. F. 2000. Estimation of the energy costs of locomotion in the Iberian pig (*Sus mediterraneus*). *British Journal of Nutrition*, 83:35-41.
- Lachica, M., Aguilera, J. F. 2003. Estimation of energy needs in the free-ranging goat with particular reference to the assessment of its energy expenditure by the <sup>13</sup>C-bicarbonate method. *Small Ruminant Research*, 49:303-318.
- Laguna Sanz, E. 1998. El cerdo Ibérico en el próximo milenio. Ediciones Mundiprensa, Madrid, Spain.
- Lamprecht, I., Schmolz, E. 1999. Calorimetry of small animals. In *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry*. ed. Kemp, R. B. Elsevier Science, 4:405-467.
- Lang, V., Vaugelade, P., Bernard, F., Darcy-Vrillon, B., Alamowitch, C., Slama, G., Duée, P-H., Bornet, F. R. J. 1999. Euglycemic hyperinsulinemic clamp to assess posthepatic glucose appearance after carbohydrate loading. 1. Validation in pigs. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69:1174-1182.
- Lapierre, H., Bernier, J. F., Dubreuil, P., Reynolds, C. K., Farmer, C., Ouellet, D. R., Lobley, G. E. 2000. The effect of feed intake level on splanchnic metabolism in growing beef steers. *Journal of Animal Science*, 78:1084-1099.
- Laplace J. P., Souffrant, W. B., Hennig, U., Chabeauti, E., Fevrier, C. 1994. Measurement of precaecal dietary protein and plant cell wall digestion in

- pigs; comparison of four surgical procedures for ileorectal anastomosis. *Livestock Production Science*, 40:313-328.
- Lenis, N. P., Bikker, P., van der Meulen, J., van Diepen, J. T., Bakker, J. G., Jongbloed, A. W. 1996. Effect of dietary neutral detergent fiber on ileal digestibility and portal flux of nitrogen and amino acids and on nitrogen utilization in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 74:2687-2699.
- Lobley, G. E., Milne, V., Lovie, J. M., Reeds, P. J., Pennie, K. 1980. Whole body and tissue protein synthesis in cattle. *British Journal of Nutrition*, 43:491-502.
- Lomax, M. A., Baird, G. D. 1983. Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cow. Effects of lactation and fasting. *British Journal of Nutrition*, 49:481-496.
- Martínez, A. M., Delgado, J. V., Rodero, A., Vega-Pla, J. L. 2000. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Animal Genetics*, 31:295-301.
- McLean, J. A. 1972. On the calculation of heat production from open-circuit calorimetric measurements. *British Journal of Nutrition*, 27:597-600.
- Möckel, M., Scheinert, D., Potapov, E. V., Wellenhofer, E., Combé, V., Nasser, B. A., Maier, D., Meyer, S., Yankah, C., Hetzer, R., Frei, U., Eckardt, K. U. 2001. Continuous measurements of renal perfusion in pigs by means of intravascular Doppler. *Kidney International*, 59:1439-1447.
- Morales, J., Pérez, J. F., Baucells, M. D., Mourot, J., Gasa, J. 2002. Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian finishing pigs fed *ad libitum* corn- and corn-sorghum-acorn-based diets. *Livestock Production Science*, 77:195-205.
- Nei, M. 1983. Genetic polymorphism and the role of mutation in evolution. In: *Evolution of Genes and Proteins* (ed. by M. Nei y R. Koehn), pp. 165–90. Sunderland.
- Nieto, R., Lara, L., García, M. A., Gómez, F., Zaldive, M., Cruz, M., Pariente, J. M., Moreno, A., Aguilera, J. F. 2001. Evaluation of an integrated feeding system in the Iberian pig. Study of food consumption and productive parameters. *Sólo Cerdo Ibérico*, 6:57-69.



- Nieto, R., Miranda, A., García, M. A., Aguilera, J. F. 2002. The effect of dietary protein content and feeding level on the rate of protein deposition and energy utilization in growing Iberian pigs from 15 to 50 kg body weight. *British Journal of Nutrition*, 88:39-49.
- Nieto, R., Lara, L., García, M. A., Vilchez, M. A., Aguilera, J. F. 2003. Effects of dietary protein content and food intake on carcass characteristics and organ weights of growing Iberian pigs. *Animal Science*, 77:47-56.
- Noah, L., Krempf, M., Lecannu, G., Maugère, P., Champ, M. 2000. Bioavailability of starch and postprandial changes in splanchnic glucose metabolism in pigs. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism*, 278:181-188.
- Noblet, J., Henry, Y., Dubois, S. 1987. Effect of protein and lysine levels in the diet on body gain composition and energy utilization in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 65:717-726.
- Oddy, V. H., Brown, B. W., Jones, A. W. 1981. Measurement of organ blood flow using tritiated water. I. Hind limb muscle flow in conscious ewes. *Australian Journal of Biological Science*, 34:419-425.
- Olesen, H. P., Sjøtoft, E., Tronier, B. 1989. Simultaneous sampling of portal, hepatic and systemic blood during intragastric loading and tracer infusion in conscious pigs. *Laboratory Animal Science*, 39:429-432.
- Ortigues, I., Durand, D., Lefavre, J. 1994. Use of para-amino hippuric acid to measure blood flows through portal-drained-viscera, liver and hindquarters in sheep. *Journal of Agricultural Science*, 122:299-308.
- Ostrowska, E., Muralitharan, M., Cross, R. F., Bauman, D. E., Dunshea, F. R. 1999. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *Journal of Nutrition*, 129:2037-2042.
- Paschen, U., Müller, M. J. 1986. Serial blood sampling from the portal and hepatic vein in conscious unrestrained miniature pigs. *Research in Experimental Medicine*, 186:87-92.

- Pekas, J. C., Wray, J. E. 1991. Principal gastrointestinal variables associated with metabolic heat production in pigs: statistical cluster analyses. *Journal of Nutrition*, 121:231-239.
- Perry, M. A., Parker, J. C. 1981. Indicator dilution measurements of splanchnic blood flow. In: D. N. Granger and G. B. Buckley (Ed.) *Measurement of Blood Flow: Applications to the Splanchnic Circulation*. pp 161-176. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Pond, W. G., Yen, J. T., Lindvall, R. N., Hill, D. 1981. Dietary alfalfa meal for genetically obese and lean growing pigs: effect on body weight gain and on carcass and gastrointestinal tract measurements and blood metabolites. *Journal of Animal Science*, 51:367-373.
- Prior, R. L., y Gross, K. L. 1995. Dietary arginine deficiency and gut ammonium infusion alter flux of urea cycle intermediates across the portal-drained viscera of pigs. *Journal of Nutrition*, 125:251-263.
- Quiniou, N., Noblet, J., van Milgen, J., Dubois, S. 2001. Modelling heat production and energy balance in group-housed growing pigs exposed to low or high ambient temperatures. *British Journal of Nutrition*, 85:97-106.
- Ravussin, E., Lillioja, S., Anderson, T. E., Christin, L., Bogardus, C. 1986. Determinants of 24-hour energy expenditure in man. Methods and results using a respiratory chamber. *Journal of Clinical Investigation*, 78:1568-1578.
- Redlich, J., Souffrant, W. B., Laplace, J. P., Hennig, U., Berg, R., Mouwen, J. M. V. M. 1997. Morphometry of the small intestine in pigs with ileo-rectal anastomosis. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 61:21-27.
- Rémond, D., Ortigues-Marty, I., Isserty, A., Lefavre, J. 1998. Technical note: measuring portal blood flow in sheep using an ultrasonic transit time flow probe. *Journal of Animal Science*, 76:2712-2716.
- Reneman, R. S., Clarke, H. F., Simmons, N., Spencer, M. P. 1973. *In vivo* comparison of electromagnetic and Doppler flowmeters: with special attention to the processing of the analogue Doppler flow signal. *Cardiovascular Research*, 7:557-566.

- Rérat, A. 1971. Mesure du débit de sang dans la veine porte a l'aide d'un débitmètre électromagnétique chez le porc. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 11:175-180.
- Rérat, A., Vaugelade, P., Villiers, P. 1980. A new method for measuring the absorption of nutrients in the pig: critical examination. In: Low AG, and Partridge IG (eds) *Current Concepts of Digestion and Absorption in Pigs*. Reading National Institute for Research in Dairying, Technical Bulletin, 3:177-216.
- Rérat, A. 1981. Digestion and absorption of nutrients in the pig. Some new data concerning protein and carbohydrates. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 37:229-287.
- Rérat, A. A., Vaissade, P., Vaugelade, P. 1984. Absorption kinetics of some carbohydrates in conscious pigs. 1. Qualitative aspects. *British Journal of Nutrition*, 51:505-515.
- Rérat, A., Vaissade, P., Vaugelade, P. 1988. Absorption kinetics of dietary hydrolysis products in conscious pigs given diets with different amounts of fish protein. 1. Amino-nitrogen and glucose. *British Journal of Nutrition*, 60:91-104.
- Rérat, A., Vaissade, P. 1993. Relations entre la prise alimentaire et la consommation d'oxygène des organes drainés par la veine porte chez le porc éveillé. *Reproduction Nutrition Development*, 33:235-251.
- Reverter, M., Lundh, T., Gonda, H. L., Lindberg, J. E. 2000. Portal net appearance of amino acids in growing pigs fed a barley-based diet with inclusion of three different forage meals. *British Journal of Nutrition*, 84:483-494.
- Reynolds, C. K., Huntington, G. B. 1988. Partition of portal-drained visceral net flux in beef steers. 1. Blood flow and net flux of oxygen, glucose and nitrogenous compounds across stomach and post-stomach tissues. *British Journal of Nutrition*, 60:539-551.
- Rivera-Ferre, M. G., Aguilera, J. F., Nieto, R. 2005. Muscle fractional protein synthesis is higher in Iberian than in Landrace growing pigs fed adequate or lysine-deficient diets. *Journal of Nutrition*, 135:469-478.

- Rivera-Ferre, M. G., Aguilera, J. F., Nieto, R. 2006. Differences in whole-body protein turnover between Iberian and Landrace pigs fed adequate or lysine-deficient diets. *Journal of Animal Science*, 84:3346-3355.
- Robert, S., Dancosse, J., and Dallaire, A. 1987. Some observations on the role of environment and genetics in behaviour of wild and domestic forms of *Sus scrofa* (European Wild Boars and Domestic Pigs). *Applied Animal Behaviour Science*, 17:253-262.
- Rodríguez-Estévez V., Sánchez-Rodríguez, M., Gómez-Castro, A. G., Edwards, S. A. 2010. Group sizes and resting locations of free range pigs when grazing in a natural environment. *Applied Animal Behaviour Science*, 127:28-36.
- Rodríguez-López, J. M. 2008. Uso de las preparaciones arterio-venosas como medio para estudiar la absorción de aminoácidos y ácidos grasos de la dieta en el cerdo. Trabajo de Investigación Tutelada (TIT). Máster en Biología Agraria y Acuicultura. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada, Granada, España.
- Rudolph, A. M., Heymann, M. A. 1967. The circulation of the fetus in utero: methods for studying distribution of blood flow, cardiac output and organ blood flow. *Circulation Research*, 21:163-184.
- Sainz, R. D., Calvert, C. C., Baldwin, R. L. 1986. Relationships among dietary protein, feed intake and tissue protein turnover in lactating rats. *Journal of Nutrition*, 116:1820-1829.
- Satomura, S., Kaneko, Z. 1960. Ultrasonic blood reograph. In *Proceedings of the Third International Conference on Medical Electronics, Institution of Electrical Engineers, London*. 254-258.
- Schrama, J. W., Verstegen, M. W., Verboeket, P. H., Schutte, J. B., Haaksma, J. 1996. Energy metabolism in relation to physical activity in growing pigs as affected by type of dietary carbohydrate. *Journal of Animal Science*, 74:2220-2225.
- Serra, X., Gil, F., Pérez-Enciso, M., Oliver, M. A., Vázquez, J. M., Gispert, M., Díaz, I., Moreno, F., Latorre, R., Noguera, J. L. 1998. A comparison of carcass, meat quality and histochemical characteristics of Iberian

- (Guadyervas line) and Landrace pigs. *Livestock Production Science*, 56:215-223.
- Shelton, J. L., Southern, L. L., Bidner, T. D., Persica, M. A., Braun, J., Cousins, B., McKnight, F. 2003. Effect of microbial phytase on energy availability, and lipid and protein deposition in growing swine. *Journal of Animal Science*, 81:2053-2062.
- Simon, O., Bergner, H., Muchmeyer, R. 1982. Studies on the range of tissue protein synthesis in pigs: the effect of thyroid hormones. *British Journal of Nutrition*, 48:571-582.
- Smith, S., Dawson, S., Hennessey, R., Andrew, M. 1991. Maintenance of the patency of indwelling central venous catheters: is heparin necessary? *American Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 13:141-143.
- Stoll, B., Burrin, D. G., Henry, J. F., Jahoor, F., Reeds, P. J. 1999. Dietary and systemic phenylalanine utilization for mucosal and hepatic constitutive protein synthesis in pigs. *American Journal of Physiology*, 276:49-57.
- Stoll, B., Burrin, D. G. 2006. Measuring splanchnic amino acid metabolism *in vivo* using stable isotopic tracers. *Journal of Animal Science*, 84:60-72.
- Sundstøl, F., Standal, N., Vangen, O. 1979. Energy metabolism in lines of pigs selected for thickness of backfat and rate of gain. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 29:337-345.
- Takala, J. 1997. Determinants of splanchnic blood flow. *British Journal of Anaesthesia*, 77:50-58.
- Ten have, G. A. M., Bost, M. C. F., Suyk-Wierds, J. C. A. W., van den Bogaard, A. E. J. M., Deutz, N. E. P. 1996. Simultaneous measurement of metabolic flux in portally-drained viscera, liver, spleen, kidney and hindquarter in the conscious pig. *Laboratory Animals*, 30:347-358.
- Tess, M. W., Dickerson, G. E., Nienaber, J. A., Yen, J. T., Ferrell, C. L. 1984a. Energy costs of protein and fat deposition in pigs fed *ad libitum*. *Journal of Animal Science*, 58:111-122.
- Tess, M. W., Dickerson, G. E., Nienaber, J. A., Ferrell, C. L. 1984b. The effects of body composition on fasting heat production in pigs. *Journal of Animal Science*, 58:99-110.

