

01674

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**



DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCION Y DE LA SALUD ANIMAL

EFFECTO DEL ACIDO LIPOICO SOBRE ALGUNOS
INDICADORES DEL ESTRES OXIDATIVO EN POLLOS
DE ENGORDA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

MAURILIO /SERRET GONZALEZ

TUTOR: MSc. ERNESTO AVILA GONZALEZ
COMITE TUTORAL: MC. ANTONIO DIAZ CRUZ
DR. CARLOS LOPEZ COELLO



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DECLARACIÓN

Doy mi consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que esta tesis sea disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.



MVZ Maurilio Serret González

DEDICATORIA

A mis padres, Mercedes y Salomón porque me siento muy orgulloso de ustedes y porque supieron inculcarnos el valor de la honestidad, el espíritu de superación, de unión y el amor por el trabajo.

A mis hermanos Rafael y Alonso, porque en todo momento me han hecho sentir su apoyo y cariño, que es muy importante y sé que siempre contaré con ellos.

A mi novia Rosy por su cariño, paciencia y apoyo incondicional.

A la memoria de mi tío Darío Gómez Mejía, y a mi tía Elia, por ser una parte fundamental de mi formación.

A la memoria de Tony Aguirre, gran compañera y amiga.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser mi *alma mater*.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme formado.

Al Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Producción Avícola, por las facilidades otorgadas para la realización de esta tesis.

Al Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, por haberme aceptado para la realización del posgrado.

Al Laboratorio 34 de la Unidad de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina, por su apoyo y facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico brindado para la realización de estudios de maestría y la realización de este trabajo.

A Veterinaria y Tecnología Aplicada SA de CV, por los permisos otorgados para la conclusión de este posgrado.

A mis asesores: En especial al MC Antonio Díaz Cruz, gran amigo quien me dio la oportunidad de trabajar con este gran equipo de investigación y llegar a ser parte de este, a la Dra. Raquel Guinzberg Perrusquia por el tiempo dedicado, su apoyo y consejos, al Dr. Enrique Piña Garza por el tiempo invertido para la dirección y revisión de este trabajo.

A mi comité tutorial: en especial al MSc Ernesto Avila González, al MC Antonio Díaz Cruz y al Dr. Carlos López Coello; por su orientación y dirección durante el posgrado.

A mi honorable jurado: MSc Ernesto Avila González, Dr Víctor Calderón, Dr Sergio Gómez Rosales, Dr Carlos López Coello y MC Antonio Díaz Cruz por la revisión de esta tesis y sugerencias.

A todo el personal que labora en el CEIEPA, en especial a los MVZ Fredy y Mónica Hidalgo y a los Sres. Jorge Ovilla y Jorge Martínez por su ayuda en la fase experimental de este trabajo; así como a los MC Ezequiel Sánchez, Elizabeth Posadas, y MVZ René Morales por las facilidades proporcionadas para este experimento.

Un agradecimiento especial a los Médicos Maricela Cadena, Pilar Pérez, Pilar Castañeda, Lupita Ramírez, Krimilda Valle, Gonzalo Villar, Alfonso Lozada, Mauro Arrieta y Cuauhtemoc Nava por su amistad que es invaluable.

A todas las personas que de alguna manera participaron y/o apoyaron en este proyecto.

CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCION	
Situación actual del pollo de engorda.....	3
Radicales libres.....	7
El estrés oxidativo.....	12
Acido lipoico.....	19
JUSTIFICACION.....	32
OBJETIVOS.....	33
HIPOTESIS.....	33
MATERIAL Y METODOS	
Fase de campo.....	34
Fase de laboratorio.....	39
RESULTADOS	
Fase de campo.....	43
Fase de laboratorio.....	49
DISCUSION.....	57
CONCLUSIONES.....	60
LITERATURA CITADA	62



RESUMEN

SERRET GONZALEZ MAURILIO. Efecto del ácido lipoico sobre algunos indicadores del estrés oxidativo en pollos de engorda. (Comité tutorial: MVZ MSc Ernesto Avila González, MVZ MC Antonio Díaz Cruz y Dr Carlos López Coello).

