

Efecto de los aceites ácidos sobre la morfometría de la mucosa intestinal y la dinámica de las mucinas en pollos de carne

B. JIMENEZ-MOYA^{1*}, M.D. SOLER², A.C. BARROETA¹, C. GARCÉS-NARRO², R. SALA¹

¹Dpto. Ciencia Animal y de los Alimentos, UAB, 08193 Bellaterra, España; ²Dpto. Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. CEU-UCH, 46115 Alfara del Patriarca, España.

*Autor corresponsal: beatriz.jimenez@uab.cat

La composición de la dieta puede afectar a la integridad de la mucosa intestinal, pudiendo influir tanto en la absorción de los nutrientes como en la composición de la mucina secretada por las células caliciformes (CC), que constituye la primera barrera defensiva entre la luz intestinal y los enterocitos. Los aceites ácidos, subproductos de la refinación de los aceites de consumo humano, presentan un elevado grado de acidez (40 - 90 % ácidos grasos libres; AGL), lo que podría tener repercusiones sobre la integridad de la mucosa intestinal. Por ello, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto que tiene la inclusión de aceites ácidos con diferente grado de saturación en la dieta sobre la morfometría de la mucosa intestinal y la dinámica de las mucinas secretadas por las CC en pollos de carne de 35 días de edad. Para ello, 384 pollos hembras Ross 308 de 1 día de vida, se distribuyeron al azar en 24 jaulas (6 réplicas/tratamiento) y se criaron hasta los 35 días. Se administraron 4 tratamientos obtenidos a partir de una dieta base suplementada con un 6 % de grasa experimental [insaturadas: aceite de soja (S) y aceite ácido de soja (SA; 56% AGL); saturadas: aceite de palma (P) y destilados de ácidos grasos de palma (PFAD; 78% AGL)]. A los 35 d se tomaron muestras de yeyuno distal de 1 animal / réplica. Las preparaciones se tiñeron con hematoxilina y eosina para el estudio morfométrico, y con la tinción de ácido periódico de Schiff (PAS) y azul Alcian (AB) a pH 0,5 para la determinación de mucinas neutras y ácidas, respectivamente. Se midió la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas de Lieberkühn. Además, para cada tinción de las mucinas se contabilizó el número de CC presentes en el área basal, media y apical de cada vellosidad. Los resultados muestran que las vellosidades intestinales son más largas y las criptas menos profundas en el grupo P frente al grupo S. Por otra parte, el nivel de AGL aumentó la longitud de las vellosidades. La presencia de CC a lo largo de las vellosidades es significativamente diferente ($P < 0,001$), siendo en el área base > área media > área apical. No se observó un efecto de la acidez sobre el número de CC, en cambio sí se observaron diferencias significativas ($P = 0,02$) por el grado de saturación, contabilizándose un mayor número de CC en las grasas insaturadas. No se observaron diferencias entre el número de CC neutras y ácidas con relación al grado de saturación o nivel de acidez. Los resultados sugieren que la dinámica de las mucinas no se ve afectada por la inclusión de aceites ácidos.

Palabras claves: mucosa intestinal; células caliciformes; mucinas; aceites ácidos; pollos de carne.

The composition of the diet can affect on the integrity of the intestinal mucosa and can influence both the absorption of nutrients and the mucin composition secreted by goblet cells (GC), which constitute the first defensive barrier between the intestinal lumen and the enterocytes. Acid oils, by-products obtained from the refining process of edible oils, have a high acidity degree (40 – 90 % free fatty acids; FFA), which could have implications in the integrity of the intestinal mucosa.