- Thein, E., Becker, M., Anetzberger, H., Hammer, C., Messmer, K. 2003. Direct assessment and distribution of regional portal blood flow in the pig by means of fluorescent microspheres. *Journal of Applied Physiology*, 95:1808-1816.
- Toro, M. A., Rodríguez, J., Sillio, L., Rodríguez, C. 2000. Genealogical analysis of a closed herd of black hairless Iberian pigs. *Conservation Biology*, 14:1843-1851.
- Ushioda, E., Nuwayhid, B., Tabsh, K., Erkkola, R., Brinkman, C. R., Assali, N. S. 1982. Mixing problems in using indicators for measuring regional blood flow. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 142:74-81.
- van der Meulen, J., Bakker, G. C. M., Bakker, J. G. M., de Visser, H., Jongbloed, A. W., Everts, H. 1997. Effect of resistant starch on net portal-drained viscera flux of glucose, volatile fatty acids, urea, and ammonia in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 75:2697-2704.
- van Leeuwen, P., Leuvenink, H. G. D., Haasbroek, W. M., Priem, G., Bosch, M., van Kleef, D. J. 1995. A portal-vein-catheterization technique in pigs and sheep, and postprandial changes of pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, pH, urea, ammonia, and creatinine and proteins in portal and arterial blood measured in pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 73:38-46.
- van Milgen, J., Noblet, J., Dubois, S., Bernier, J. F. 1997. Dynamic aspects of oxygen consumption and carbon dioxide production in swine. *British Journal of Nutrition*, 78:397-410.
- van Milgen, J., Bernier, J. F., Lecozler, Y., Dubois, S., Noblet, J. 1998. Major determinants of fasting heat production and energetic cost of activity in growing pigs of different body weight and breed/castration combination. *British Journal of Nutrition*, 79:509-517.
- van Milgen, J., Noblet, J. 2000. Modelling energy expenditure in pigs. In *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals*. J. P. McNamara, J. France, D. E. Beever, ed. CAB International, Oxon, U. K. 103-114.
- van Milgen, J., Noblet, J. 2003. Partitioning of energy intake to heat, protein, and fat in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 81:86-93.

- Walsberg, G. E., Hoffman, C. M. 2005. Direct calorimetry reveals large errors in respirometric estimates of energy expenditure. *Journal of Experimental Biology*, 208:1035-1043.
- Webster, A. J. F., Lobley, G., Reeds, P. J., Pullar, J. D. 1978. Protein mass, protein synthesis and heat loss in the Zucker rat. *Proceedings of the Nutrition Society*, 37:21A.
- Webster, A. J. F. 1981. The energetic efficiency of metabolism. *Proceedings of the Nutrition Society*, 40:121-128.
- West, G. B., Brown, J. H., Enquist, B. J. 1997. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science*, 276:122-126.
- Yen, J. T., Killefer, J. 1987. A method for chronically quantifying net absorption of nutrients and gut metabolites into hepatic portal vein in conscious swine. *Journal of Animal Science*, 64:923-934.
- Yen, J. T., Nienaber, J. A., Hill, D. A., Pond, W. G. 1989. Oxygen consumption by portal vein-drained organs and by whole animal in conscious growing swine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 190:393-398.
- Yen, J. T., Nienaber, J. A., Hill, D. A., Pond, W. G. 1991a. Potential contribution of absorbed volatile fatty acids to whole-animal energy requirement in conscious swine. *Journal of Animal Science*, 69:2001-2012.
- Yen, J. T., Nienaber, J. A., Klindt, J., Crouse, J. D. 1991b. Effect of ractopamine on growth, carcass traits, and fasting heat production of U.S. contemporary crossbred and Chinese Meishan pure- and crossbred pigs. *Journal of Animal Science*, 69:4810-4822.
- Yen, J. T., Nienaber, J. A. 1992. Influence of carbadox on fasting oxygen consumption by portal vein-drained organs and by the whole animal in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 70:478-483.
- Yen, J. T., Nienaber, J. A. 1993. Effects of high-copper feeding on portal ammonia absorption and on oxygen consumption by portal vein-drained organs and by the whole animal in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 71:2157-2163.

- Yen, J. T. 1997. Oxygen consumption and energy flux of porcine splanchnic tissues. Pages 260-269 in Digestive Physiology in Pigs. J. P. Laplace, C. Fevrier, and A. Barbeau, ed. Proc. 7th Int. Symp. Digest. Physiol. in Pigs. EAAP Publication No. 88, Saint Malo, France.
- Yen, J. T., Varel, V. H., Nienaber, J. A. 2004. Metabolic and microbial responses in western crossbred and Meishan growing pigs fed a high-fiber diet. *Journal of Animal Science*, 82:1740-1755.
- Zierler, K. L. 1961. Theory of the use of arteriovenous concentration differences for measuring metabolism in steady and non-steady state. *Journal of Clinical Investigation*, 40:2111-2125.





---

## **10. Anexo artículos**

---



---

***Artículo 1***

---



Manuscript Number: LIVSCI-D-11-653

Title: Catheterization of portal-drained viscera and carotid artery for studies of nutrient metabolism in a modern and a native pig breed

Article Type: Research Paper

Keywords: catheterization; Iberian pig; portal-drained viscera

Corresponding Author: Dr. M. Lachica,

Corresponding Author's Institution: Estación Experimental del Zaidin

First Author: José M Rodríguez-López, M.D.

Order of Authors: José M Rodríguez-López, M.D.; M. Lachica; Lucrecia González-Valero, M.D.; Ignacio Fernández-Fígares, PhD

**Abstract:** Minor details in the catheters design, catheterization procedure and/or catheters care separate failure from success working with multi-catheterized animals. This report describes a novel approach to multi-catheterize pigs for long-term studies of the portal-drained viscera (PDV) on a modern (Landrace) and a native obese (Iberian) breed. To validate the functionality of the catheter design and catheterization method net flux of glucose was measured after a meal. Three Iberian and three Landrace gilts (25 kg average BW) were fitted with catheters: in carotid artery (CA) and portal vein (PV) for blood sampling, and ileal vein (IV) for para-aminohippuric acid (PAH, 2% w/v) infusion to measure blood flow. Rings were attached to the catheters to facilitate the fixing to vessels by means of non-absorbable suture. The PV was catheterized through the visceral side of the liver left lateral lobe and IV through a branch of the vein. The CA was secured directly in place with a purse-string suture where the artery was not occluded. Catheters patency was checked weekly and catheters filled up with sterile heparinized saline (250 IU/ml) and closed by two knots. A pilot experiment was carried out when pigs attained 28 kg average BW. A 15 ml pulse dose of PAH was infused into IV 45 min prior blood sampling, followed by continuous infusion of 0.8 ml/min. A 4.5 ml blood sample was taken into heparinized tubes simultaneously from CA and PV 5 min before and 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after feeding 25% of the total daily ration (85% ad libitum, 160 g/kg CP and 14-14.5 MJ ME/kg DM), centrifuged for packed cell volume (PCV) and plasma harvested and stored at -20 °C until PAH and glucose analysis. Whole-blood flow and glucose net flux rates were based on Fick principle. Net flux of glucose was 221 and 225 (mg/min) for Iberian and Landrace pigs, respectively. The concurrence of the access to the PV through the liver with a minimal wound, the free blood flow in CA, and catheters design and care was critical for the very fast recovery of pigs after surgery. Furthermore, patency of catheters was long enough to allow studies for weeks of nutrient metabolism at PDV level in growing pigs.

Suggested Reviewers: Clemente Lopez-Bote PhD  
Professor, Produccion Animal, Universidad Complutense de Madrid  
clemente@vet.ucm.es  
Metabolism expert

Jaap van Milgen PhD

Professor, Systèmes d'Elevage, Nutrition Animale et Humaine (SENAH), INRA  
jaap.vanmilgen@rennes.inra.fr  
Metabolism expert

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23

Catheterization of portal-drained viscera and carotid artery for studies of nutrient metabolism in a modern and a native pig breed

J.M. Rodríguez-López<sup>1</sup>, M. Lachica<sup>1,\*</sup>, L. González-Valero, I. Fernández-Fígares

*Department of Animal Nutrition, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Camino del Jueves s/n, 18100 Armilla, Granada, Spain*

<sup>1</sup>These authors contributed equally to this manuscript.

\*Corresponding author. Tel: +00 34 958 572 757; Fax: +00 34 958 572 753; E-mail address: manuel.lachica@eez.csic.es



24 **Abstract**

25 Minor details in the catheters design, catheterization procedure and/or catheters care  
26 separate failure from success working with multi-catheterized animals. This report  
27 describes a novel approach to multi-catheterize pigs for long-term studies of the portal-  
28 drained viscera (PDV) on a modern (Landrace) and a native obese (Iberian) breed. To  
29 validate the functionality of the catheter design and catheterization method net flux of  
30 glucose was measured after a meal. Three Iberian and three Landrace gilts (25 kg  
31 average BW) were fitted with catheters: in carotid artery (CA) and portal vein (PV) for  
32 blood sampling, and ileal vein (IV) for para-aminohippuric acid (PAH, 2% w/v)  
33 infusion to measure blood flow. Rings were attached to the catheters to facilitate the  
34 fixing to vessels by means of non-absorbable suture. The PV was catheterized through  
35 the visceral side of the liver left lateral lobe and IV through a branch of the vein. The  
36 CA was secured directly in place with a purse-string suture where the artery was not  
37 occluded. Catheters patency was checked weekly and catheters filled up with sterile  
38 heparinized saline (250 IU/ml) and closed by two knots. A pilot experiment was carried  
39 out when pigs attained 28 kg average BW. A 15 ml pulse dose of PAH was infused into  
40 IV 45 min prior blood sampling, followed by continuous infusion of 0.8 ml/min. A 4.5  
41 ml blood sample was taken into heparinized tubes simultaneously from CA and PV 5  
42 min before and 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after feeding 25% of the total daily  
43 ration (85% *ad libitum*, 160 g/kg CP and 14-14.5 MJ ME/kg DM), centrifuged for  
44 packed cell volume (PCV) and plasma harvested and stored at -20 °C until PAH and  
45 glucose analysis. Whole-blood flow and glucose net flux rates were based on Fick  
46 principle. Net flux of glucose was 221 and 225 (mg/min) for Iberian and Landrace pigs,

47 respectively. The concurrence of the access to the PV through the liver with a minimal  
48 wound, the free blood flow in CA, and catheters design and care was critical for the  
49 very fast recovery of pigs after surgery. Furthermore, patency of catheters was long  
50 enough to allow studies for weeks of nutrient metabolism at PDV level in growing pigs.

51 *Keywords:* Catheterization; Iberian pig; Portal-drained viscera

52

53

54

55 **1. Introduction**

56 Nutrient fluxes among tissues follow the blood and lymph routes. The  
57 gastrointestinal tract plays an essential role in nutrient distribution to peripheral tissues.  
58 In terms of whole-body metabolism, visceral tissues have a disproportionate influence  
59 with respect to their masses and under certain circumstances their high metabolic rate  
60 may compromise nutrient availability to the periphery. Catheterization of blood vessels  
61 is indispensable to investigate porto-arterial differences of portal-drained viscera (PDV)  
62 to study nutrient metabolism. Most surgery approaches in the literature are for ruminant  
63 species and only a few are for pigs. There are many combinations of surgical  
64 procedures, and catheters design and care in the literature. As van Leeuwen et al. (1995)  
65 pointed out, methods of catheterization of the portal vein (PV) can be divided into two  
66 groups: indirect, where the catheter insertion is into a tributary mesenteric vein or a  
67 branch of the PV in the liver; and direct insertion in the PV. The same would apply for  
68 the arterial catheterization, with respect to artery choice or the insertion technique. Also,  
69 design and care of catheters is very distinct in the literature.

70 Most surgical procedures have been applied in modern pig breeds, following a  
71 direct catheterization in PV and carotid artery (CA) with occlusion flow in the latter.  
72 Differences in anatomical characteristics among breeds could be an added difficulty of  
73 our study.

74 The aim of the present paper is to describe the catheters design, procedures used  
75 for surgery and catheters care to study the nutrient metabolism of PDV on a modern  
76 (Landrace) and a native obese (Iberian) breed. The method described for catheterization  
77 of PV and CA, catheter design and catheters care show peculiarities and differences

78 from those described in the literature. A pilot experiment is described where net flux of  
79 glucose was measured in both breeds after a meal to validate the whole procedure.

80

## 81 **2. Material and methods**

### 82 *2.1. Animals and diets*

83 The experimental protocol was reviewed and approved by the Bioethical  
84 Committee of the Spanish Council for Scientific Research (CSIC), Spain.

85 The experiment was performed with 3 Landrace and 3 Iberian (Silvela strain)  
86 gilts supplied, respectively, by Granja El Arenal (Córdoba, Spain) and Sánchez Romero  
87 Carvajal, Jabugo S.A. (Sevilla, Spain). The pigs were allowed *ad libitum* access to a  
88 standard diet (160 g/kg CP; 14-14.5 MJ ME/kg DM) and allocated in a controlled  
89 environment room ( $21\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ ) in individual pens until surgery with free access to water.  
90 After surgery, pigs were fed once a day at 85% *ad libitum* calculated as a function of  
91 BW.

### 92 *2.2. Catheter design*

93 Spooled tubing was used to prepare three 60 cm catheters (Figure 1). The PV  
94 catheter (Tygon, i.d. 1.27 mm, o.d. 2.29 mm; Cole-Parmer, Chicago, IL, USA) had  
95 wider diameter than ileal vein (IV) and CA catheters (Tygon, i.d. 1.02 mm, o.d. 1.78  
96 mm; Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, USA).

97 Each catheter was assembled with two rings of 2 and 5 mm wide (Tygon, i.d. 1.6  
98 mm, o.d. 3.2 mm; Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, USA) distal and proximal,  
99 respectively, to the cranial catheter tip, glued with Loctite (Super Glue; Henkel Iberica,  
100 S.A., Barcelona, Spain), allowing a separation of around 2 mm between both. Before

101 gluing, the cranial side of the 5 mm ring was cut with an angle of 30°; the wall of both  
102 rings was longitudinally cut to facilitate the installation around the catheter. Proximal  
103 ring was 6, 10 and 12 cm from the cranial catheter tip for PV, IV and CA, respectively.  
104 For the three catheters, the cranial tip was cut with an angle of 45°, opposite the side of  
105 catheter twisting tendency to prevent occlusion of the catheter with the wall vessel, and  
106 the border smoothed with scissors to prevent vessel irritation and blood coagulation.  
107 Catheters were sterilized by steam autoclaving.

### 108 *2.3. Surgery and catheterization*

109 To avoid stress of the animals, gilts were adapted to close contact with humans  
110 prior to surgery. When they were around 25 kg BW, they were surgically fitted with the  
111 aforementioned chronic indwelling catheters in CA, IV and PV.

112 Pigs were fed 24 h prior to surgery and had free access to water. General  
113 anaesthesia was induced using an i.m. combination of Ketamine (15 mg/kg BW;  
114 Imalgene 1000, Merial, Barcelona, Spain)/Azaperone (2 mg/kg BW; Stresnil, Steve,  
115 Barcelona, Spain) and maintained throughout preparation and surgical procedures by  
116 administering halothane and oxygen (22-44 ml/kg BW per min) in a closed circuit, with  
117 soda lime for carbon dioxide removal, through a face mask. Halothane dose was settled  
118 at 5% during the first min and 0.5-2% throughout the surgery. The right side, back and  
119 neck of the gilt were closely clipped (Oster, USA; blade 50, 1/20 mm), washed and  
120 scrubbed three times using iodine soap. Gilt was moved to the surgery room and placed  
121 on a thermoregulated table. Incision area was sprayed with povidone-iodine (7.5%) and  
122 alcohol (70%). Strict aseptic and sterile conditions were applied along the whole  
123 procedure.