Con el objetivo de evaluar la adición de α -ácido lipoico (AL) en la dieta, sobre el estado oxidativo hepático, así como sobre los parámetros productivos comerciales en el pollo de engorda, se realizó este experimento con un diseño completamente aleatorizado, donde se utilizaron 1032 pollos mixtos Avian Farm X Arbor Acres de un día de edad, alimentados *ad libitum* durante todo su ciclo, alojados en una caseta de ambiente natural. Los pollos se distribuyeron al azar en 24 lotes en grupos de 43 pollos cada uno; cada tratamiento tuvo seis repeticiones. Los tratamientos fueron: **1.** Dieta convencional sin AL, **2.** Dieta convencional más 10 ppm de AL, **3.** Dieta convencional más 20 ppm de AL y **4.** Dieta convencional más 40 ppm de AL. En la etapa de *iniciación* no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en los parámetros productivos. A diferencia de la etapa de *finalización* en donde hubo una disminución ($P < 0.05$) del consumo de alimento, que fue menor ($P < 0.05$) en el tratamiento 3; en ganancia de peso, el tratamiento 4 fue ($P < 0.05$) el más pesado de todos y con una conversión alimenticia estadísticamente ($P < 0.05$) menor. En el análisis de 0 a 7 semanas la conversión alimenticia en el tratamiento 4 fue la más baja ($P < 0.05$). En mortalidad general el tratamiento 2 tuvo la menor ($P < 0.05$) durante la etapa de iniciación; el tratamiento 4 resultó con la mortalidad más baja ($P < 0.05$) tanto general como por SA en la etapa de finalización; y en el ciclo completo, resultó haber un efecto significativo del AL en los tres tratamientos en la mortalidad por SA, no así en mortalidad general que solo fue menor en el tratamiento 4 ($P < 0.05$). En la determinación de la **lipoperoxidación** medida como TBARS; en el hígado se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) a partir de segunda semana de vida, correspondiendo los valores más bajos en las semanas 2, 3, 4, 5 y 6 a los tratamientos 3, 4, 4, 3 y 4, respectivamente. Los niveles de glutatión total hepático solo fueron significativamente más altos ($P < 0.05$) en las semanas 3, 4 y 6 en los tratamientos 2, 3 y 4, respectivamente. Sin embargo, al analizar el efecto de los tratamientos independientemente de la semana, se observó un aumento significativo ($P < 0.05$) del **glutatión hepático** con las dosis mayores de AL (20 y 40 ppm) en los tratamientos 3 y 4. Todo esto indica en términos generales, un efecto favorable del AL en pollos de engorda, tanto en los parámetros productivos como en su función antioxidante, con la dosis de 40 ppm. Proyecto financiado por CONACYT: No. 262577B.

Palabras clave: Radicales libres, lipoperoxidación hepática, ácido lipoico, antioxidantes, pollo de engorda.

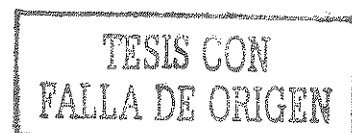
SUMMARY

SERRET GONZALEZ MAURILIO: Acid Lipoic effects on Oxidative Stress in Broilers.

(Tutorial Committee: MVZ MSc Ernesto Avila González, MVZ MC Antonio Díaz Cruz y Dr Carlos López Coello).