Therefore, the objective of the present study was to determine the effect of the inclusion of acid oils with different saturation degree in the diet has on the morphometry of the intestinal mucosa and the mucin dynamics secreted by the GC in 35 days-old broiler chicken. For that, 384 one-day old female broiler chickens Ross 308 were randomly distributed in 24 cages (6 replicates / treatment) and raised up to 35 days. Four treatments obtained from a basal diet supplemented with 6% experimental fat [unsaturated: soybean oil (S) and soybean acid oil (SA; 56% FFA); saturated: palm oil (P) and palm fatty acid distillates (PFAD; 78% FFA)] were administrated. At 35 d, samples from lower jejunum of 1 animal/replicate were taken. Samples were stained with hematoxylin and eosin for the morphometric study and periodic acid-Schiff (PAS) staining and alcian blue (AB) pH 2.5 staining were used for the determination of neutral and acidic mucins, respectively. The height of the villi and the depth of the crypts of Lieberkühn were measured. In addition, for each mucin staining the number of GC stained in the basal, medium and apical area of each villi was counted. The results show that the intestinal villi are longer and the crypts less deep in the P group versus S group. On the other hand, the level of FFA increased the length of the villi. The presence of GC along the villi is significantly different ($P < 0.001$) being in the basal area $>$ medium area $>$ apical area. There was no effect of acidity on the number of GC, however significant differences ($P = 0.02$) were observed due to the saturation degree, obtaining a higher number of GC in unsaturated fats. No differences were observed between the number of neutral and acidic GC in relation to the saturation degree or acidity level. The results suggest that mucin dynamics are not affected by the inclusion of acid oils.

Key words: intestinal mucosa; goblet cells; mucin; acid oils; broiler chicken.

Introducción

Las grasas y los aceites son ingredientes habituales en las dietas de pollos de carne, dado su alto valor energético y aporte de ácidos grasos esenciales. Los aceites ácidos procedentes de la refinación química y física de las grasas convencionales pueden resultar una alternativa económica interesante para el sector de la avicultura, ya que presentan un perfil de ácidos grasos similar a la grasa de la que derivan. No obstante, estos subproductos presentan un elevado porcentaje de ácidos grasos libres (AGL: 40-99%; Nuchi et al., 2009).

La salud intestinal es esencial para una buena digestibilidad y utilización de los nutrientes y en consecuencia un buen rendimiento productivo (Choct, 2009), lo que redundaría en la salud del animal.

En las aves, la absorción de las grasas se produce principalmente en el yeyuno (Tanchaenrat et al., 2014; Rodríguez-Sánchez et al., 2018; Jiménez-Moya et al., 2019). Por ello, los cambios que se producen en la morfometría de la mucosa intestinal (en términos de estructura microscópica) pueden afectar a la digestibilidad de las grasas. De hecho, cambios en la altura de las vellosidades intestinales y profundidad de las criptas son considerados como los principales indicadores del desarrollo, salud y funcionalidad del intestino (Wang y Peng, 2008).

La superficie de absorción está cubierta por una capa de mucus, secretada por las células caliciformes (CC). Esta representa la primera barrera defensiva del intestino, al tiempo que constituye un medio de soporte a la digestión y absorción de nutrientes (Poonam et al., 2009). Así pues, los cambios que se puedan producir a nivel de las CC y en el tipo de secreción que producen puede afectar a la absorción de los nutrientes.

Estudios realizados en pollos de carne apuntan a que el nivel de AGL puede afectar a la utilización de estas grasas (Vilarrasa et al., 2015; Rodríguez-Sánchez et al., 2018). Sin embargo, la información sobre el efecto que pueden tener en la morfología intestinal y composición de las mucinas es muy escasa (Rodríguez-Sánchez et al., 2017).

Por ello, el objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto que tiene la inclusión de aceites ácidos con diferente grado de saturación en la dieta sobre la morfometría de la mucosa intestinal y la dinámica de las mucinas secretadas por las CC en pollos de carne de 35 días de edad.

Material y métodos

Animales e instalaciones

Un total de 384 pollos hembra de la estirpe Ross 308 (Pondex, SAU; Lleida, España) de un día de edad, se identificaron individualmente y se distribuyeron al azar en 24 jaulas de 0,60 m·0,95 m·0,40 m a razón de 16 aves por jaula. El estudio se llevó a cabo en la granja experimental del *Servei de Granges i Camps Experimentals* de la *Universitat Autònoma de Barcelona* y los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética de la misma institución. A lo largo de todo el estudio (día 1 hasta 35 días de edad) se realizaron controles de las condiciones ambientales y la administración de agua y pienso fue *ad libitum*.