124 *2.3.1. Portal and ileal veins*

125 A paracostal incision (20 to 25 cm) was made through the skin, parallel and as  
126 close as possible (2-3 cm) to the last rib on the right side of the gilt. Muscle layers and  
127 the peritoneum were cut with scissors. A towel soaked in warm sterile saline (0.9%)  
128 was used to hold the viscera away from the liver. Liver left lateral lobe was identified,  
129 grasped with gauze and lifted to locate large PV branches in the visceral surface. To  
130 insert the catheter, we followed a modification of Seldinger technique (Seldinger, 1953).  
131 A 14G needle was inserted through liver tissue at about the end of the visible part of the  
132 vein into the portal branch and removed. Through the opening, a wire guide (0.89 mm ×  
133 70 cm; medCOMP, Harleysville, PA, USA) was used to insert (6 cm) the PV catheter  
134 filled with physiological saline containing 250 IU heparin/ml (Fragmin, 5000 IU/0.2 ml;  
135 PHARMACIA Spain S.A., Barcelona, Spain) toward the origin of the PV ramification  
136 into the liver until the first ring of the PV catheter touched the liver wall. Subsequently,  
137 it was double sutured to the liver parenchyma using a non-absorbable suture (Silkam 0,  
138 1/2 round needle; B. Braun VetCare S.A., Barcelona, Spain). Before the catheter  
139 insertion, the first suture was tied between the pre-placed catheter rings, which facilitate  
140 the first stitch and anchoring to the liver. The first stitch was about 2 mm cranial to the  
141 insertion point to keep the first ring against the liver wall, this fact warranties that the  
142 catheter is unmoving with respect to the insertion point and its anchoring. A second  
143 suturing was done after the second ring. Always, the suture puncture was done avoiding  
144 the risk of damaging the portal branch underneath the catheter by making a wide loop  
145 into the liver parenchyma to go round the catheterized portal branch. Special care is

146 needed to avoid parenchyma ripping when the suture knots are made; a good trick is to  
147 insert the tip of e.g. a forceps through the suture loop before tightening the knot.

148 To verify proper catheter location, a sample of blood was collected  
149 simultaneously from the catheter and by puncturing directly the PV for determination of  
150 O<sub>2</sub> saturation of haemoglobin (OSM 3 Hemoximeter; Radiometer Corporation,  
151 Copenhagen, Denmark). Moreover, portal branches are very close to the visceral surface  
152 of liver whereas branches of hepatic vein are closer to the diaphragmatic side (Ortigues  
153 et al., 1994).

154 After the portal catheter was placed, the soaked towel remained within the  
155 abdominal cavity to ensure that the viscera remain covered. Through the same initial  
156 incision, the terminal ileum was located. The segment of terminal ileum was brought  
157 toward the incision and IV installed. After separating the surrounding connective tissue  
158 of a branch of the IV, a small puncture was made and the catheter inserted 10 cm  
159 cranially into the vein. Catheter was secured by two non-absorbable sutures (Silkam 1,  
160 1/2 round needle; B. Braun VetCare S.A., Barcelona, Spain) around the vessel, one  
161 between the two rings and another behind the distal ring.

162 During the catheterization procedure, catheters were filled with sterile  
163 heparinized saline (250 IU/ml) and the external ends were locked by two consecutive  
164 overhand knots using no more than 1 cm of the tips. Special care was always taken to  
165 clip the catheter while heparinized saline was infused with the syringe to ensure that no  
166 blood at all entered in the catheter, knot and then remove the clamp. Distal tip of portal  
167 and ileal catheters were threaded through the eyelet of a regular needle (sack needle  
168 type, 150 mm × 2.5 mm) and exteriorized through the body wall, by means of pliers,

169 near the lateral process of the vertebra situated between the caudal part of diaphragm  
170 and the cranial side of the right kidney. Care is necessary to avoid occlusion of a loop of  
171 small intestine with the catheter tubing (van Leewen et al., 1995). The incision was  
172 closed in three separate layers. Approximately 1 ml of Penicillin G Procaine +  
173 Dihidrostreptomisine sulphate (Duphaphen Strep; Fort Dodge Vet. S.A., Gerona, Spain)  
174 was poured in each layer. Peritoneum was included with the first muscle layer. Before  
175 closing down the first layer, viscera were rinsed with warm (39 °C) sterile saline until  
176 clean saline overflowed, and filled up again with sterile saline plus 2 ml of Duphaphen  
177 Strep. A continuous absorbable suture (Polisorb 1, ½ round needle; Tyco Healthcare UK  
178 Ltd., Gosport, UK) was used for the first and second layers. A single interrupted suture,  
179 using non-absorbable suture (Silkam 0, 1/2 cutting needle; B. Braun VetCare S.A.,  
180 Barcelona, Spain) was used to close the skin. A cohesive bandage (Askina Haft Color 8  
181 cm × 20 m; B. Braun, Melsungen, Germany) patch (10 cm × 8 cm) was glued to the  
182 skin together with the catheters a few cm away from the externalization orifice using  
183 contact glue in order to protect and keep the catheters coiled over the middle line of the  
184 back. Special care was taken to keep the good state of glued patch along the  
185 experiments.

### 186 2.3.2. *Carotid artery*

187 Pigs were moved to a dorsal recumbency position. An incision (10 cm  
188 approximately) was done along the jugular furrow. After incising the superficial  
189 cutaneous muscles, which is an approach relatively bloodless, dissection was made  
190 between the sternocephalic and brachio-cephalic muscles. The CA was located within a  
191 sheath together with the vagus nerve and the internal jugular vein on the lateral aspects



192 of the ventral surface of the cervical vertebrae. A blunt dissection over the dorsal  
193 surface of the sternocephalic muscle exposed the sheath containing the artery. Artery  
194 wall was stripped free of associated connective tissue 2-4 cm and then, some droplets of  
195 lidocaine (Lincaina 2% S/N; B. Braun Medical, S.A., Barcelona, Spain) were dripped  
196 over the exposed carotid for relaxing and avoiding vasoconstriction. After a couple of  
197 min, two small curved haemostatics were situated underneath the artery cranial and  
198 caudal to the catheter insertion site to lift the carotid toward the incision site, this fact  
199 stops the blood flow. A purse-string non-absorbable suture (Daclon Nylon 4/0, 3/8  
200 cutting needle; smi, St. Vith, Belgium) was done on the CA surface making a small  
201 square (2 mm side) with four stitches going through the artery wall without perforate it.  
202 Then, artery wall was cut with small iris scissors to create an opening into the artery in  
203 the middle of the purse-string. Catheter was inserted (simultaneously the cranial  
204 haemostatic was removed) toward the aorta arch until the first catheter ring touched the  
205 carotid wall, and purse-string suture was tied and knotted in its turn between the  
206 catheter rings. A second suture was tied after the distal ring and sutured to surrounding  
207 tissues. The CA catheter was exteriorized through the neck wall down and caudal from  
208 the ear using a sack needle. Before continuously suturing the subcutaneous muscular  
209 layer (Polisorb 1, ½ round needle; Tyco Healthcare UK Ltd., Gosport, UK),  
210 approximately 1 ml of Duphaphen Strep was dripped and skin closed using a simple  
211 interrupted non-absorbable suture (Silkam 0, 1/2 cutting needle; B. Braun VetCare S.A.,  
212 Barcelona, Spain).

213 A patch (10 cm × 8 cm) was glued to the skin together with the catheter close to  
214 the exteriorization point, guided to the shoulder and fixed again with a second patch. As  
215 described earlier, the catheter was coiled.

#### 216 *2.4. Post surgery and catheters care*

217 Following surgery, pigs were placed in metabolism stalls and heat lamps were  
218 used to provide additional warmth during anaesthesia recovery. Feed and water intake  
219 and body temperature were monitored. N-butyl hyoscine bromide + Sodium metamizol  
220 (Buscapina Compositum; Boehringer Ingelheim Spain S.A., Barcelona, Spain) was  
221 administered as analgesic and anti-spasm agent (5 ml i.m.) the day after surgery.  
222 Wounds from surgery and catheters exteriorization site were kept clean and sprayed  
223 with antibiotic (Veterin Tenicol; Lab. Intervet S.A., Salamanca, Spain) to prevent  
224 infection and help on healing. Animals were injected i.m. with a broad spectrum  
225 antibiotic (Duphapen Strep; Fort Dodge Vet. S.A., Gerona, Spain) the day of surgery  
226 and every day for four days (5-10 mg/kg BW per day). The animals were fasted for 18 h  
227 with free access to water and given 25, 60 and 100% of the normal daily ration the first,  
228 second and third day after surgery, respectively. Stitches were removed 10 days after  
229 surgery.

230 Patency of catheters was tested every 7 days during 8 weeks. Catheters were  
231 sprayed and cleaned with alcohol using sterile gauze, cut with scissors as close as  
232 possible to the cranial knot and a 5 ml syringe with a needle connected for flushing with  
233 sterile heparinized (250 IU/ml) saline. Catheters were closed as described earlier by two  
234 knots. Each time the catheter was used, about 1 cm of catheter length was used.

#### 235 *2.5. Pilot experiment and analyses*

236 Net flux of glucose was measured across PDV after a meal when pigs attained  
237 28 kg average BW. Forty five min prior blood sampling a 15 ml pulse dose of para-  
238 aminohippuric acid (PAH, 2% w/v; Sigma-Aldrich Quimica S.A., Madrid, Spain)  
239 prepared as described by Yen and Killefer (1987) was infused into IV, followed by a  
240 continuous infusion of 0.8 ml/min using a syringe pump (Harvard Pump 33; Harvard  
241 Apparatus, Holliston, MA, USA). Apyrogenic filters (MILLEX GP, Syringe Driven  
242 Filter Unit, 0.22 µm; Millipore, Carrigtwohill, Ireland) were fitted to infusion syringes.  
243 A 4.5 ml blood sample was taken simultaneously from CA and PV 5 min before and  
244 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after feeding 25% of total daily ration, into a tube  
245 (Monovette VetMed LH; Sarstedt, Nümbrecht, Germany) with heparin-coated glass  
246 beads, centrifuged for packed cell volume (PCV) and plasma harvested and stored at -  
247 20°C until analysis for PAH (Smith et al., 1945) using the gravimetric approach (Lobley  
248 et al., 1995). Haemoglobin content was measured directly on blood (OSM 3  
249 Hemoximeter; Radiometer Corporation, Copenhagen, Denmark). Plasma glucose was  
250 determined based on the glucose oxidase method by means of an electrochemical  
251 detection technique using Precision PCx Blood Glucose Test Strips (Abbot  
252 Laboratories, MediSense Products; Bedford, MA, USA). Physiological saline  
253 containing 5 IU heparin/ml was used for flushing catheters during sampling sessions.

254 Whole-blood flow and net flux of glucose were calculated based on Fick  
255 principle of arterio-venous concentration difference and flow rate. Blood flows were  
256 determined by the indicator dilution method using PAH as described by Katz and  
257 Bergman (1969).

258 *2.6. Statistical analysis*

259           The statistical analysis was carried out by means of a computer software  
260 package (Statgraphics Plus for Windows Version 5.1, Manugistics Inc., Rockville,  
261 MD). Experimental data were analyzed using a two way ANOVA where breed and time  
262 of sampling were fixed factors. Because time of sampling and the interaction were not  
263 statistically significant, data were pooled and subjected to one way ANOVA and  
264 multiple comparisons between breeds by means of a Tukey's t-test.

265

### 266 **3. Results and discussion**

267           Catheters dimensions and designs are variable throughout the literature and most  
268 of them have similar diameter and variable length. When we first set up the surgery  
269 procedure using Landrace pigs, the same catheter design than in the present experiment  
270 was used except that the PV catheter was identical diameter than IV and CA (i.d. 1.02  
271 mm, o.d. 1.78 mm) catheters. When first checking for catheters patency (one week after  
272 surgery), no blood withdrawal from any of the PV catheters occurred. To circumvent  
273 the issue we determined to increase the diameter of PV catheter (i.d. 1.27 mm, o.d. 2.29  
274 mm), finding no difficulty thereafter with blood withdrawal. This diameter was also  
275 used for PV catheter by van der Meulen et al. (1997) and Jørgensen et al. (2010).

276           Catheter rings attached to catheters have been used previously in pigs. Van  
277 Leeuwen et al. (1995) used a rosette sheeting, glued to the catheter at an angle of 45° to  
278 fix it to the vessel. Yen and Killefer (1987) utilized a piece of nylon mesh attached to  
279 catheter and sutured to the adjacent connective tissues of the vessel for anchoring. An  
280 intermediate design described by Jørgensen et al. (2010) consisted of a cuff of silicone  
281 tubing glued to a piece of polyvinyl net which is placed around the PV catheter and

282 polyvinyl net is sutured to the hepatic tissue. Hooda et al. (2009) used a PV catheter  
283 with two rings, with the particularity that the first catheter ring was inserted into the PV  
284 and then a purse-string suture was closed; the catheter was also secured to the sheath  
285 using suture around the second ring. Moreover, they opened small holes in the sides of  
286 the catheter between the tip and first ring to have an alternate route of blood collection.  
287 In our study, the first (proximal) ring was cut with an angle of 30°, which allows  
288 keeping the catheter as tangential as possible to the vessel avoiding the blockage due to  
289 a possible bent as van Leeuwen et al. (1995) observed. Also, the ring stimulates the  
290 tissue adherences on the vessels by increasing the contact surface, facilitating the  
291 anchoring of the catheter. The length (6 cm) of catheter inserted in the portal branch  
292 from the insertion point to the bifurcation of PV to the left and right lobes was selected  
293 after post-mortem observation of livers from Landrace and Iberian pigs of similar BW.

294 In our study, the cranial tip of the three catheters was cut with an angle of 45°  
295 and not 90° to avoid catheter obstruction in the event the tip locates against the wall of  
296 the vessel. As the tubing used for catheters is purchased in spools, the tendency is to  
297 coil. The 45° cut opposite the side of catheter twisting tendency circumvents the  
298 contingency that the orifice tip lean over the vessel wall.

299 Blockage and loss of patency is always a problem to face in this kind of studies.  
300 Yen and Killefer (1987) in the post-mortem examination of pigs revealed that no  
301 patency of arterial catheters was due by the formation of thrombi and fibrous tissue  
302 engulfing the tips, whereas complete enclosure of the tips by fibrous tissue was the  
303 reason for PV catheter blockage. Jackson et al. (1972) ascribed catheter blockage to the  
304 formation of small valve-like thrombi at the tip. During the 8 weeks that the catheters

305 were checked, no difficulty for blood withdrawal was found when catheters were  
306 flushed with heparinized saline solution previous to blood sampling.

307 Time length of surgical procedure was variable, 3-4 h depending on anatomical  
308 individual variations.

309 Regarding position of the animal for PDV surgery, dorsal recumbency for mid-  
310 line incision and left lateral recumbency for incision behind and parallel to the last rib  
311 on the right side of the pig have been utilized. Most published papers describe a direct  
312 access to the PV (Rerat et al., 1980; Yen and Killefer, 1987) and only a few report an  
313 indirect access through the pig liver, by an incision in the left medial (Olesen et al.,  
314 1989) or in the left liver lobe (Paschen and Müller, 1986), as it was our case. Paschen  
315 and Müller (1986) ligated, cut, and stretched, by insertion of the scissors tip, a small  
316 tributary of the PV in the caudal angle of the left liver lobe and a Swan-Ganz catheter  
317 was passed into the PV, and secured to the surface of the liver by stitches parallel to the  
318 vessels. Jørgensen et al. (2010) described a similar approach where approximately 3-4  
319 cm from the top of a liver lobe was cut off transversally, a portal vessel identified and  
320 catheter inserted until it appeared in the PV as verified by palpation.