The goal of this study was to evaluate the addition of α -Lipoic Acid (LA) on broiler food. The liver oxidative status and the broiler performance were measure. One day Avian farm X Arbor Acres broiler in a complete randomized model were used. The animals feed *ad lib* in all the cycle, and were allocated in a natural environmental house. There were 4 treatments with 6 replicates each one and 43 broilers per reply. The treatments were: 1. Conventional Diet without LA, 2. Conventional Diet plus 10 ppm of LA, 3. Conventional Diet plus 20 ppm of LA and 4. Conventional Diet plus 40 ppm of LA. On starter stage there were no differences ($P>0.05$) on broiler performance, by the other hand on finisher stage there were lower feed intake ($P<0.05$) on treatment 3, on weight gain and feed conversion the treatment 4 was ($P<0.05$) the best. In all the study the feed conversion in feed 4 was the lowest ($P<0.05$). On general mortality treatment 2 had the lowest ($P<0.05$) on starter stage, however treatment 4 showed the lowest general mortality and ascites mortality on finisher stage ($P<0.05$), and in all the research there were significant differences on reduction the ascites mortality with any of the treatments that include the LA, not in general mortality that only the treatment 4 reduced it ($P<0.05$). There were significant differences ($P<0.05$) on Liver **lipoperoxidation** (measure as TBARS), the lowest levels on weeks 2, 3, 4, 5 and 6 were found on treatments 3, 4, 4, 3 and 4 respectively. The levels of glutation on liver were higher ($P<0.05$) on weeks 3, 4 and 6 on treatments 2, 3 and 4 respectively. However, in the analysis of all the study, **liver glutation** increase significantly ($P<0.05$) on treatments 3 and 4 that have the highest levels of LA. All these results show in general terms a favorable effect on broiler performance and in antioxidative status with the 40 ppm dose of LA. This project was financed by CONACYT: No 262577B

Keywords: Free Radicals, Liver Lipoperoxidation, Lipoic Acid, Antioxidants, Broilers.



INTRODUCCION

SITUACION ACTUAL DEL POLLO DE ENGORDA

El crecimiento de la industria del pollo de engorda desde que se inició hace aproximadamente setenta años, ha sido un ejemplo único de coordinación, cooperación y utilización de varias disciplinas científicas para producir proteína animal de alta calidad. Se han logrado eficiencias significativas en los pollos durante los últimos 50 años por los esfuerzos concentrados y complementarios entre las disciplinas fundamentales como genética, nutrición, fisiología, manejo y sanidad entre otras. Sin embargo, las innovaciones en las tecnologías de alimentos y comercialización, se han intercalado con los sistemas integrados de producción, elevando a la industria del pollo de engorda a nuevas alturas (1).

Mientras que la producción de pollo de engorda aumentó por las eficiencias de producción a todos los niveles, la demanda de los consumidores aumentó por el bajo costo, la alta calidad de la proteína, la versatilidad, la comodidad, bajo contenido calórico y las condiciones de salud como el bajo colesterol. Además, la carne de pollo no tiene ningún tabú como la carne de res y de cerdo en ciertos grupos religiosos. El concepto de integración vertical, es más o menos un invento de la industria del pollo de engorda y después de ser probada por el tiempo y por la geografía, es aceptada como uno de los mejores modelos de producción. La evolución de la integración vertical, ha facilitado el camino para la producción de proteína animal de excelente calidad a mínimo costo (1).

La demanda de los consumidores, está dictando la dirección que deben seguir los genetistas para desarrollar los reproductores del futuro. Los cambios demográficos y la demanda de los consumidores en todo el mundo, han influenciado significativamente la evolución de la industria del pollo de engorda en las áreas de selección de razas, producción, procesado y comercialización (1, 2).

Debido a la intensa presión de selección para características de eficiencia de crecimiento, los pollos comerciales del presente están creciendo a su límite fisiológico (Cuadro 1); ya que, la edad a la que se sacrifican y venden ha disminuido en más o menos un día por año durante los últimos 30 años. Sin embargo, esta tasa de mejora genética se ha reducido por el crecimiento acelerado del pollo al llegar a la edad de mercado. Conforme los reproductores primarios intensifican la presión de selección para crecimiento y factores relacionados de la canal, las aves tienden a llegar a estos límites fisiológicos y bajo ciertas condiciones de manejo y ambientales se evidencian los llamados desórdenes metabólicos. La industria ya está sufriendo estos desórdenes como el síndrome ascítico, síndrome de muerte súbita, debilidad de patas, baja fertilidad, etc (1).