Pienso y diseño experimental

Se administraron 2 tipos distintos de piensos según la fase: de iniciación (hasta los 21 días de edad) y de crecimiento-acabado (de los 21 días hasta el final), ambos en forma de harina. Los piensos experimentales fueron formulados para satisfacer o exceder las necesidades señaladas en FEDNA (2008) a partir de una dieta base (*Tabla 1*) suplementada con un 6 % de una de las 4 grasas objeto de estudio. La fabricación de los piensos experimentales se llevó a cabo en Pensos Molinet S.A. y Lindo Pet Global S.A.

El diseño experimental consistió en 4 tratamientos que diferían en el *grado de saturación* [fuente de grasa insaturada (S: Soja) y fuente de grasa saturada (P: Palma)] y en el *tipo de grasa según el nivel de acidez* [aceite convencional (S y P) o aceites ácidos (aceite ácido de soja: SA; destilados de ácidos grasos de palma: PFAD)]. Cada tratamiento constó de 6 réplicas.

Tabla 1. Ingredientes de los piensos experimentales

Ingrediente, %	Pienso inicio (de 0 a 21 d)	Pienso crecimiento-acabado (de 21 a 35 d)
Cebada	-	18,58
Trigo	54,5	44,0
Harina de soja 47%	35,4	27,25
Grasas experimentales ¹	6,0	6,0
Carbonato cálcico	1,44	1,39
Fosfato monocálcico	0,99	1,2
Cloruro de sodio	0,40	0,35
Mezcla vitamínico-mineral + enzimas ²	0,40	0,4
DL-Metionina	0,23	0,17
L-Lisina HCL	0,15	0,12
L-Treonina	-	0,02
Dióxido de titanio	0,5	0,5

¹ Aceite de palma (P), aceite de soja (S), destilados de ácidos grasos de palma (PFAD), aceite ácido de soja (SA).

² Aporta por kg de pienso: vitamina A (E-672), 2.500.000 U.I; vitamina D₃ (E-671), 1.200.000 U.I; vitamina E (alfa-tocoferol), 11.250 mg; vitamina B₁, 750 mg; vitamina B₂, 2.250 mg; vitamina B₆, 1.125 mg; vitamina B₁₂, 10 mg; vitamina K₃, 750 mg; pantoteato de calcio, 4.125 mg; nicotinamida, 12.750 mg; ácido fólico, 450 mg; biotina, 37,5 mg; Fe (FeSO₄·7H₂O), 13.500 mg; I (Ca(I₂O₃)₂), 300 mg; Cu (CuSO₄·5H₂O), 3.000 mg; Mn (MnO), 22.500 mg; Zn (ZnO), 16.500 mg; Se (Na₂SeO₃), 45 mg.

Recogida de muestras intestinales

Al final del período experimental (35 días de edad) se sacrificaron 6 animales por tratamiento (1 animal por réplica). Se tomó una muestra de 2 cm de longitud de la porción distal del yeyuno (adyacente al divertículo de Meckel) de cada animal, se lavó con solución salina fisiológica y se fijó y conservó hasta su posterior procesado en formaldehído tamponado al 10 %.

Examen morfológico

Las muestras de yeyuno fueron procesadas mediante el método rutinario para su inclusión en boques de parafina. Para cada muestra se obtuvieron 6 secciones transversales e independientes de 4 μm de espesor que se incluyeron en una misma preparación y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina. En cada preparación se midió, como mínimo, la altura de 50 vellosidades y la profundidad de 70 criptas de Lieberkühn, y se determinó la ratio entre ambas medidas. La altura de cada vellosidad se definió como la distancia comprendida entre el ápice de esta hasta la unión con la cripta, mientras que la profundidad de la cripta se midió desde la unión vellosidad-cripta hasta el final de la cripta (invaginación entre vellosidades adyacentes) (*Figura 1*).

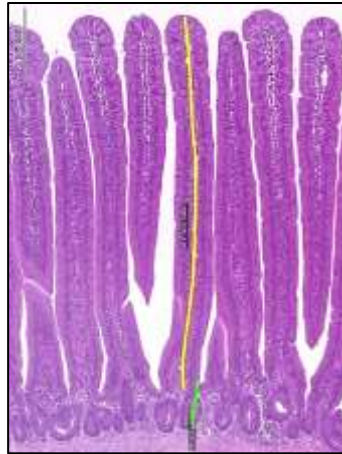


Figura 1. Medición morfométrica de yeyuno posterior en pollos broiler. Altura de vellosidad (amarillo) y profundidad de cripta (verde). Tinción Hematoxilina-Eosina.