321 It is well known that it is possible to ligate unilaterally the CA on either side  
322 without circulatory complications (Swindle, 2009). It has been pointed out (Rerat et al.,  
323 1980; Yen and Killefer, 1987) that occlusion of one of two CA should not result in any  
324 physiological detriment because of the anastomosis with the vertebral artery in the  
325 submaxillary zone. Nevertheless, when CA was ligated unilaterally, we found the CA  
326 catheter blocked after 2 weeks in the Landrace gilts used to set up the surgical  
327 procedure. A local infection surrounding the carotid insertion site was found.

328 Subsequently, we decided not to occlude the artery using a purse-string suture allowing  
329 the blood flow to lessen the risk of local infections with optimum results.

330 No specific differences were found between Landrace and Iberian pigs except  
331 that Iberian showed greater subcutaneous and intra abdominal fat deposits. Special care  
332 is needed when abdominal catheters are exteriorized through the body wall in Iberian  
333 pigs, as it is necessary to get very close to the cranial side of the right kidney not to  
334 puncture the caudal part of diaphragm, since the space between both is very narrow.

335 Our criterion for success was rapid restoration of normal feed intake, absence of  
336 infection at the incision site, and patency of catheters.

337 After surgery, pigs did not show any symptom of discomfort, fever or appetite  
338 deprivation. Full ration was offered 2 days after surgery. It is crucial to ensure that  
339 sterile and aseptic techniques are practiced throughout all phases of the catheterization  
340 procedure for fast and satisfactory recovery. The use of a towel to “pack” the viscera  
341 away from the liver, viscera rinsing with warm (39 °C) sterile saline and filling the  
342 abdominal cavity up with sterile saline plus a broad spectrum antibiotic before closing it  
343 down may have prevented cavity infection and accelerated the healing process. Also,  
344 the indirect access using needle puncture through the pig liver parenchyma implied a  
345 minimal wound compared to incision or cutting of liver lobe which produce a temporary  
346 hepatic damage. Jørgensen et al. (2010) mentioned 10-14 days to recover and regain full  
347 appetite after surgery accessing to the PV by cutting the liver lobe.

348 The majority of the literature describes daily catheter flushing (e.g. Yen and  
349 Killefer, 1987; Hooda et al., 2009). However, we manipulated and flushed the catheters  
350 once per week to avoid as much as possible contamination that could potentially cause

351 the catheter blockage. Indeed, human studies (Smith et al., 1991; Kelly et al., 1992)  
352 have demonstrated no significant difference in central venous catheters complications  
353 after switching from flushing daily or twice per day to a weekly flushing regimen. As  
354 we mentioned earlier, each time a catheter was used, about 1 cm was wasted. However,  
355 no bleeding and clot into the catheter occurred because of locker loss when no serial  
356 sampling was done.

357 Catheter patency is variable, ranging from 18 days (Rerat et al., 1980) to 6-12  
358 weeks (Yen and Killefer, 1987; van Leeuwen et al., 1995; Hooda et al., 2009). In our  
359 study we checked the catheters for 8 weeks, and this period was sufficient to perform  
360 nutrient kinetics studies of PDV, especially taking into account that the gilts were  
361 growing rapidly. The indicator dilution (PAH; Katz and Bergman, 1969) and electronic  
362 devices surrounding the vessels are the most frequent methods used to measure blood  
363 flow. Electronic devices are electromagnetic (Rerat et al., 1980) or ultrasonic (Ellis et  
364 al., 1995) flow probes attached as a cuff around the blood vessel and only allow reliable  
365 measurements for 2-4 and 6 weeks after surgery, respectively, because formation of  
366 fibrous tissues around the probe disturbs the signal and as a consequence the flow rate is  
367 underestimated. Nevertheless Hooda et al. (2009) reported similar blood flow  
368 measurements using an ultrasonic probe after 52 days compared with 10 days post-  
369 surgery. In the present work PAH method was chosen. It has been widely and  
370 successfully utilized in pigs since Yen and Killefer (1987) described their  
371 catheterization technique.

372 Organ and total body blood flow are very variable and depend on the cardiac  
373 output. As Ten Have et al. (1996) pointed out, it is important that the experimental



374 conditions are as constant as possible. Thus, in humans a standing position increases the  
375 cardiac output by 20% and Brown et al. (1989) showed that blood-flow rate was  
376 significantly reduced when upright compared to supine position. Ellis et al. (1995)  
377 observed that blood flow seemed to be more dependent on the behaviour of the pig the  
378 day of sampling than on composition of the meal ingested. Therefore, care is needed  
379 when comparing literature data from different experiments and conditions.

380 Overall, Landrace pigs portal blood flow (Table 1) was similar or lower than  
381 data in the literature (Yen and Killefer, 1987; Yen et al., 2004; Hooda et al., 2009), may  
382 be as result of the low feeding level chosen in our experiment (25% of the total daily  
383 ration for a 6 h -25% of day length- sampling period). Portal blood flow was lower  
384 ( $P<0.05$ ) in Iberian pigs compared to Landrace and showed significantly higher PCV  
385 and haemoglobin concentration (Table 1); this could partially compensate for the lower  
386 blood flow. Later, we have obtained these differences in a regular basis when both  
387 breeds were compared (unpublished results). Although our values are in the range of  
388 results reported in the literature (Rerat et al., 1984; Prior and Gross, 1995; Kristensen et  
389 al., 2009), differences in diet composition affect the net flux of glucose (Table 1), which  
390 has to be taken into account when comparing with other studies.

391

#### 392 **4. Conclusions**

393 Variations in catheters design, catheters care and surgical procedures to study  
394 PDV nutrient metabolism in pigs are described. No surgical problems or differences  
395 associated with breed were found during and after surgery. Surgery recovery was very  
396 fast. Catheters could successfully be used for several weeks in both breeds. The

397 methodology followed is suitable for pigs, permitting to evaluate kinetic of nutrients  
398 across the PDV and could be used to explain differences in digestive and absorptive  
399 capacities between modern and native breeds.

400

#### 401 **Acknowledgments**

402 Two of the authors (J.M. Rodríguez-López and L. González-Valero) are grateful  
403 to the Ministry of Science and Education of Spain for the award of a PhD student  
404 scholarship. This research was supported by grants no. AGL 2006-05937/GAN and  
405 AGL 2009-08916 from the Spanish Ministry of Science and Education.

406

#### 407 **References**

- 408 Brown, H.S., Halliwell, M., Qamar, M., Read, A.E., Evans, J.M., Wells, P.N.T., 1989.  
409 Measurement of normal portal venous blood flow by Doppler ultrasound. *Gut* 30,  
410 503-509.
- 411 Ellis, P.R., Roberts, F.G., Low, A.G., Morgan, L.M., 1995. The effect of high  
412 molecular-weight guar gum on net apparent glucose absorption and net apparent  
413 insulin and gastric inhibitory polypeptide production in growing pig: Relationship to  
414 rheological changes in jejunal digesta. *Br. J. Nutr.* 74, 539-556.
- 415 Hooda, S., Matte, J.J., Wilkinson, C.W., Zijlstra, R.T., 2009. Technical note: an  
416 improved surgical model for the long-term studies of kinetics and quantification of  
417 nutrient absorption in swine. *J. Anim. Sci.* 87, 2013-2019.
- 418 Jackson, I.M.D., Cook, D.B., Gill, G. 1972. Simultaneous intravenous infusion and  
419 arterial blood sampling in piglets. *Lab. Anim. Sci.* 22, 552-555.

420 Jørgensen, H., Serena, A., Theil, P.K., Engberg, R.M., 2010. Surgical techniques for  
421 quantitative nutrient digestion and absorption studies in the pig. *Livest. Sci.* 133, 57-  
422 60.

423 Katz, M.L., Bergman, E.N., 1969. Simultaneous measurements of hepatic and portal  
424 venous blood flow in the sheep and dog. *Am. J. Physiol.* 216, 946-952.

425 Kelly, K., Dumenko, L., McGregor, S., McHutchion, M., 1992. A change in flushing  
426 protocols of central venous catheters. *Oncol. Nurs. Forum* 19, 599-605.

427 Kristensen, N.B., Nørgaard, J.V., Wamberg, S., Engbaek, M., Fernández, J.A., Zacho,  
428 H.D., Poulsen, H.D., 2009. Absorption and metabolism of benzoic acid in growing  
429 pigs. *J. Anim. Sci.* 87, 2815-2822.

430 Lobley, G.E., Connell, A., Lomax, M.A., Brown, D.S., Milne, E., Calder, A.G.,  
431 Farningham, D.A.H., 1995. Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver;  
432 possible consequences for amino acid catabolism. *Br. J. Nutr.* 73, 667-685.

433 Olesen, H.P., Sjøntoft, E., Tronier, B., 1989. Simultaneous sampling of portal, hepatic  
434 and systemic blood during intragastric loading and tracer infusion in conscious pigs.  
435 *Lab. Anim. Sci.* 39, 429-432.

436 Ortigues, I., Durand, D., Lefaivre, J., 1994. Use of para amino hippuric acid to measure  
437 blood flows through portal drained viscera, liver and hindquarters in sheep. *J. Agric.*  
438 *Sci. (Camb.)* 122, 299-308.

439 Paschen, U., Müller, M.J., 1986. Serial blood sampling from the portal and hepatic vein  
440 in conscious unrestrained miniature pigs. *Res. Exp. Med.* 186, 87-92.

441 Prior, R.L., Gross, K.L., 1995. Dietary arginine deficiency and gut ammonium infusion  
442 alter flux of urea cycle intermediates across the portal-drained viscera of pigs. *J.*  
443 *Nutr.* 125, 251-263.

444 Rerat, A., Vaugelade, P., Villiers, P., 1980. A new method for measuring the absorption  
445 of nutrients in the pig: Critical examination, in: Low, A.G., Partridge, I.G. (Eds.),  
446 *Current Concepts of Digestion and Absorption in Pigs*. National Institute for  
447 *Research in Dairying*, Reading, England, and Hannah Research Institute, Ayr,  
448 Scotland, Tech. Bull. 3), pp. 177-216.

449 Rerat, A., Vaissade, P., Vaugelade, P., 1984. Absorption kinetics of some carbohydrates  
450 in conscious pigs 2. Quantitative aspects. *Br. J. Nutr.* 51, 517-529.

451 Seldinger, S.I., 1953. Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography.  
452 *Acta Radiol.* 39, 368-376.

453 Smith, H.W., Finkelstein, N., Aliminosa, L., Crawford, B., Graber, M., 1945. The renal  
454 clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dogs  
455 and man. *J. Clin. Invest.* 24, 388-404.

456 Smith, S., Dawson, S., Hennessey, R., Andrew, M., 1991. Maintenance of the patency  
457 of indwelling central venous catheters: is heparin necessary? *Am. J. Pediatr.*  
458 *Hematol. Oncol.* 13, 141-143.

459 Swindle, M.M., 2009. Chronic Intravascular Intervention in Swine: Peripheral Vessels.  
460 *Catheterization Series*. <http://www.sinclairbioresources.com>.

461 Ten have, G.A.M., Bostl, M.C.F., Suyk-Wierts, J.C.A.W., van den Bogaard, A.E.J.M.,  
462 Deutz, N.E.P., 1996. Simultaneous measurement of metabolic flux in portally-

463 drained viscera, liver, spleen, kidney and hindquarter in the conscious pig. Lab.  
464 Animals 30, 347-358.

465 van der Meulen, J., Bakker, G.C.M., Bakker, J.G.M., de Visser, H., Jongbloed, A.W.,  
466 Everts, H., 1997. Effect of resistant starch on net portal-drained viscera flux of  
467 glucose, volatile fatty acids, urea, and ammonia in growing pigs. J. Anim. Sci. 75,  
468 2697-2704.

469 van Leeuwen, P., Leuvenink, H.G.D., Haasbroek, W.M., Priem, G., Bosch, M., van  
470 Kleef, D.J., 1995. A portal vein catheterization technique in pigs and sheep, and  
471 postprandial changes of pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, pH, urea, ammonia, and creatinine and proteins  
472 in portal and arterial blood measured in pigs. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)  
473 73, 38-46.

474 Yen, J.T., Killefer, J., 1987. A method for chronically quantifying net absorption of  
475 nutrients and gut metabolites into hepatic portal vein in conscious swine. J. Anim.  
476 Sci. 64, 923-934.

477 Yen, J.T., Varel, V.H., Nienaber, J.A., 2004. Metabolic and microbial responses in  
478 western crossbred and Meishan growing pigs fed a high-fiber diet. J. Anim. Sci. 82,  
479 1740-1755.

480

481

482

483

484

**Table 1**

Pre and postprandial portal blood flow, packed cell volume, haemoglobin and net flux of glucose in Iberian and Landrace pigs fed 25% of their daily ration (n=3; values are mean  $\pm$  s.e. for ten postprandial measurements)<sup>1</sup>.

	Iberian	Landrace	s.e.
Portal blood flow (ml/min)			
Preprandial <sup>2</sup>	563 <sup>a</sup>	1059 <sup>b</sup>	36
Postprandial	866 <sup>a</sup>	1464 <sup>b</sup>	45
Packed cell volumen (%)	30.3 <sup>a</sup>	25.9 <sup>b</sup>	0.27
Haemoglobin (mmol/l)	6.3 <sup>a</sup>	5.7 <sup>b</sup>	0.03
Net flux of glucose (mg/min)	221 <sup>a</sup>	225 <sup>a</sup>	35

<sup>1</sup> Values within a row with unlike superscript letter were significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>2</sup> Values are mean  $\pm$  s.e. for one preprandial measurement.

485

486

487

488

489

490

491

492 **Fig. 1.** From top to down: portal vein, ileal vein and carotid artery catheters.