Conforme ocurren estos fenómenos, las aves demandan mejores condiciones ambientales y afinación del manejo para lograr desempeño óptimo. Para lograr el potencial genético inherente en una línea, es imperativo que el ambiente y el manejo sean adaptados a cada línea genética específica. Bajo condiciones inadecuadas de manejo, debe esperarse un desempeño subóptimo y como estas y la tecnología difieren alrededor del mundo, es importante que se estructuren planes bien pensados e innovativos para el largo plazo, considerando el cambio geográfico de los centros de producción (1, 2).

El análisis de datos comparando el progreso actual contra las estimaciones del futuro, indican que probablemente se esté llegando a algunas mesetas fisiológicas que podrían limitar la tasa del progreso genético. Debido a esto, se podrían quedar cortas las predicciones basadas en presiones de selección y parámetros genéticos estimados. La interacción entre las selecciones natural y artificial por un lado, y los límites fisiológicos tempranos en la vida del pollo por otro, podrían explicar la diferencia entre los avances actuales y los pronosticados (1, 2, 3).

Cuadro 1. Datos históricos del crecimiento de la eficiencia en la industria del pollo de engorda de los Estados Unidos así como proyección futura para el año 2000 (1).

Año	Peso (g)	Edad (días)	Ganancia/ día (g)	Conversión alimenticia	Viabilidad (%)
1923	1000	112	8.9	4.7	82
1933	1225	98	12.5	4.40	86
1943	1360	84	16.2	4.0	90
1953	1450	73	19.9	3.0	92.7
1963	1590	67	23.7	2.4	94.3
1973	1770	60	29.5	2.0	95
1983	1930	49	39.4	1.96	95.5
1993	2040	42	48.6	1.82	95.75
Proyección para el 2000	2270	38	59.7	1.7	95.5

Como se señaló anteriormente, los ejemplos de estos límites fisiológicos críticos en el pollo, bajo condiciones de producción y de manejo que causan estos desórdenes metabólicos son el síndrome ascítico, el síndrome de muerte súbita, debilidad de patas, pobre fertilidad entre otros. Estos estrés metabólicos, impuestos principalmente por factores genéticos y sistemas intensivos de producción comercial presentan un desafío a los genetistas, veterinarios, nutriólogos y especialistas en manejo (3).

Una de las alteraciones que puede presentar el pollo de engorda en el metabolismo del oxígeno, lo genera una elevada producción de radicales libres y estos a su vez tienen la capacidad de alterar su estructura y por lo tanto la función de las moléculas próximas, que pueden ser los ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos, ácidos grasos y carbohidratos. A la acción que tienen estas moléculas oxidantes sobre los ácidos grasos insaturados de las membranas celulares y subcelulares, se le denomina lipoperoxidación (4, 5, 6). Este fenómeno se ha observado en el hígado, corazón y pulmón del pollo de engorda (7, 8, 9, 10, 11), como se muestra en los siguientes antecedentes.

a) Indicadores metabólicos:

1. En hígado de pollos de engorda de seis semanas de edad con signos clínicos de síndrome ascítico (SA) se manifiesta un incremento significativo en el catabolismo de proteínas, así como en la velocidad de síntesis de glucosa (gluconeogénesis), lo que sugiere una modificación en la regulación metabólica de esta vía. El síndrome ascítico es una alteración metabólica en el que se ve comprometida la adecuada oxigenación del sistema locomotor a través de la afección de los sistemas circulatorio y respiratorio (8).
2. Un incremento significativo en el estado lipoperoxidativo en hígado y corazón de seis semanas de edad con signología clínica de SA (9).
3. Existe poca o nula respuesta hepática al estímulo de Adenosina y de las hormonas Epinefrina y Glucagón sobre la síntesis de glucosa y liberación de amonio, en pollos con signología de síndrome ascítico (8).
4. Un incremento significativo y gradual en el proceso de lipoperoxidación en hígado de pollo a partir de la primera semana de vida (7, 9, 10, 11).
5. Un incremento en la concentración basal de glutatión total (GT), a partir del primer día de nacido, hasta la primer semana de vida y una disminución gradual hacia la tercer semana (10).
6. Una disminución significativa en el grado de lipoperoxidación en corazón de pollo por efecto de la adición extra de vitamina E en la dieta, dato no observado con la vitamina C (10).