Tinción de mucinas

El número de CC y el tipo de mucina presente en las vellosidades se determinó tras la tinción de las preparaciones histológicas con ácido periódico de Schiff (PAS) para las mucinas neutras y azul Alcian (AB) a pH 0,5 para las mucinas ácidas. Se contabilizó el número de CC de 6 vellosidades por animal. Para ello, se adaptó la metodología descrita por Biasato et al. (2018). Cada vellosidad se dividió en 3 secciones longitudinalmente iguales (base, media, apical). Posteriormente, se contabilizó el número de CC teñidas presentes en cada una de las secciones y tinciones (*Figura 2*).

Todas las medidas se realizaron a partir de fotografías digitales de las preparaciones, que fueron capturadas en un escáner de preparaciones LEICA SCN400 a 40x y las imágenes obtenidas fueron analizadas mediante el programa informático para análisis de imágenes ViewPoint.

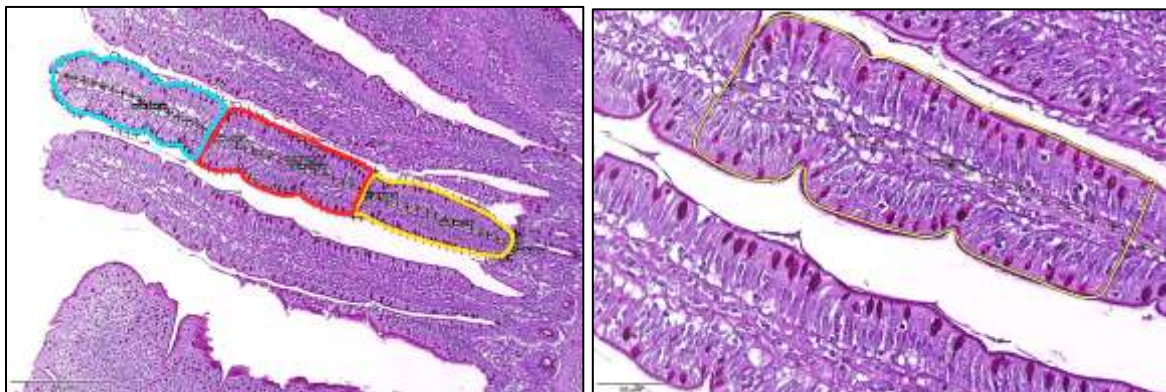


Figura 2. Izquierda: Vellosidad fragmentada en 3 secciones: basal (naranja), media (rojo), apical (azul). Derecha: Contaje de CC teñidas con PAS en la sección media de la vellosidad.

Análisis estadístico

Tanto los datos de morfometría como los de la dinámica de las mucinas se analizaron mediante un diseño completamente aleatorizado, utilizando el Modelo lineal general (GLM) del programa informático SAS® (SAS Institute, 2008) utilizando la saturación y el grado de acidez como efectos fijos y el pollo como efecto aleatorio. Las diferencias entre tratamientos se determinaron, estableciendo la significación cuando $P < 0,05$.

Resultados y discusión

Estudio morfométrico

En la *Tabla 2* se presentan la longitud de las vellosidades y la profundidad de las criptas a los 35 días de vida. Los resultados obtenidos muestran que la longitud de las vellosidades es mayor ($P > 0,001$) y la profundidad de las criptas de Lieberkühn es menor ($P > 0,001$) en aquellos animales que consumieron una dieta rica en grasas saturadas que en los que consumieron una dieta rica en grasas insaturadas. Ello se corresponde con una ratio altura de vellosidades: profundidad de las criptas mayor que la obtenida en los animales alimentados con grasas insaturadas (Inst: 6,2; Sat: 7,2; $P = 0,002$).

Por otra parte, el grado de acidez de las grasas incorporadas en las dietas de los pollos alteró la longitud de las vellosidades. Así, se observa que la altura de las vellosidades es mayor en los animales alimentados con dietas con aceites ácidos. No obstante, no se observa diferencia significativa ($P = 0,158$) en la ratio altura de vellosidades: profundidad de las criptas.