493

494

Figure

[Click here to download high resolution image](#)





---

***Artículo 2***

---



Provided for non-commercial research and education use.  
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

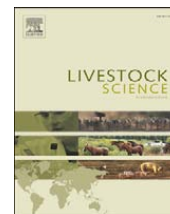
In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



Contents lists available at ScienceDirect

## Livestock Science

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/livsci](http://www.elsevier.com/locate/livsci)

## Energy expenditure of splanchnic tissues in Iberian and Landrace growing gilts<sup>☆</sup>

J.M. Rodríguez-López<sup>1</sup>, M. Lachica<sup>1</sup>, L. González-Valero, I. Fernández-Fígares<sup>\*</sup>

Animal Nutrition Department, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Camino del Jueves s/n, 18100 Armilla, Granada, Spain

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Iberian pigs  
Energy  
Splanchnic tissues

### ABSTRACT

The aim of this work was to determine differences in splanchnic tissues (ST) heat production (HP) between Iberian and Landrace growing gilts. Twelve (6/breed) female gilts (approximately 29 kg average BW) were used. Three catheters were placed in each pig: in carotid artery and portal vein for blood sampling, and in mesenteric vein for para-aminohippuric acid (PAH) infusion to measure blood flow. Pigs were on metabolic cages and fed at 85% *ad libitum* (160 g/kg CP and 14–14.5 MJ ME/kg DM). The trial began when animals were recovered from surgery. Forty five min prior blood sampling a 15 ml pulse dose of PAH (2% w/v) was infused into mesenteric vein, followed by continuous infusion of 0.8 ml/min. A 4.5 ml blood sample was anaerobically taken simultaneously from carotid artery and portal vein 5 min before and 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after feeding 25% of total daily ration, into a heparinized tube for instantaneous measurement of O<sub>2</sub> concentration and saturation of haemoglobin (by an hemoximeter). The rest of blood was centrifuged for packed cell volume (PCV) and plasma harvested and stored at –20 °C until PAH analysis. Whole-blood flow and O<sub>2</sub> consumption rates were based on Fick principle. The assumed energy equivalent for O<sub>2</sub> was 20.4 kJ/l. The HP of ST in Landrace was significantly higher (P<0.05) than in Iberian pigs. The use of arterio-venous preparations is a suitable technique for pigs, permitting to evaluate the HP of ST.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

The peripheral tissues of productive/economic interest (muscle, mammary gland and uterus) are the main nutrient targets, so it is interesting to maximize the nutrient usage by them. Considering the vascular route followed by ingested nutrients, the gastrointestinal tract, for its anatomic position and metabolic function, plays an essential role in nutrient distribution to peripheral tissues. In terms of whole-body metabolism, the visceral tissues have a disproportionate influence with respect to their masses and under certain circumstances the

high metabolic rate of them may compromise nutrient availability to the periphery. For instance, in pigs the digestive tissues drained by the portal vein (digestive tract, pancreas and spleen) are responsible for 25% of total O<sub>2</sub> consumption while their masses represent only 5% of total body mass (Yen et al., 1989). In the same way, the ST (splanchnic tissues) contribution to whole-body protein synthesis is disproportionately elevated with respect to their protein masses. Comparative studies carried out in Iberian and Landrace pigs (Rivera-Ferre et al., 2005) have shown that the ST contribution to total body weight is greater in Iberian than in Landrace pigs and, therefore, the overall metabolic activity of these tissues in Iberian pigs could imply a greater proportion of total energy requirements compared to Landrace pigs.

The energy expenditure associated to ST has been well documented for ruminants (for review see Goetsch, 1998) but there are few surveys in modern pig breeds and no available data for Iberian pigs. The objective of this work was to determine the

<sup>☆</sup> This paper is part of the special issue entitled “11th International Symposium on Digestive Physiology of Pigs”.

<sup>\*</sup> Corresponding author. Tel.: +34 958 572757; fax: +34 958 572753.

E-mail address: [ignacio.fernandez-figares@eez.csic.es](mailto:ignacio.fernandez-figares@eez.csic.es)

(I. Fernández-Fígares).

<sup>1</sup> These authors contributed equally to this manuscript.

heat production (HP) associated to ST in a modern vs. a native breed.

## 2. Material and methods

### 2.1. Animals, diets and surgery

The experiment was performed with 6 purebred Iberian (Silvela strain) and 6 Landrace gilts. Initial BW was approximately 25 kg for both breeds. The pigs were allowed *ad libitum* access to a standard diet before the study. Gilts were allocated in a controlled environment room ( $21 \pm 1.5$  °C) in individual pens until surgery and fed once a day with free access to water. A 16 h light and 8 h dark cycle was imposed through the experiment. After surgery, pigs from both genotypes were fed a diet with optimal protein/energy ratio and a CP concentration fixed to match the potential for protein deposition of conventional pig genotypes (160 g/kg of CP and 14–14.5 MJ ME/kg DM) at 85% *ad libitum* calculated as a function of BW.

When pigs were around 28 kg BW, they were surgically fitted with three chronic indwelling catheters: in the portal (PV) and mesenteric vein (MV), and in carotid artery (CA) as described by Yen and Killefer (1987), McLeod et al. (1997) and van der Meulen et al. (1997) with two modifications. First, the portal vein was catheterized through the visceral side of the liver left lateral lobe; the catheter was inserted 6 cm towards the entry of the portal vein in the liver and sutured to the parenchyma. Second, the carotid artery was not tied (occluded) but the catheter was secured in place with a purse-string suture (4/0) to allow blood flow and avoid later local infections. After patency was confirmed by flushing with physiological saline containing 5 IU heparin/ml, all the catheters (MV and CA: Tygon, i.d. 1.02 mm, o.d. 1.78 mm, length 65 cm; PV: Tygon, i.d. 1.27 mm, o.d. 2.29 mm, length 65 cm) were filled with physiological saline containing 250 IU heparin/ml and locked. Pigs were moved to metabolic cages. They resumed their normal eating habits (fed at 25, 60 and 100% of their preoperative intake for first, second and third day after surgery, respectively) usually in three days. Amoxicillin was given i.m. for 4 d after surgery.

### 2.2. Experimental design and analyses

Forty five min prior blood sampling a 15 ml pulse dose of PAH (2% w/v; for preparation of PAH solution see Yen and Killefer, 1987) was infused into MV, followed by a continuous infusion of 0.8 ml/min using a syringe pump. A 4.5 ml blood sample was anaerobically taken simultaneously from CA and PV 5 min before and 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after feeding 25% of total daily ration, into a tube with heparin-coated glass beads for immediate measurement of haemoglobin concentration and O<sub>2</sub> saturation of haemoglobin (OSM 3 Hemoximeter; Radiometer Corporation, Copenhagen, Denmark). The rest of blood was centrifuged for PCV and plasma harvest and stored at  $-20$  °C until analysis for PAH using the gravimetric approach (Lobley et al., 1995).

Whole-blood flow and O<sub>2</sub> consumption rates were calculated on Fick principle of arterio-venous concentration difference and flow rate. Plasma flows were determined by the indicator dilution method using PAH as described by Katz and Bergman (1969). Oxygen concentration was calculated as described by Huntington et al. (1990). Net fluxes of O<sub>2</sub> across the ST were

calculated by multiplying plasma flows by concentration differences. It was assumed an energy equivalent for O<sub>2</sub> consumption of 20.4 kJ/l (Rérat and Vaissade, 1993).

### 2.3. Statistical analysis

The statistical analysis was carried out by means of a computer software package (Statgraphics Plus for Windows Version 5.1, Manugistics Inc., Rockville, MD). Experimental data were analyzed using a two way ANOVA where breed and time of sampling were fixed factors. Because time of sampling and the interaction were not statistically significant, data were pooled and subjected to one way ANOVA and multiple comparisons between breeds by means of a Tukey test.

## 3. Results and discussion

Table 1 shows the results obtained. Iberian pigs had higher PCV, haemoglobin and O<sub>2</sub> concentration compared to Landrace ( $P < 0.05$ ). Overall, blood flow was relatively low in both breeds in comparison with data in the literature, either in modern or native breeds (Yen and Killefer, 1987; Yen et al., 2004), may be as a result of the low feeding level chosen in our experiment (25% of the total daily ration for a 6 h sampling period). Blood flow and O<sub>2</sub> consumption were lower ( $P < 0.05$ ) in Iberian pigs compared to Landrace. Nevertheless, the higher PCV and haemoglobin concentration in Iberian compared to Landrace could partially compensate for the lower blood flow. Comparative studies carried out in Landrace and Iberian pigs (Rivera-Ferre et al., 2005) showed that ST represent 8.3 and 10.2% of total body weight, respectively, and their contribution to whole-body protein synthesis was 32 and 48%, respectively. They did not find differences in protein synthesis rates of visceral tissues between breeds although protein synthesis rates of liver and duodenum were 6 to 10 times higher than those of muscle for both pig genotypes. We can speculate that the lower flow rate of

**Table 1**

Blood flow, packed cell volume (PCV), haemoglobin and oxygen concentrations, net flux of oxygen across the splanchnic tissues and its heat production (HP) in Iberian and Landrace pigs (values are mean  $\pm$  SE for ten postprandial measurements).

	Iberian	Landrace	SE
<i>Portal blood flow (ml/min)</i>			
Preprandial <sup>1</sup>	728 <sup>a</sup>	1012 <sup>b</sup>	84
Postprandial	970 <sup>a</sup>	1357 <sup>b</sup>	124
<i>PCV (%)</i>			
Arterial	30.2 <sup>a</sup>	27.0 <sup>b</sup>	0.54
Portal	30.9 <sup>a</sup>	27.8 <sup>b</sup>	0.50
<i>Haemoglobin (mmol/l)</i>			
Arterial	6.4 <sup>a</sup>	6.0 <sup>b</sup>	0.06
Portal	6.4 <sup>a</sup>	6.0 <sup>b</sup>	0.06
<i>Blood oxygen Concentration (mmol/l)</i>			
Arterial	6.1 <sup>a</sup>	5.7 <sup>b</sup>	0.06
Portal	4.3 <sup>a</sup>	4.0 <sup>b</sup>	0.06
Consumption (mmol/min)	1.5 <sup>a</sup>	1.9 <sup>b</sup>	0.06
HP (kJ/kg <sup>0.75</sup> per day) <sup>2</sup>	77 <sup>a</sup>	99 <sup>b</sup>	3.4

<sup>a,b</sup>For the comparisons made, values within a row with unlike superscript letter were significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>Values are mean  $\pm$  SE for one preprandial measurement.

<sup>2</sup>Calculated from: HP = 20.4 (kJ/l)  $\times$  O<sub>2</sub> (l/kg<sup>0.75</sup> per day).

ST observed in Iberian pigs is, at least in part, responsible of the inferior growth rate observed in Iberian relative to Landrace especially taking into account the greater ST mass relative to body weight in Iberian pigs. This is in accordance with the low energetic efficiency for protein deposition reported for Iberian pigs (Nieto et al., 2002).

#### 4. Conclusions

Arterio-venous preparations technique is suitable for pigs, allowing to evaluate HP of ST, which could explain differences in digestive and absorptive capacities between native and modern breeds. Under the conditions of this experiment, HP of ST was higher in Landrace than in Iberian pigs. Further investigation is warranted.

#### Conflict of interests

No conflict of interests exists for any of the authors in relation to this paper.

#### References

- Goetsch, A.L., 1998. Splanchnic tissue energy use in ruminants that consume forage-based diets ad libitum. *J. Anim. Sci.* 76, 2737–2746.
- Huntington, G.B., Eisemann, J.H., Whitt, J.M., 1990. Portal blood flow in beef steers: comparison of techniques and relation to hepatic blood flow, cardiac output and oxygen uptake. *J. Anim. Sci.* 68, 1666–1673.
- Katz, M.L., Bergman, E.N., 1969. Simultaneous measurements of hepatic and portal venous blood flow in the sheep and dog. *Am. J. Physiol.* 216, 946–952.
- Lobley, G.E., Connell, A., Lomax, M.A., Brown, D.S., Milne, E., Calder, A.G., Farningham, D.A.H., 1995. Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver; possible consequences for amino acid catabolism. *Br. J. Nutr.* 73, 667–685.
- McLeod, K.R., Bauer, M.L., Harmon, D.L., Reynolds, C.K., Mitchell, G.E., 1997. Effects of exogenous somatostatin and cysteamine on net nutrient flux across the portal-drained viscera and liver of sheep during intraduodenal infusion of starch hydrolysate and casein. *J. Anim. Sci.* 75, 3026–3037.
- Nieto, R., Miranda, A., García, M.A., Aguilera, J.F., 2002. The effect of dietary protein content and feeding level on the rate of protein deposition and energy utilization in growing Iberian pigs, from 15 to 50 kg body weight. *Br. J. Nutr.* 88, 39–49.
- Rérat, A., Vaissade, P., 1993. Relations entre la prise alimentaire et la consommation d'oxygène des organes drainés par la veine porte chez le porc éveillé. *Reprod. Nutr. Dev.* 33, 235–251.
- Rivera-Ferre, M.G., Aguilera, J.F., Nieto, R., 2005. Muscle fractional protein synthesis is higher in Iberian than in Landrace growing pigs fed adequate or lysine-deficient diets. *J. Nutr.* 135, 469–478.
- van der Meulen, J., Bakker, G.C.M., Bakker, J.G.M., de Visser, H., Jongbloed, A.W., Everts, H., 1997. Effect of resistant starch on net portal-drained viscera flux of glucose, volatile fatty acids, urea, and ammonia in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 75, 2697–2704.
- Yen, J.T., Killefer, J., 1987. A method for chronically quantifying net absorption of nutrients and gut metabolites into hepatic portal vein in conscious swine. *J. Anim. Sci.* 64, 923–934.
- Yen, J.T., Nienaber, D.A.H., Pond, W.G., 1989. Oxygen consumption by portal vein-drained organs and by whole animal in conscious growing swine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 190, 2393–2395.
- Yen, J.T., Varel, V.H., Nienaber, J.A., 2004. Metabolic and microbial responses in western crossbred and Meishan growing pigs fed a high-fiber diet. *J. Anim. Sci.* 82, 1740–1755.

---

***Artículo 3***

---





1 Portal-drained viscera heat production in pig

2

3

4

5 **Contribution of portal-drained viscera to Iberian and Landrace gilts heat**

6 **production<sup>1,2</sup>**

7

8 **J. M. Rodríguez-López, M. Lachica, L. González-Valero, and I. Fernández-**

9 **Fígares<sup>3</sup>**

10

11 Department of Animal Nutrition, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Camino del

12 Jueves s/n, 18100 Armilla, Granada, Spain

13

14

15

16

17

18 <sup>1</sup>This research was supported by grant no. AGL 2006-05937/GAN from the Spanish

19 Ministry of Science and Education.

20 <sup>2</sup>J. M. Rodríguez-López and L. González-Valero were awarded a PhD student

21 scholarship by the Ministry of Science and Education of Spain.

22 <sup>3</sup>Corresponding author: ignacio.fernandez-figares@eez.csic.es

23

24 **ABSTRACT:** It has been reported a slower growth rate and greater portal-drained  
25 viscera (PDV) weight of Iberian pigs in comparison to modern breeds. As PDV heat  
26 production (PDVHP) constitute a disproportionate fraction of the total heat production  
27 (THP), we hypothesized that a higher PDVHP in Iberian compared to Landrace pigs  
28 would partially explain their lower growth efficiency. The objective of this work was to  
29 determine the relative contribution of PDVHP to THP in Iberian and Landrace growing  
30 gilts. Twelve gilts, 6 Iberian and 6 Landrace purebred, on average 29 kg BW, were  
31 fitted with three indwelling catheters: in carotid artery (CA), portal vein (PV) and ileal  
32 vein (IV). After surgery recovery, two consecutive trials were carried out. In the first, a  
33 priming dose of para-aminohippuric acid (2% wt/vol) was injected into the IV 45 min  
34 prior to a continuous infusion (0.8 mL/min) for measuring portal vein blood flow (PBF).  
35 The PV and CA blood were sampled simultaneously -5 min, and 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3,  
36 3.5, 4, 5 and 6 h after feeding 25% of total daily ration (145 g CP/kg DM and 14-14.5  
37 MJ ME/kg DM). Immediately after sampling, blood was anaerobically measured for O<sub>2</sub>  
38 concentration and total haemoglobin, and centrifuged for packed cell volume (PCV)  
39 determination and plasma collection. Whole-blood flow and O<sub>2</sub> consumption rates were  
40 based on Fick principle. The assumed energy equivalent for O<sub>2</sub> was 20.4 kJ/L. In the  
41 second trial, gilts were moved to a respirometry chamber and after 18 h of adaptation,  
42 THP was measured by physic principles and from O<sub>2</sub> consumption and CO<sub>2</sub> production,  
43 for 6 h after feeding 25% of total daily ration. Iberian gilts showed lower PBF ( $P <$   
44 0.01), postprandial PDVHP ( $P <$  0.01) and PDVHP/THP ratio, and higher THP ( $P <$   
45 0.05) than Landrace. Energy expenditure of the splanchnic tissues cannot explain the  
46 low energetic efficiency and growth rate of Iberian pigs compared to modern breeds.