b) Indicadores productivos:

1. El uso de Piroxicam (antiinflamatorio no esteroideo) en la dieta reduce 3 a 4% la mortalidad general y por SA, siendo más efectiva para estos parámetros productivos, la restricción alimenticia (7, 9).
2. La adición extra de vitamina E en la dieta favorece significativamente los parámetros ganancia de peso y conversión alimenticia, no así la adición de vitamina C (9).

RADICALES LIBRES

Un radical libre (RL) se define como una molécula o fragmento molecular que contiene uno o más electrones (e^-) no apareados en un orbital más externo; esta característica, le confiere una elevada reactividad para reaccionar con relativa facilidad hacia la mayoría de los sustratos celulares u orgánicos (12).

Una molécula, puede convertirse en radical libre tanto por ganancia o por pérdida de e^- y también por fisión de enlaces homolíticos. Al romperse un enlace covalente en forma simétrica, ambos fragmentos retienen un e^- y por tanto, se convierten en radical libre. Este e^- desapareado, confiere al radical libre una cierta inestabilidad tanto energética como cinética, lo que los hace compuestos altamente reactivos. El símbolo (\cdot), designa la presencia de uno o más electrones desapareados (12, 13).

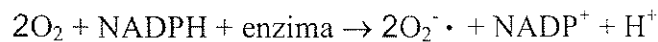
Constituyen ejemplos de radicales libres, el átomo de hidrógeno ($H\cdot$), el anión superóxido ($O_2\cdot^-$), el radical hidroxilo ($OH\cdot$), radicales peróxilo ($RO_2\cdot$), alcóxilo ($RO\cdot$), hidroperóxilo ($H_2O\cdot$), óxido nítrico ($NO\cdot$), dióxido de nitrógeno ($NO_2\cdot$), la molécula de triclorometilo (CCl_3) entre otros. Los radicales libres, han sido detectados por métodos químicos como las técnicas espectroscópicas de la resonancia del spin del electrón, por métodos más sofisticados como el atrapamiento del spin del electrón (Spin Trapping) o por métodos indirectos como las técnicas de dienos conjugados y de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (13, 14).

FUENTES DE RADICALES LIBRES

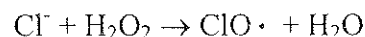
La generación de radicales libres es constante dentro de los seres vivos, y se asocia fundamentalmente al metabolismo celular del oxígeno y a las reacciones de óxido-reducción.

Se han descrito, numerosos mecanismos bioquímicos celulares responsables de la producción de radicales libres, a saber (13, 14, 15):

- A partir de la cadena respiratoria mitocondrial, peroxisomas y microsomas celulares. Esta fuente llega a contribuir con menos del 5% de la producción de radicales superóxido (13). La respiración celular es la principal fuente de energía de las células aeróbicas (generación de ATP). Las mitocondrias y los sistemas transporte de e^- son el sitio de mayor oxidación celular, donde se promueve la reducción tetravalente del oxígeno hasta agua (ver ecuación 2). Los radicales libres así generados a partir del O_2 son productos fisiológicos, pero peligrosos en potencia de la respiración celular (15).
- Fagocitosis. Los neutrófilos en contacto con moléculas extrañas, fagocitables, invaginan su membrana celular, envolviendo al material a destruir (fagosoma) aislándolo del citoplasma. La estimulación de éstas y otras células fagocíticas se acompañan de un aumento en el consumo de O_2 y activación de una enzima de la membrana, como lo es la NADPH-oxidasa (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa), responsable de la producción del radical anión superóxido. Hay también producción de moléculas de H_2O_2 por dismutación del $O_2^- \cdot$ (13, 15):