Asimismo, se observa una interacción entre el grado de saturación y el grado de acidez en la profundidad de las criptas ($P < 0,001$), pero no en la longitud de las vellosidades ni en la ratio entre ambos parámetros. En este sentido, la profundidad de las criptas de Lieberkühn es menor en los aceites ácidos cuando la grasa es insaturada, mientras que es similar en las dietas con grasas saturadas.

La mayor longitud de las vellosidades supone una mayor superficie de absorción de nutrientes (Caspary, 1992), por lo que los animales que tienen más desarrollada esta parte de la mucosa yeyunal deberían tener una mayor capacidad de absorción. Estos resultados contrastan con los obtenidos en la digestibilidad de los ácidos grasos, donde las grasas insaturadas mostraron unos valores de digestibilidad mayores que las grasas saturadas (Jimenez-Moya et al., 2019).

Dado que las criptas son las responsables de la renovación del epitelio de las vellosidades deterioradas durante la digestión o por procesos inflamatorios (Imondi y Bird, 1966), una mayor profundidad de estas implica una mayor actividad de las células madre en el proceso de replicación, migración y extrusión (Yamauchi, 2007). Las criptas más profundas indican una rápida rotación tisular para permitir la renovación de la vellosidad según sea necesario en respuesta a la destrucción normal o a la inflamación (Yason et al., 1987).

Distribución de las células caliciformes a lo largo de la vellosidad

De forma general, la presencia de CC varió de forma significativa ($P < 0,001$) a lo largo de la vellosidad, contabilizándose un mayor número de células en la sección basal, seguido de la sección media y un menor número en la sección apical. Estos resultados se corresponden con los descritos por Biasato et al. (2018) y se han relacionado con el proceso de proliferación y maduración de las CC. El proceso de proliferación celular en el epitelio intestinal en pollos de carne tiene lugar a lo largo de toda la vellosidad, si bien dicha actividad va disminuyendo desde la cripta hasta la mitad superior de las vellosidades (Uni et al., 1998).

Número de células caliciformes y tipo de mucinas

En la *Tabla 3* se muestran los resultados correspondientes al número de CC y tipos de mucinas presentes en las vellosidades intestinales.

Las diferencias en el número y tipo de CC observadas vienen determinadas principalmente por diferencias en la sección basal de la vellosidad (datos no presentados), lo que estaría de acuerdo con la disminución gradual de la actividad proliferativa del epitelio intestinal a lo largo de la vellosidad (Uni et al., 1998).

De forma general, se observó que el número de CC neutras fue significativamente mayor al de CC ácidas ($P < 0,001$). No está claramente establecida la importancia fisiológica de los distintos tipos de mucinas, si bien ambas representan un mecanismo de protección frente a bacterias patógenas, la producción de mucinas neutras está relacionada con una mayor madurez de la mucosa intestinal (Forder et al., 2007). Está descrito que las bacterias presentes en la microbiota intestinal influyen en la producción de mucina y en la madurez intestinal (Forder et al., 2007; Cheled-Shoval et al., 2014), por ello, un estudio sobre la microbiota intestinal de estos animales permitiría ampliar la interpretación de los resultados obtenidos.

Los resultados indican que el nivel de acidez (contenido en AGL) de las grasas añadidas en la dieta no tuvo un efecto sobre el número de CC. Por el contrario, se observaron diferencias significativas en cuanto al grado de saturación, contabilizándose un mayor número de CC por longitud de vellosidad ($P = 0,02$) y una tendencia a un mayor número de CC en la vellosidad ($P = 0,05$) en los animales alimentados con grasas insaturadas, debido a una tendencia en el número de CC ácidas por longitud de vellosidad ($P = 0,07$) y en el número de CC ácidas en la vellosidad ($P = 0,05$).

Conclusiones

La incorporación de grasas ácidas en la dieta de pollos de carne aumenta la longitud de las vellosidades y disminuye la profundidad de las criptas respecto a las grasas convencionales, no obstante, se desconoce si esta modificación en la morfometría podría suponer una respuesta del epitelio intestinal de las aves frente a una limitación en la absorción.

Por otra parte, los resultados obtenidos sugieren que el efecto de las grasas añadidas en la dieta sobre las células caliciformes y secreción de mucinas depende mayormente del perfil de ácidos grasos de la dieta (Saturado-Insaturado) que del nivel de acidez o contenido en AGL.

Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado, en parte, por una beca predoctoral de Formación de Personal Investigador (FPI) concedida por el Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España y por el proyecto (CICYT AGL2015-64431-C2-1-R) concedido por la *Comisión Interministerial de Ciencias y Tecnología de España del Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España*.

Tabla 2. Efecto del grado de saturación y el nivel de acidez sobre la morfología intestinal¹ de pollos de carne de 35 días de edad.

Medida	Dietas experimentales ²				Saturación ³		Acidez ⁴		P - valor			
	Insaturadas		Saturadas		Insat	Sat.	Conv	Ácido	SEM	Grasa	AGL	Interacción
	S	SA	P	PFAD								
Longitud	922,24	973,36	947,30	1005,39	946,87	974,93	935,29	989,84	11,324	<0,001	<0,001	0,538
Vellosidades (µm)												
Profundidad criptas (µm)	155,94 ^a	149,74 ^b	135,45 ^c	136,24 ^c	152,80	135,83	145,52	143,26	1,693	<0,001	0,001	<0,001
Ratio Vellosidades / Criptas	6,00	6,46	7,05	7,43	6,23	7,24	6,52	6,94	0,572	0,002	0,158	0,888

¹Valores son las medias de 6 observaciones por tratamiento.

²S: dieta con un 6% de aceite de soja; SA: dieta con un 6% de aceite ácido de soja; P: dieta con un 6% de aceite de palma; PFAD: dieta con un 6% de destilados de ácidos grasos de palma.

³Inst (Insaturadas) es la media de S y SA; Sat (Saturadas) es la media de P y PFAD.

⁴Conv (Convencionales) es la media de S y P. Ácido (Aceites ácidos) es la media de SA y PFAD.

Valores dentro de la misma fila con superíndices distintos indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$).

Tabla 3. Efecto del grado de saturación y el nivel de acidez sobre la dinámica de las mucinas¹ en pollos de carne de 35 días de edad.

Medidas ⁵	Dietas experimentales ²				Saturación ³		Acidez ⁴		P - valor			
	Insaturadas		Saturadas		Sat	Insat	Conv	Ácido	SEM	Grasa	AGL	Interacción
	S	SA	P	PFAD								
CC (n/vellosidad)	97,34	105,23	92,48	93,26	92,87	101,29	94,91	99,25	4,231	0,05	0,32	0,14
CC / LV (n/µm)	0,105	0,111	0,099	0,096	0,097	0,108	0,102	0,104	0,004	0,02	0,74	0,13
<i>Neutras</i>												
CC (n/vellosidad)	104,00	111,05	102,24	99,14	100,69	107,52	103,12	105,09	4,177	0,25	0,74	0,54
CC / LV (n/µm)	0,111	0,116	0,108	0,101	0,105	0,114	0,110	0,109	0,006	0,13	0,89	0,37
<i>Ácidas</i>												
CC (n/vellosidad)	90,69	99,41	82,72	87,38	85,05	95,05	86,70	93,40	4,817	0,05	0,20	0,12
CC / LV (n/µm)	0,100	0,106	0,090	0,091	0,091	0,103	0,095	0,099	0,006	0,07	0,56	0,32

¹Valores son las medias de 6 observaciones por tratamiento.

²S: dieta con un 6% de aceite de soja; SA: dieta con un 6% de aceite ácido de soja; P: dieta con un 6% de aceite de palma; PFAD: dieta con un 6% de destilados de ácidos grasos de palma.

³Inst (Insaturadas) es la media de S y SA; Sat (Saturadas) es la media de P y PFAD.

⁴Conv (Convencionales) es la media de S y P. Ácido (Aceites ácidos) es la media de SA y PFAD.

⁵CC = número de células caliciformes; CC / LV = número de células caliciformes por longitud de vellosidad.