47 **Key words:** catheter, energy, heat production, Iberian pigs, portal-drained viscera

48

49

50

## INTRODUCTION

51 The Iberian pig is an autochthonous, obese breed distributed in Portugal and Spain,  
52 the most meaningful Mediterranean native swine type in population and economic  
53 importance (MARM, 2010). The traditional exploitation system of Iberian pigs has  
54 evolved over centuries and is linked to grazing in open range in the Mediterranean  
55 forest (*Quercus suber* and *Quercus ilex rotundifolia*) where acorn and pasture are used  
56 as the only feed source by the pigs during the late fattening phase.

57 It has been reported that the Iberian pig shows lower protein deposition and growth  
58 rate compared to improved pig breeds (Nieto et al., 2002; Barea et al., 2007). However,  
59 the factors that limit these processes remain unknown. The Iberian pigs may have  
60 adapted their digestive physiology to the poor and unstable availability of nutrient  
61 supply of the Mediterranean forest, which could result in a better utilization of some  
62 dietary compounds. The gastrointestinal tract (**GIT**) of Iberian pigs until 30 kg BW had  
63 higher mass contribution in relation to the total BW compared to modern pigs (Rivera-  
64 Ferre et al., 2005; Aguinaga et al., 2010). It is well known that liver and GIT are very  
65 metabolically active tissues in the body (Huntington and Reynolds, 1987). In fact, most  
66 of the body heat production (**HP**) is associated with ATPases and protein synthesis, and  
67 the greatest rates of protein synthesis occur in tissues such as the liver and gut rather  
68 than in muscle (Koong et al., 1982). According to that, Yen et al. (1989) reported that  
69 the digestive tissues drained by the portal vein (digestive tract, pancreas and spleen) in

70 pigs, were responsible for 25% of total O<sub>2</sub> consumption while their masses represented  
71 only 5% of the BW. Similarly, Stoll and Burrin (2006) mentioned that portal-drained  
72 viscera (**PDV**) represented 4 to 6% of BW, but they accounted for 20 to 35% of whole-  
73 body protein turnover and energy expenditure. Unfortunately, data are scarce in the  
74 literature with respect to native breeds. We hypothesized that the PDV heat production  
75 (**PDVHP**) relative to total heat production (**THP**) could partially explain the low energy  
76 efficiency of Iberian compared to modern breeds. The aim of the present work was  
77 therefore to determine the contribution of PDVHP relative to THP using  
78 multicatheterization and calorimetry techniques in Iberian and Landrace growing gilts.

79

80

## MATERIALS AND METHODS

81 All procedures used in these studies were approved by the Bioethical Committee of  
82 the Spanish Council for Scientific Research (CSIC), Spain.

### *Animals and Diet*

84 Twelve gilts, 6 Landrace (Granja El Arenal, Córdoba, Spain) and 6 Iberian (Silvela  
85 strain; Sánchez Romero Carvajal, Jabugo S.A., Sevilla, Spain),  $25.6 \pm 0.9$  and  $25.3 \pm$   
86  $0.4$  kg initial BW, respectively, were utilized. A week before surgery, gilts were  
87 allocated in individual pens in a controlled environment room ( $21 \pm 1.5^\circ\text{C}$ ). *Ad libitum*  
88 access to a standard diet (145 g/kg CP and 14-14.5 MJ ME/kg DM) was offered and  
89 water was freely available. After surgery, pigs were fed 1 kg of meal. Composition and  
90 chemical analysis of diet (Table 1) was performed by standard procedures (AOAC,  
91 2000).

### *Catheterization Procedure*

93 Gilts were fasted 24 h before the installation of chronic indwelling catheters in the  
94 portal vein (**PV**; Tygon, i.d. 1.27 mm, o.d. 2.29 mm; Cole-Parmer, Chicago, IL, USA),  
95 ileal vein (**IV**) and carotid artery (**CA**; Tygon, i.d. 1.02 mm, o.d. 1.78 mm; Cole-  
96 Parmer, Vernon Hills, IL, USA) as described by Yen and Killefer (1987), McLeod et al.  
97 (1997) and van der Meulen et al. (1997) with modifications. Catheters were 60 cm long,  
98 and set up with two glued rings for anchoring and the catheter tip was cut with an angle  
99 of 45°.

100 General anaesthesia was induced using an i.m. combination of Ketamine (15 mg/kg  
101 BW; Imalgene 1000, Merial, Barcelona, Spain):Azaperone (2 mg/kg BW; Stresnil,  
102 Steve, Barcelona, Spain) and maintained throughout the surgical procedures by  
103 administering halothane and O<sub>2</sub> (22-44 mL/kg BW and min) in a closed circuit through  
104 a face mask. The animal was placed in left lateral recumbency and the visceral cavity  
105 was accessed through a paracostal incision on the right side. Liver left lateral lobe was  
106 identified and portal vein was located in the visceral surface. A small puncture was  
107 made in the portal vein with a needle and using a wire guide the PV catheter was  
108 inserted with the tip toward the initiation of the PV ramification into the liver. Through  
109 the same incision a branch of the IV was isolated from the surrounding connective  
110 tissue and the IV catheter was inserted cranially. The PV and IV catheters were  
111 exteriorized together near the lateral process of the vertebra located between the kidney  
112 and the caudal site of the diaphragm. Gilts were moved to a dorsal recumbent position  
113 and a second incision was done, CA was located and catheter inserted toward the aorta  
114 arch. The catheter was exteriorized down and caudal from the ear. Catheters were filled  
115 up with sterile heparinised saline (250 IU/mL) and closed. Surgery was performed on

116 two pigs per day. After surgery, pigs were housed in individual metabolic cages,  
117 administered with Buscapine (Buscapina Compositum; Boehringer Ingelheim Spain  
118 S.A., 251 Barcelona, Spain) as analgesic and anti-spasm agent, and a broad spectrum  
119 antibiotic (Duphaphen Strep; Fort Dodge Vet. S.A., Gerona, Spain) for five days. Feed  
120 was offered at 30, 60 and 100% of the daily allowance in days 1, 2 and 3, respectively,  
121 with free access to water. After surgery, all the gilts showed normal behaviour and  
122 appetite.

### 123 *Experimental Design and Analyses*

124 First trial began when pigs were completely recovered from surgery. No more than  
125 two pigs were used each day for the measurements. A 15 mL pulse dose of para-  
126 aminohippuric acid (**PAH**, 2% wt/vol; Yen and Killefer, 1987) into IV 45 min prior the  
127 first blood sampling was done, following by a continuous infusion of 0.8 mL/min PAH  
128 using a syringe pump (Model 33, Harvard Apparatus Inc., Holliston, MA, USA). Two  
129 blood samples using 2 and 4.5 mL (Blood Gas-Monovette and Monovette VetMed;  
130 Sarstedt, Nümbrecht, Germany) heparinized tubes were taken anaerobically,  
131 simultaneously from CA and PV -5 min, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 and 6 h after  
132 feeding 25% of total daily ration. The O<sub>2</sub> and total haemoglobin was measured  
133 immediately with an hemoximeter (OSM 3 Hemoximeter; Radiometer Corporation,  
134 Copenhagen, Denmark). Plasma was obtained by centrifugation (4°C and 3,200 rpm for  
135 30 min) and stored at -20°C until PAH analysis using the gravimetric approach (Lobley  
136 et al., 1995). Packed cell volume (**PCV**) was determined using a microcentrifuge  
137 (11,000 rpm, 5 min; Biocen, Orto-Alresa, Spain).

138 Portal vein blood flow (**PBF**) was determined by the indicator dilution method using  
139 PAH as described by Katz and Bergman (1969), using portal vein PCV and plasma  
140 PAH concentrations.

141 Blood O<sub>2</sub> concentration was calculated as described by Huntington et al. (1990).  
142 The PBF and PDV O<sub>2</sub> consumption rate were calculated according to the Fick principle  
143 (Zierler, 1961) of arterio-venous concentration difference and flow rate. Finally,  
144 PDVHP was calculated by multiplying PBF by difference in O<sub>2</sub> concentration between  
145 PV and CA and assuming 20.4 kJ/L as energy equivalent for O<sub>2</sub> consumption (R erat and  
146 Vaissade, 1993).

147 In the second trial, immediately after last blood sampling in first trial, metabolic  
148 cages were moved into respirometry chambers and gilts received the remaining 75% of  
149 the ration. Next day at the same hour than in fist trial, gilts were offered 25% of the  
150 daily ration and HP measured during 6 h considering time 0 the moment that gilts  
151 consumed the offered ration. The THP was determined by indirect calorimetry using  
152 two confinement-type (Lachica et al., 1995) respirometry chambers and calculated from  
153 CO<sub>2</sub> production and O<sub>2</sub> consumption (Brouwer, 1965). The RQ was obtained from the  
154 ratio CO<sub>2</sub> produced/O<sub>2</sub> consumed.

### 155 *Statistical Analysis*

156 Repeated measures analyses were carried out for total haemoglobin, PCV and  
157 postprandial PBF, arterio-portal O<sub>2</sub> concentration difference, PDV O<sub>2</sub> consumption, and  
158 PDVHP, using the mixed procedure of SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). The model  
159 included breed, time, and breed × time. Blood sampling time was considered as the time  
160 variable. Animal was a random effect and gilt was used as the experimental unit.

161 The GLM procedure of SAS was performed to analyse THP, RQ and preprandial  
162 PBF, arterio-portal O<sub>2</sub> concentration difference, PDV O<sub>2</sub> consumption, and PDVHP,  
163 where breed was considered the main effect and gilt was the experimental unit.  
164 Differences between means for the main effects were established using the HSD  
165 procedure of Tukey.

166

167

## RESULTS

### 168 *Blood Parameters*

169 Preprandial and postprandial blood parameters from Iberian and Landrace gilts are  
170 summarized in Table 2. No effect of time of sampling was found for PCV, total  
171 haemoglobin, arterio-portal O<sub>2</sub> concentration difference, and blood O<sub>2</sub> concentration.  
172 Total haemoglobin was higher (12%;  $P < 0.0001$ ) in Iberian than in Landrace gilts as  
173 well as the preprandial ( $P = 0.0006$ ) and postprandial ( $P = 0.0057$ ; Figure 1) arterio-  
174 portal O<sub>2</sub> concentration differences. Arterial ( $P < 0.05$ ) and portal ( $P < 0.05$ ) blood O<sub>2</sub>  
175 concentration was greater in Iberian than in Landrace pigs. Preprandial and postprandial  
176 PBF was higher (47%,  $P = 0.009$ ; and 52%,  $P < 0.0001$ , respectively) in Landrace than  
177 in Iberian pigs. In addition, PBF was influenced by time ( $P < 0.05$ ; Figure 1). The  
178 maximum postprandial PBF peak for Landrace and Iberian was 1 and 0.5 h after diet  
179 ingestion, respectively, reaching a maximum value of 1,367 mL/min for Landrace and  
180 899 mL/min for Iberian gilts, and decreasing thereafter until basal levels.

### 181 *PDV and Total Heat Production*

182 No differences for preprandial PDV O<sub>2</sub> consumption and PDVHP ( $P > 0.05$ ) were  
183 found between breeds. However, when averaged over the 6-h postprandial period, the



184 O<sub>2</sub> consumption by the PDV was 26% lower ( $P < 0.001$ ) in Iberian than in Landrace  
185 gilts and, therefore, the postprandial PDVHP was also lower (20%;  $P = 0.0016$ ). A time  
186 effect was detected for PDV O<sub>2</sub> consumption and PDVHP ( $P < 0.05$ ) and the evolution  
187 over time for both breeds are showed in Figure 1. Maximum peak of both, O<sub>2</sub>  
188 consumption and PDVHP was at 0.5 h after meal (1.7 mmol/min and 92 kJ/kg<sup>0.75</sup> per  
189 day, respectively) for Iberian and 1.5 h (2.2 mmol/min and 116 kJ/kg<sup>0.75</sup> per day,  
190 respectively) for Landrace gilts.

191 On the contrary, postprandial THP was higher (22%;  $P < 0.05$ ) in Iberian than in  
192 Landrace gilts. The contribution of PDVHP to THP was higher in Landrace compared  
193 to Iberian gilts (12 and 8%, respectively), as well as the RQ value ( $P < 0.01$ ).

194 No breed  $\times$  time interaction ( $P > 0.05$ ) occurred for any of the parameters evaluated.

195

196

## DISCUSSION

197 Comparing two breeds with different growth rate, feed intake capacity, nutrient  
198 requirements, a lean and an obese pig, you have to choose whether your experimental  
199 conditions suit better to one or the other. As a matter of fact, we fed the animals with a  
200 diet which protein content was low for Landrace and optimal for Iberian pig  
201 requirements (Nieto et al., 2002). Also, although the same amount of feed was offered  
202 to Iberian and Landrace gilts, the latter were probably more restricted, as it has been  
203 described that feed intake capacity in Iberian is greater than in modern breeds (Nieto et  
204 al., 2001; BSAS, 2003). The HP in the whole animal and in splanchnic tissues is usually  
205 measured over relatively a short period. As feed intake has a great impact on HP, we  
206 decided that it was better to feed the animal an amount of feed proportional to the

207 measurement period if this value was to be extrapolated to 24 h. For that reason 25% of  
208 the daily ration was offered to the gilts during the 6 h measurement period.

209 Preprandial and postprandial PBF were lower in Iberian than in Landrace gilts.  
210 Similar results were reported when Iberian and Landrace gilts were fed diets with higher  
211 protein content than in the present experiment (Rodríguez-López et al., 2010).  
212 Preprandial PBF values for both Iberian and Landrace gilts were in the lower range of  
213 data in the literature (Yen and Killefer, 1987; Yen et al., 2004; Hooda et al., 2009).