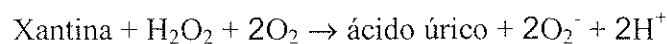
También los neutrófilos poseen una enzima, la mieloperoxidasa que genera radicales $ClO \cdot$ al reaccionar con H_2O_2 :



Así, un gran número de fagocitos activados por cualquier medio, pero sin el propósito para el cual están destinados en un área localizada pueden provocar daño tisular. Por ejemplo, el líquido sinovial en las articulaciones muy inflamadas de pacientes con artritis

reumatoidea, contiene gran número de neutrófilos activados; los radicales libres generados y otros productos derivados de estos neutrófilos sinoviales contribuyen a aumentar más el daño en el proceso inflamatorio (13, 15).

- Autoxidación de catecolaminas; en ciertos procesos, como la isquemia cerebral, hay liberación regional de noradrenalina y de dopamina β-hidroxilasa de las terminaciones nerviosas en la zona de isquemia. Las Catecolaminas son degradadas por la enzima Monoamino Oxidasa (MAO), y ello envuelve un proceso oxidativo con producción excesiva de e⁻. En el proceso de reperfusión tisular, posterior a la isquemia, el O₂ puede actuar como agente receptor de e⁻ y producir radicales OH· y moléculas de H₂O₂ (13).
- Síntesis de prostaglandinas; en el metabolismo del ácido araquidónico, este puede ser metabolizado por ciclo-oxigenasas, o por lipo-oxigenasas, originando diversas sustancias con propiedades vasoactivas como prostaglandinas, tromboxanos, prostacilinas, leucotrienos. Durante la fase de transformación del ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos bajo la acción de la ciclo-oxigenasa se producirán radicales OH. Estos radicales OH pueden intervenir secundariamente en la cascada del ácido araquidónico, inhibiendo la ciclo-oxigenasa y favoreciendo la vía de formación del tromboxano A₂ que posee propiedades agregantes de las plaquetas (13, 15).
- Oxidación de Hipoxantina y Xantina hasta ácido úrico, la cual es catalizada por la Xantina Oxidasa, durante la cual se acopla una reducción del O₂ a O₂⁻:



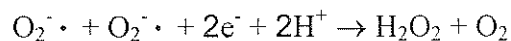
- Otras probables fuentes de radicales libres *in vivo* incluyen: la radiación ionizante ya descrita; productos de la detoxificación (reacción de drogas y toxinas) celular, fotosensibilizadores, contaminantes atmosféricos y productos de la combustión de materia orgánica (13, 14).

SISTEMAS FISIOLÓGICOS DE DEFENSA CONTRA LOS RADICALES LIBRES

En condiciones normales, las células cuentan con mecanismos de protección, enzimáticos y no enzimáticos, contra la producción de radicales libres (16, 17, 18).

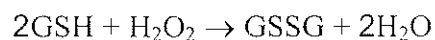
Entre los mecanismos celulares de protección enzimáticos se cuentan:

a) La enzima superóxido dismutasa (SOD). La misma se encarga de la reacción de dismutación del radical anión superóxido intracelular. La enzima pertenece a la familia de las metaloenzimas, catalizando la conversión de $O_2^{\cdot -}$ a H_2O_2 a través de la siguiente reacción (16):

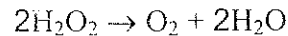


A la SOD se la ha encontrado en varias formas activas; una conteniendo manganeso, la cual se halla localizada en la matriz mitocondrial, y otra conteniendo cobre-zinc localizada en el citoplasma celular. A esta enzima se le ha encontrado presente en todos los organismos animales y vegetales que viven bajo condiciones aeróbicas (16, 18).