Referencias

- BIASATO, I., FERROCINO, I., BIASIBETTI, E., GREGO, E., DABBOU, S., SERENO, A., GAI, F., GASCO, L., SCHIAVONE, A., COCOLIN, L., CAPUCCHIO, M. T.** (2018) Modulation of intestinal microbiota, morphology and mucin composition by dietary insect meal inclusion in free-range chickens. *BMC Veterinary Research* **14**: 383.
- CASPARY, W.F.** (1992) Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *American Journal of Clinical Nutrition* **55**: 299S-308S.
- CHELED-SHOVAL, S. L., WITHANA GAMAGE, N. S., AMIT-ROMACH, E., FORDER, R., MARSHAL, J., VAN KESSEL, A., UNI, Z.** (2014) Differences in intestinal mucin dynamics between germ-free and conventionally reared chickens after mannan-oligosaccharide supplementation. *Poultry Science* **93**:636-644.
- CHOCT, M.** (2009) Managing gut health through nutrition. *British poultry Science* **50**:9-15.
- FEDNA** (2008) *Necesidades nutricionales para avicultura*. Eds: R. Lázaro y G.G. Mateos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, España.
- FORDER, R. E. A., HOWARTH, G. S., TIVEY, D. R., HUGHEST, R. J.** (2007) Bacterial modulation of small intestinal goblet cells and mucin composition during early posthatch development of poultry. *Poultry Science* **86**:2396-2403.
- IMONDI, A.R., BIRD, F.H.** (1966) The turnover of intestinal epithelium in the chick. *Poultry Science* **45**: 142.
- JIMENEZ-MOYA, B., BARROETA, A.C., SOLÀ-ORIOLO, D., GUARDIOLA, F., SALA, R.** (2017) Effect of dietary saturation and acidity level on fatty acid absorption along the gastrointestinal tract in young broiler chickens. *Proceedings of the 22th European Symposium on Poultry Nutrition* (Gdansk, Poland): 296.
- JIMENEZ-MOYA, B., SALA, R., SOLÀ-ORIOLO, D., TRES, A., SOLER, M.D., BARROETA, A.C.** (2019) Combinación de aceite ácido de soja con aceite de palma en piensos de crecimiento – acabo de pollos de carne: efecto sobre la digestibilidad de los ácidos grasos. *Comunicación del LVI Symposium Científico de Avicultura* (San Sebastián, España).
- NUCHI, C. D., F. GUARDIOLA., R. BOU., P. BONDIOLI, L. DELLA BELLA, AND R. CODONY.** (2009) Assessment of the levels of degradation in fat by-products for feed uses and their relationship with some lipid composition parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **57**:1952-1959.
- POONAM, D., SRIVASTAVA, V., KISSON-SINGH, V., CHADEE, K.** (2009) Role of intestinal mucins in innate host defense mechanisms against pathogens. *Journal of Innate Immunity*. **1**:123-135.
- RODRIGUEZ-SANCHEZ, R., SOLER, M. D., SALA, R., GARCÉS-NARRO, C., BARROETA, A. C.** (2017) Efecto de los ácidos grasos libres sobre la morfometría de la mucosa intestinal en pollos de carne. *Comunicación del LIV Symposium Científico de Avicultura* (León, España).
- RODRIGUEZ-SANCHEZ, R., BARROETA, A. C., SALA, R., GUARDIOLA, F., TRES, A.** (2018) Evolution of lipid classes and fatty acid digestibility along the gastrointestinal tract of broiler chickens fed different fat sources at different ages. *Poultry Science*. **98**:1341-1353
- TANCHAROENRAT, P., RAVINDRAN, V., ZAEFARIAN, F., RAVINDRAN, G.** (2014) Digestion of fat and fatty acids along the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Poultry Science* **93**:371-379.
- UNI, Z., PLATIN, R., SKLAN, D.** (1998) Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. *Journal of Comparative Physiology* **168**:241-247.
- VILARRASA, E., CODONY, R., ESTEVE-GARCIA, E., BARROETA, A. C.** (2015) Use of re-esterified oils, differing in their degree of saturation and molecular structure, in broiler chicken diets. *Poultry Science* **94**:1527-1538.
- WANG, J.X., PENG, K.M.** (2008) Developmental morphology of the small intestine of African ostrich chicks. *Poultry Science* **87**:2629-35.
- YAMAUCHI, K.** (2007) Review of a histological intestinal approach to assessing the intestinal function in chickens and pigs. *Animal Science Journal* **78**: 356–370.
- YASON, C.V., SUMMERS, B.A., SCHAT, K.A.** (1987) Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys. *American Journal of Veterinary Research* **48**: 927-938.