214 Postprandial PBF in Iberian and Landrace pigs in our experiment were lower than  
215 those reported for modern pigs of greater BW (37 to 63 kg; Rérat and Vaissade, 1993;  
216 Yen and Killefer, 1987; Yen et al., 1991a; van der Meulen et al., 1997; Kristensen et al.,  
217 2009). The PBF increases with BW in pigs (Yen and Killefer, 1987), so it is reasonable  
218 that our pigs had diminished flow compared to heavier pigs in the literature.  
219 Nevertheless, Landrace PBF values were similar to those found for growing crossbred  
220 pigs in the range of 23-39 kg BW (Prior and Gross, 1995; Ten have et al., 1996; Yen et  
221 al., 2004), although Iberian PBF values remained low. Ten Have et al. (1996) pointed  
222 out that it is important that the experimental conditions are as constant as possible when  
223 measuring PBF. Furthermore, postural effects may impact blood flow and, therefore,  
224 care is needed when comparing data in the literature (Simoes Nunes and Malmlof,  
225 1992; Ellis et al., 1995). Differences observed in the literature could be due to the  
226 experimental conditions or to the level of feeding. Postprandial hyperemia (Fara, 1984)  
227 in our pigs was probably diminished due to the low level of feeding imposed. Some of  
228 the mechanisms involved in postprandial hyperaemia of digestion are a local reflex to  
229 the presence of luminal contents, the release of vasoactive intestinal hormones and the

230 increase in gut metabolism (Granger et al., 1980; Jensen et al., 1995). We have supplied  
231 a small quantity of meal (<10 g diet/kg BW) of low CP content (14.5%) which could  
232 partially explain the lower PBF since a relation between level of feed intake and blood  
233 flow exists (Lomax and Baird, 1983; Huntington, 1984; Lapierre et al., 2000). Landrace  
234 and Iberian gilts fed diets with similar feed intake and higher CP content (16.0%) had  
235 greater PBF than in the present study (Rodríguez-López et al., 2010). Dietary CP may  
236 explain the diminished PBF in the present work compared to Rodríguez-López et al.  
237 (2010).

238 Contrary to our results, Yen et al. (2004) reported greater PBF, weight of PDV as a  
239 percentage of BW, and O<sub>2</sub> consumption by the PDV of Meishan compared to Duroc ×  
240 White composite crossbred pigs fed high fibre diets, with no differences in THP; and  
241 pointed out that the PDV mass is probably not the only contributing factor to PDV O<sub>2</sub>  
242 consumption. In our study, PDV pre and postprandial O<sub>2</sub> consumption were lower in  
243 Iberian compared to Landrace pigs. Rivera-Ferre et al. (2005) observed heavier weight  
244 (as a proportion of BW) of stomach, large intestine, total GIT and liver of Iberian  
245 compared to Landrace gilts of approximately 25 kg BW whereas Barea et al. (2011) did  
246 not find differences in total GIT in heavier Iberian and Landrace × Large White pigs.  
247 Nevertheless, smaller muscular layers in duodenum and ileum were found in Iberian  
248 compared to Landrace × Large White (Barea et al., 2011). Muscle layers in the small  
249 intestine of pigs have been related to a higher resistance of digesta passage (Redlich et  
250 al., 1997) and hence digesta transit through the small intestine (Laplace et al., 1994)  
251 which would enhance tissue energy expenditure. This fact and the lower ileal *villi* length  
252 and *villi*-to-crypt ratio in Iberian compared to Landrace × Large White pigs (Barea et

253 al., 2011) would be in accordance with decreased postprandial O<sub>2</sub> consumption by the  
254 PDV of Iberian compared to Landrace gilts.

255 The higher haemoglobin concentration and therefore O<sub>2</sub> concentration measured in  
256 Iberian may partially compensate the lower preprandial PBF compared to Landrace  
257 gilts. However, postprandial O<sub>2</sub> consumption of PDV was lower in Iberian than  
258 Landrace pigs. Arterio-portal O<sub>2</sub> concentration differences in Iberian were higher than  
259 in Landrace gilts and these values were lower than values reported in the literature (Yen  
260 et al., 1989; Yen and Nienaber, 1992, 1993; Yen et al., 2004) probably because of the  
261 low level of intake.

262 The Iberian pig is conformed physiologically for moving and grazing through extent  
263 woodlands, so it is well adapted to physical exercise, which could explain the higher  
264 haemoglobin level compared to Landrace in the present study. Greater haemoglobin  
265 content would increase efficiency of O<sub>2</sub> utilization and, consequently, reduce PBF.  
266 Similarly, Rodríguez-López et al. (2010) reported lower PDV O<sub>2</sub> consumption in  
267 Iberian than in Landrace pigs (1.5 and 1.9 mmol/min, respectively); the higher dietary  
268 CP content in their experiment might explain increased PDV O<sub>2</sub> consumption than in  
269 the present work. In line with this, Jorgensen and Zhao (1997) reported increased  
270 duodenal mucosa O<sub>2</sub> consumption as the level of dietary protein increased in rats.

271 There is lack of information in the literature about differential THP in lean and  
272 obese pigs. Similar THP was found when Meishan were compared to Meishan x White  
273 and Duroc x White composite crossbred pigs (Hansen et al., 1997; Yen et al., 1991b,  
274 2004). On the other hand, reduced fasting HP was found in Meishan compared to Large  
275 White and Pietrain barrows (van Milgen et al., 1998). The THP both in Iberian and

276 Landrace gilts were within the range of published data although, when diets present  
277 dissimilar ME content or intake caution is required. Indeed, the higher the level of  
278 intake the greater the THP and fasting HP in lean and fat growing pigs (Koong et al.,  
279 1983; de Lange et al., 2006). Moreover, lower THP was found when pigs were fed low-  
280 protein or AA-supplemented low-protein diets compared to pigs fed diets with higher  
281 protein content (Kerr et al., 2003).

282 The PDV contribution to THP (8.0 for Iberian and 12.2% for Landrace) was low  
283 compared with results obtained by Yen et al. (2004) with Duroc × White composite and  
284 Meishan pigs (30 and 48%, respectively) probably as a result of the lower energy intake  
285 in our experiment where 25% of daily ration was offered to monitor PDVHP and THP  
286 for 6 hour. When energy intake is low, as reflected by the RQ obtained in our case (0.7-  
287 0.8), fasting HP (NEm) proportionally constitutes a greater fraction of PDVHP  
288 compared to THP (NEm + NEg + associated HP). Consequently, highly restricted gilts  
289 in this work presented lower PDVHP/THP ratio than previous published data (Yen et  
290 al., 2004). However, similar PDVHP/THP were obtained by Rodríguez-López et al.  
291 (2010) in gilts restricted to the same extent and fed 16% CP diets (0.095 and 0.134 for  
292 Iberian and Landrace, respectively; unpublished THP data).

293 It is interesting that Iberian had lower PDVHP and higher THP compared to  
294 Landrace pigs. Protein is less efficient from an energetic point of view than lipid  
295 synthesis (van Milgen and Noblet, 2003). In fact, HP associated with protein deposition  
296 in nonruminants is approximately twice that of fat accretion (see review by Yen et al.,  
297 1991b). The high muscle protein turnover and degradation rate of Iberian pigs compared  
298 to Landrace (Rivera-Ferre et al., 2005) would imply a high energetic cost reflected in

299 THP and might explain their low partial efficiency of ME for protein deposition (Nieto  
300 et al., 2002). Also, greater THP of Iberian with respect to Landrace pigs could be partly  
301 explained by their higher level of alertness since there is evidence of a common origin  
302 for Iberian and Spanish wild boar (Alves et al., 2003). It is known the relationship  
303 between the level of wildness and alertness (Price, 1984, 1999) and the greater energy  
304 expenditure (THP) coupled with this fact (Robert et al., 1987; Gustafsson et al., 1999.).  
305 The lower RQ of Iberian gilts compared to Landrace in the present experiment is in  
306 accordance with their high muscle protein turnover (Rivera-Ferre et al., 2005) and could  
307 indicate a preferential oxidation of AA. It is also possible that the high alertness level of  
308 Iberian pigs induce the oxidation of lipids what would decrease RQ. Although RQ is a  
309 good indicator of normal animal metabolism (Kleiber, 1961) it must be taken with  
310 caution.

311 In conclusion, the low energetic efficiency of Iberian pigs compared to modern  
312 breeds cannot be explained by increased PDVHP. The high THP observed in Iberian  
313 breed may help to understand differences in efficiency of energy utilization and growth  
314 rate between native and modern breeds. Further investigation is warranted.

315

316

#### **LITERATURE CITED**

317 Aguinaga, M. A., J. A. Conde-Aguilera, V. Ruiz-Guerrero, A. I. Navarro, J. F. Aguilera,  
318 and R. Nieto. 2010. Incorporation of lysine from microbial origin into tissue protein  
319 of Iberian and Landrace×Large White piglets. *Livest. Sci.* 133:104-106.

320 Alves, E., C. Ovilo, M. C. Rodriguez, and L. Silio. 2003. Mitochondrial DNA sequence  
321 variation and phylogenetic relationships among Iberian pigs and other domestic and  
322 wild pig populations. *Anim. Genet.* 34:319-324.

323 AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th Ed. Association of Official Analytical  
324 Chemists. Arlington, VA, USA.

325 Barea, R., R. Nieto, and J. F. Aguilera. 2007. Effects of the dietary protein content and  
326 the feeding level on protein and energy metabolism in Iberian pigs growing from  
327 50 to 100 kg body weight. *Animal* 1:357-365.

328 Barea, R., R. Nieto, F. Vitari, C. Domeneghini, and J. F. Aguilera. 2011. Effects of pig  
329 genotype (Iberian v. Landrace3Large White) on nutrient digestibility, relative organ  
330 weight and small intestine structure at two stages of growth. *Animal* 5:547-557.

331 Brouwer, E. 1965. Report of subcommittee on constraints and factors. Pages 441-445 in  
332 Energy Metabolism. European Assoc. Anim. Prod. Publ. No. 11. (Ed.) K. L.  
333 Blaxter, Academic Press, London.

334 BSAS. 2003. Nutrient requirement standards for pigs. (Ed.) Whittemore, C. T.,  
335 Hazzledine, M. J., Close, W. H., British Society of Animal Science. Penicuik,  
336 United Kingdom.

337 de Lange, K., J. van Milgen, J. Noblet, S. Dubois, and S. Birkett. 2006. Previous  
338 feeding level influences plateau heat production following a 24 h fast in growing  
339 pigs. *Br. J. Nutr.* 95:1082-1087.

340 Ellis, P. R., F. G. Roberts, A. G. Low, and L. M. Morgan. 1995. The effect of high  
341 molecular-weight guar gum on net apparent glucose absorption and net apparent

342 insulin and gastric inhibitory polypeptide production in growing pig: Relationship to  
343 rheological changes in jejunal digesta. *Br. J. Nutr.* 74:539-556.

344 Fara, J. W. 1984. Postprandial mesenteric hyperemia. (Ed.) A. P. Shepherd and D. N.  
345 Granger. *Physiology of the Intestinal Circulation*. Pp 99-106. Raven Press, New  
346 York.

347 Granger, H. J., P. D. I. Richardson, P. R. Kvietys, and N. A. Mortillaro. 1980. Intestinal  
348 blood flow. *Gastroenterology* 78:837-863.

349 Gustafsson, M., P. Jensen, F. H. de Jonge, and T. Schuurman. 1999. Domestication  
350 effects on foraging strategies in pigs (*Sus scrofa*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 62:305-  
351 317.

352 Hansen, J. A., J. T. Yen, J. L. Nelssen, J. A. Nienaber, R. D. Goodband, and T. L.  
353 Wheeler. 1997. Effects of somatotropin and salbutamol in three genotypes of  
354 finishing barrows: growth, carcass, and calorimeter criteria. *J. Anim. Sci.* 75:1798-  
355 1809.

356 Hooda, S., J. J. Matte, C. W. Wilkinson, and R. T. Zijlstra. 2009. Technical note: An  
357 improved surgical model for the long-term studies of kinetics and quantification of  
358 nutrient absorption in swine. *J. Anim. Sci.* 87:2013-2019.

359 Huntington, G. B., J. H. Eisemann, and J. M. Whitt. 1990. Portal blood flow in beef  
360 steers: comparison of techniques and relation to hepatic blood flow, cardiac output  
361 and oxygen uptake. *J. Anim. Sci.* 68:1666-1673.

362 Huntington, G. B., and C. K. Reynolds. 1987. Oxygen consumption and metabolite flux  
363 of bovine portal-drained viscera and liver. *J. Nutr.* 117:1167-1173.



364 Huntington, G. 1984. Relationship of portal blood flow to metabolizable energy intake  
365 of cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 64:16-17.

366 Jensen, M. D., C. M. Johnson, P. E. Cryer, and M. J. Murray. 1995. Thermogenesis  
367 after a mixed meal: role of leg and splanchnic tissues in men and women. *Am. J.*  
368 *Physiol.* 268:E433-E438.

369 Jorgensen, H., and X. Q. Zhao. 1997. Influence of environmental temperature on *in vivo*  
370 energy expenditure *in vitro* ouabain-sensitive respiration in duodenal mucosa and  
371 liver in rats fed different levels of dietary fiber or protein. *Z. Ernährungswiss.*  
372 36:278-284.

373 Katz, M. L., and E. N. Bergman. 1969. Simultaneous measurements of hepatic and  
374 portal venous blood flow in the sheep and dog. *Am. J. Physiol.* 216:946-952.

375 Kerr, B. J., J. T. Yen, J. A. Nienaber, and R. A. Easter. 2003. Influences of dietary  
376 protein level, amino acid supplementation and environmental temperature on  
377 performance, body composition, organ weights and total heat production of growing  
378 pigs. *J. Anim. Sci.* 81:1998-2007.

379 Kleiber, M. 1961. *The fire of life.* (Ed.) John Wiley and Sons, Inc., New York.

380 Koong, L. J., J. A. Nienaber, and H. J. Mersmann. 1983. Effects of plane of nutrition on  
381 organ size and fasting heat production in genetically obese and lean pigs. *J. Nutr.*  
382 113:1626-1631.

383 Koong, L. J., J. A. Nienaber, J. C. Pekas, and J. T. Yen. 1982. Effects of plane of  
384 nutrition on organ size and fasting heat production in pigs. *J. Nutr.* 112:1638-1642.

385 Kristensen, N. B., J. V. Nørgaard, S. Wamberg, M. Engbaek, J. A. Fernández, H. D.  
386 Zacho, and H. D. Poulsen. 2009. Absorption and metabolism of benzoic acid in  
387 growing pigs. *J. Anim. Sci.* 87:2815-2822.

388 Lachica, M., J. F. Aguilera, and C. Prieto. 1995. A confinement respiration chamber for  
389 short gaseous exchange measurements. *Arch. Anim. Nutr.* 48:329-336.

390 Lapierre, H., J. F. Bernier, P. Dubreuil, C. K. Reynolds, C. Farmer, D. R. Ouellet, and  
391 G. E. Lobley. 2000. The effect of feed intake level on splanchnic metabolism in  
392 growing beef steers. *J. Anim. Sci.* 78:1084-1099.

393 Laplace J. P., W. B. Souffrant, U. Hennig, E. Chabeauti, and C. Fevrier. 1994.  
394 Measurement of precaecal dietary protein and plant cell wall digestion in pigs;  
395 comparison of four surgical procedures for ileorectal anastomosis. *Livest. Prod. Sci.*  
396 40:313-328.