b) Catalasa y glutatión peroxidasa (GP) conforman el principal sistema enzimático intracelular de remoción de moléculas de peróxido de hidrógeno (19, 20). La catalasa se localiza a nivel de peroxisomas, y la glutatión peroxidasa a nivel del citosol y mitocondrias. El mayor riesgo de la presencia del H_2O_2 , es la producción del radical OH que es muy reactivo e inestable. A bajas concentraciones de H_2O_2 , este es removido por la glutatión peroxidasa en presencia de glutatión reducido (GSH), el cual es oxidado hasta glutatión oxidado (GSSG):

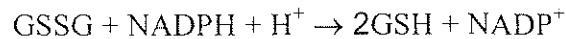


A altas concentraciones de H₂O₂, la catalasa se vuelve primordial en su remoción:



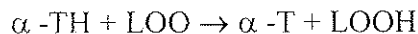
La enzima glutatión peroxidasa es selenio-dependiente, ya que un residuo de selenio-cisteína, esencial para la actividad de la enzima, está presente en el sitio activo de la misma (19, 20).

Simultáneamente a lo anterior, existe la enzima glutatión reductasa, una flavoproteína (Conteniendo Flavin Adenín Dinucleótido), regenera GSH a partir de GSSG, con el NADPH como la fuente reductora (19, 20):



Entre los mecanismos no enzimáticos encontramos:

a) El α -tocoferol o vitamina E, que se le ha descrito como antioxidante de la fase lipídica, ya que por ser liposoluble, se particiona con mucha facilidad hacia la membrana, y transforma especies muy reactivas como los radicales libres OH o peróxilos en formas menos reactivas. Actúa donando H⁺ al radical, y así confinando el efecto del radical; en adición, se producirá una forma de radical estable de vitamina E (17, 18):



La vitamina E se conoce como un elemento esencial en la dieta animal y humana. Una carencia sería conduce a daños neurológicos importantes en el hombre (17, 18).

b) El ácido ascórbico o vitamina C, antioxidante de fase acuosa, se localiza en altas concentraciones en ciertos órganos, especialmente en el ojo (17). A este elemento, se le han reconocido por mucho tiempo, propiedades antioxidantes, y protege contra daños oxidativos a

aceites de origen vegetal, grasas animales, alimentos con contenido elevado de grasas, etc. (17, 18).

Estas funciones de la vitamina C son derivadas mayormente de sus propiedades redox. El compuesto actúa donando hidrogeniones al radical libre, transformándose el ácido ascórbico (AH₂) en ácido dehidroascórbico (A), con la formación del radical ascórbilo (A[•]) como intermediario, molécula que actúa como radical libre, pero que normalmente es mantenido a bajas concentraciones en el plasma (17, 18).

c) La ceruloplasmina, proteína circulante portadora de cobre, que puede actuar como antioxidante extracelular (17, 18).

d) Existen otros compuestos no enzimáticos que han sido denominados "removedores de radicales libres o scavengers", que tienen en común, la de ser fácilmente oxidables. Entre ellos figuran la cisteína, el manitol, la tiourea, alopurinol, oxipurinol, hidroxitolueno butilado, desferoxamina, dimetilsulfóxido, dimetiltiourea, entre otros (13).

EL ESTRES OXIDATIVO

Un desbalance entre la producción de especies radicales libres y los sistemas de defensa antioxidantes (enzimáticos o no), conducirá a la producción incrementada de radicales libres favoreciendo la aparición del estrés oxidativo (5, 21).

El estrés oxidativo puede resultar de:

a) Disminución sustancial de antioxidantes, debido a malnutrición (carencias vitamínicas de C, E, riboflavina, etc.)(21).

b) Excesiva producción de radicales libres, ya sea por exposición a elevadas concentraciones de oxígeno o sometimiento a un proceso de respiración hiperbárica, presencia de toxinas que son metabolizadas para originar radicales libres, o por excesiva activación de sistemas productores de estos compuestos en condiciones fisiológicas (5, 21).

c) Por un estado de hipoxia e isquemia por reperfusión, mediante la activación de las fosfolipasas A y C (5, 21).