397 Lobley, G. E., A. Connell, M. A. Lomax, D. S. Brown, E. Milne, A. G. Calder, and D.  
398 A. H. Farningham. 1995. Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver;  
399 possible consequences for amino acid catabolism. *Br. J. Nutr.* 73:667-685.

400 Lomax, M. A., and G. D. Baird. 1983. Blood flow and nutrient exchange across the  
401 liver and gut of the dairy cow. Effects of lactation and fasting. *Br. J. Nutr.* 49:481-  
402 496.

403 MARM. 2010. Spanish Ministry of Environment and Rural and Marine Affairs home  
404 page. Accessed August 25, 2011. <http://www.marm.es/>.

405 McLeod, K. R., M. L. Bauer, D. L. Harmon, C. K. Reynolds, and G. E. Mitchell. 1997.  
406 Effects of exogenous somatostatin and cysteamine on net nutrient flux across the

407 portal-drained viscera and liver of sheep during intraduodenal infusion of starch  
408 hydrolysate and casein. *J. Anim. Sci.* 75:3026-3037.

409 Nieto, R., L. Lara, M. A. García, F. Gómez, M. Zalvide, M. Cruz, J. M. Pariente, A.  
410 Moreno, and J. F. Aguilera. 2001. Evaluation of an integrated feeding system in the  
411 Iberian pig. Study of food consumption and productive parameters. *Sólo Cerdo*  
412 *Ibérico* 6:57-69.

413 Nieto, R., A. Miranda, M. A. García, and J. F. Aguilera. 2002. The effect of dietary  
414 protein content and feeding level on the rate of protein deposition and energy  
415 utilization in growing Iberian pigs from 15 to 50 kg body weight. *Br. J. Nutr.* 88:39-  
416 49.

417 Price, E. O. 1984. Behavioral aspects of animal domestication. *Q. Rev. Biol.* 59:1-32.

418 Price, E. O. 1999. Behavioral development in animals undergoing domestication. *Appl.*  
419 *Anim. Behav. Sci.* 65:245-271.

420 Prior, R. L., and K. L. Gross. 1995. Dietary arginine deficiency and gut ammonium  
421 infusion alter flux of urea cycle intermediates across the portal-drained viscera of  
422 pigs. *J. Nutr.* 125:251-263.

423 Redlich, J., W. B. Souffrant, J. P. Laplace, U. Hennig, R. Berg, and J. M. V. M.  
424 Mouwen. 1997. Morphometry of the small intestine in pigs with ileo-rectal  
425 anastomosis. *Can. J. Vet. Res.* 61:21-27.

426 Rérat, A., and P. Vaissade. 1993. Relations entre la prise alimentaire et la  
427 consommation d'oxygène des organes drainés par la veine porte chez le porc éveillé.  
428 *Reprod. Nutr. Dev.* 33:235-251.

429 Rivera-Ferre, M. G., J. F. Aguilera, and R. Nieto. 2005. Muscle fractional protein  
430 synthesis is higher in Iberian than in Landrace growing pigs fed adequate or lysine-  
431 deficient diets. *J. Nutr.* 135:469-478.

432 Robert, S., Dancosse, J., and Dallaire, A. 1987. Some observations on the role of  
433 environment and genetics in behaviour of wild and domestic forms of *Sus scrofa*  
434 (European Wild Boars and Domestic Pigs). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 17:253-262.

435 Rodríguez-López, J. M., M. Lachica, L. González-Valero, and I. Fernández-Fígares.  
436 2010. Energy expenditure of splanchnic tissues in Iberian and Landrace growing  
437 gilts. *Livest. Sci.* 133:61-63.

438 Simoes Nunes, C., and K. Malmlof. 1992. Effects of guar gum and cellulose on glucose  
439 absorption, hormonal release and hepatic metabolism in the pig. *Br. J. Nutr.*  
440 68:693-700.

441 Stoll, B., and D. G. Burrin. 2006. Measuring splanchnic amino acid metabolism in vivo  
442 using stable isotopic tracers. *J. Anim. Sci.* 84:60-72.

443 Ten have, G. A. M., M. C. F. Bost, J. C. A. W. Suyk-Wierts, A. E. J. M. van den  
444 Bogaard, and N. E. P. Deutz. 1996. Simultaneous measurement of metabolic flux in  
445 portally-drained viscera, liver, spleen, kidney and hindquarter in the conscious pig.  
446 *Lab. Animals* 30:347-358.

447 van der Meulen, J., G. C. M. Bakker, J. G. M. Bakker, H. de Visser, A. W. Jongbloed,  
448 and H. Everts. 1997. Effect of resistant starch on net portal-drained viscera flux of  
449 glucose, volatile fatty acids, urea, and ammonia in growing pigs. *J. Anim Sci.*  
450 75:2697-2704.

451 van Milgen, J., J. F. Bernier, Y. Lecozler, S. Dubois, and J. Noblet. 1998. Major  
452 determinants of fasting heat production and energetic cost of activity in growing  
453 pigs of different body weight and breed/castration combination. *Br. J. Nutr.* 79:509-  
454 517.

455 van Milgen, J., and J. Noblet. 2003. Partitioning of energy intake to heat, protein, and  
456 fat in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 81:E86-E93.

457 Yen, J. T., and J. Killefer. 1987. A method for chronically quantifying net absorption of  
458 nutrients and gut metabolites into hepatic portal vein in conscious swine. *J. Anim.*  
459 *Sci.* 64:923-934.

460 Yen, J. T., J. A. Nienaber, D. A. Hill, and W. G. Pond. 1989. Oxygen consumption by  
461 portal vein-drained organs and by whole animal in conscious growing swine. *Proc.*  
462 *Soc. Exp. Biol. Med.* 190:393-398.

463 Yen, J. T., J. A. Nienaber, D. A. Hill, and W. G. Pond. 1991a. Potential contribution of  
464 absorbed volatile fatty acids to whole-animal energy requirement in conscious  
465 swine. *J. Anim. Sci.* 69:2001-2012.

466 Yen, J. T., J. A. Nienaber, J. Klindt, and J. D. Crouse. 1991b. Effect of ractopamine on  
467 growth, carcass traits, and fasting heat production of U.S. contemporary crossbred  
468 and Chinese Meishan pure- and crossbred pigs. *J. Anim. Sci.* 69:4810-4822.

469 Yen, J. T., and J. A. Nienaber. 1992. Influence of carbadox on fasting oxygen  
470 consumption by portal vein-drained organs and by the whole animal in growing  
471 pigs. *J. Anim. Sci.* 70:478-483.

472 Yen, J. T., and J. A. Nienaber. 1993. Effects of high-copper feeding on portal ammonia  
473 absorption and on oxygen consumption by portal vein-drained organs and by the  
474 whole animal in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 71:2157-2163.

475 Yen, J. T., V. H. Varel, and J. A. Nienaber. 2004. Metabolic and microbial responses in  
476 western crossbred and Meishan growing pigs fed a high-fiber diet. *J. Anim. Sci.*  
477 82:1740-1755.

478 Zierler, K. L. 1961. Theory of the use of arteriovenous concentration differences for  
479 measuring metabolism in steady and non-steady states. *J. Clin. Invest.* 40:2111-  
480 2125.

481

**Table 1.** Composition (g/kg) and chemical analysis (DM basis) of diet

Item	Amount
Barley grain	866
Soybean meal	96.2
Fish meal	4
Calcium carbonate	8
Calcium acid phosphate	12
Sodium chloride	5
L-Lysine	4.32
Threonine	1.05
Methionine	0.47
Vitamin-mineral premix <sup>1</sup>	3
Chemical analysis	
DM, g/kg	870.12
CP, g/kg	145.43
Ash, g/kg	58.41
GE, MJ/kg	17.83
ME, <sup>2</sup> MJ/kg	14-14.5

<sup>1</sup>Containing per kg of basal diet: 1,666,667 IU of vitamin A; 0.67 g of vitamin B<sub>1</sub>; 0.0067 g of vitamin B<sub>12</sub>; 2.10 g of pantothenic acid; 333,333 IU of vitamin D<sub>3</sub>; 1.33 g of vitamin B<sub>2</sub>; 7.33 g of nicotinic acid; 21.67 of Mn (MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O); 32.50 g of Zn (ZnO); 72.83 g of Fe (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O); 51 g of Cu (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O); 0.225 g of I (KI); 0.23 g of Co (CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O).

<sup>2</sup>ME estimated from GE.

483

484

485

**Table 2.** Blood parameters, heat production, and RQ of Iberian and Landrace gilts (n = 6) fed 25% of their daily ration

	Breed		SEM	P-value	
	Iberian	Landrace		Time	Time × Breed
PCV, <sup>1</sup> %	28.8 <sup>a</sup>	30.5 <sup>b</sup>	0.25		
Haemoglobin, mmol/L	6.46 <sup>a</sup>	5.79 <sup>b</sup>	0.038		
PBF, <sup>2</sup> mL/min					
Preprandial <sup>3</sup>	654 <sup>a</sup>	965 <sup>b</sup>	66		
Postprandial	746 <sup>a</sup>	1,133 <sup>b</sup>	16	*	
Blood O <sub>2</sub> concentration, mmol/L					
Arterial	6.14 <sup>a</sup>	5.50 <sup>b</sup>	0.054		
Portal	4.34 <sup>a</sup>	3.93 <sup>b</sup>	0.054		
C <sub>CA</sub> O <sub>2</sub> - C <sub>PV</sub> O <sub>2</sub> , <sup>4</sup> mmol/L					
Preprandial <sup>3</sup>	1.77 <sup>a</sup>	1.26 <sup>b</sup>	0.091		
Postprandial	1.81 <sup>a</sup>	1.57 <sup>b</sup>	0.034		
PDV O <sub>2</sub> consumption, <sup>5</sup> mmol/min					
Preprandial <sup>3</sup>	1.05	1.09	0.059		
Postprandial	1.35 <sup>a</sup>	1.82 <sup>b</sup>	0.045	*	
PDVHP, <sup>6</sup> kJ/kg <sup>0.75</sup> per day					
Preprandial <sup>3</sup>	64.4	61.9	3.94		
Postprandial	74.2 <sup>a</sup>	93.2 <sup>b</sup>	2.22	**	
THP, <sup>7</sup> kJ/kg <sup>0.75</sup> per day	925 <sup>a</sup>	762 <sup>b</sup>	29		
RQ	0.74 <sup>a</sup>	0.81 <sup>b</sup>	0.009		

<sup>1</sup>PCV = packed cell volume.

<sup>2</sup>PBF = portal vein blood flow.

<sup>3</sup>Values are mean ± SE of one preprandial measurement.

<sup>4</sup>O<sub>2</sub> concentration difference between arterial and portal vein blood.

<sup>5</sup>PDV = portal-drained viscera.

<sup>6</sup>PDVHP = portal-drained viscera heat production.

<sup>7</sup>THP = total heat production.

<sup>a,b</sup>Means values within a row with unlike superscript letter were significantly different ( $P < 0.05$ ).

\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .



489

490

491       **Figure 1.** Postprandial arterio-portal O<sub>2</sub> concentration difference, portal vein blood  
492 flow (PBF), portal-drained viscera (PDV) O<sub>2</sub> consumption, and portal-drained viscera  
493 heat production (PDVHP) of Iberian and Landrace growing gilts fed 25% of their daily  
494 ration. Values are means ± SE for 6 pigs. B = breed, T = time and B × T = breed × time  
495 interaction.

496

497

498

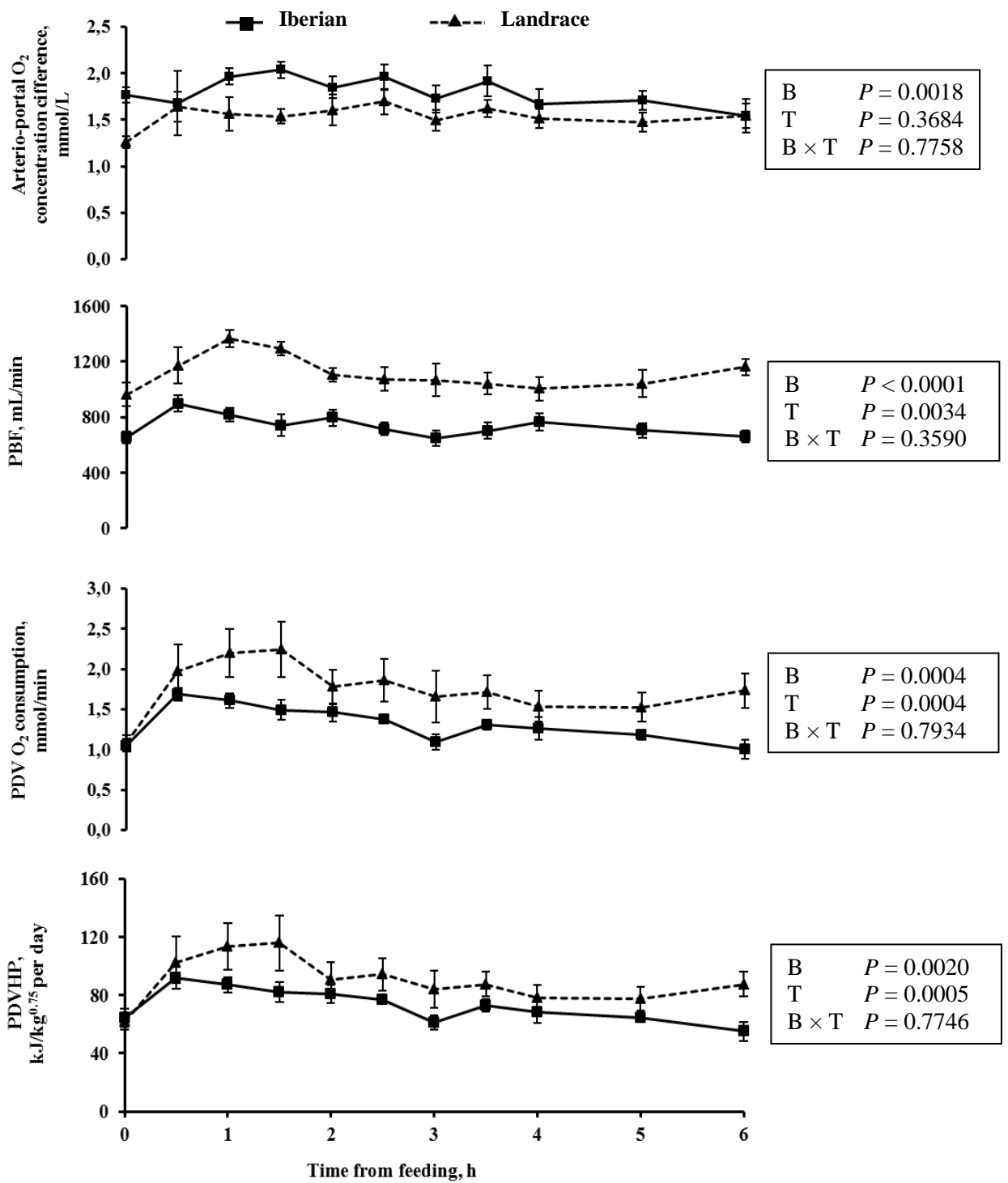


Figure 1