El estudio de los radicales libres, se ha enfocado desde el punto de vista médico y biológico, ya que las interacciones de estos compuestos con moléculas orgánicas han sido implicadas en un gran número de estados patológicos, los cuales pueden jugar un papel significativo en el daño tisular (21).

Algunas de las patologías vinculadas con el estrés oxidativo en el humano son (13, 21):

- Por bajos niveles de selenio y una enzima dependiente del selenio (glutatión peroxidasa)
 - Alcoholismo
 - Cáncer
 - Fibrosis quística
 - Enfermedades cardiovasculares
 - Infertilidad
 - Enfermedad de Crohn
 - Artritis reumatoide
 - Cataratas
 - Envejecimiento
- Por disminución de superóxido dismutasa
 - Cáncer
 - Enfermedades cardiovasculares
 - Hepatitis
 - Diabetes

Distrofia muscular Duchenne
Síndrome del distress respiratorio del adulto
Manifestaciones psiquiátricas
Síndrome de Down
Falla renal
Infertilidad
Cataratas
Enfermedades reumáticas
Enfermedad de motoneuronas

• Por bajos niveles de antioxidantes totales

Daño y enfermedad hepática
Enfermedades respiratorias
Bebés prematuros
Fumadores (tienen valores disminuidos de vitamina C)

LOS RADICALES LIBRES Y EL PROCESO DE PEROXIDACION LIPIDICA

El daño celular que resulta de una producción excesiva de radicales libres de oxígeno (estrés oxidativo), ha tratado de ser explicado como una consecuencia de una alteración a la membrana plasmática a través de la oxidación de los residuos de ácidos grasos de la bicapa lipídica (22, 23), proceso que se ha convenido en denominar *peroxidación lipídica* ó *lipoperoxidación*.

Se considera que la peroxidación lipídica ocasiona cambios en la composición química, y deterioros en la organización ultraestructural de las membranas celulares, disminuyendo la fluidez de las mismas, alterando su permeabilidad e inactivando receptores y enzimas unidas a la membrana (22, 23).

El proceso de peroxidación puede ser inducido en una variedad de sistemas *in vivo* e *in vitro*, a través de diversos procesos tales como; el metabolismo de agentes químicos

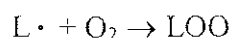
reductores, o durante la alteración de la homeostasis celular normal como es el caso del daño producido por la isquemia-reperfusión tisular, o la ausencia de calcio extracelular (22).

El mecanismo intrínseco de la peroxidación lipídica puede describirse como sigue (23):

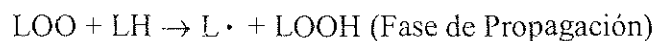
En la **Fase de Iniciación**, hay la remoción de un hidrógeno alílico desde un residuo de ácido graso poli-insaturado (LH) por alguna de las especies de radicales libres derivadas del oxígeno; el átomo de hidrógeno es un radical libre por sí mismo, y su remoción deja un electrón desapareado en el átomo de carbono atacado:



El radical carbonilo resultante ($\text{L}\cdot$) sufre rearrreglos moleculares, originando un dieno conjugado, y en presencia de oxígeno molecular da lugar al radical peróxilo ($\text{LOO}\cdot$):



El radical peróxilo puede sustraer un átomo de hidrógeno de otra molécula vecina (LH), la cual puede ser otro ácido graso insaturado, formándose así un hidroperóxido (LOOH) y un nuevo radical lipídico ($\text{L}\cdot$), entrando la peroxidación en una **Fase de Propagación**:



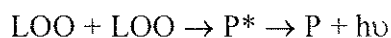
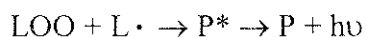
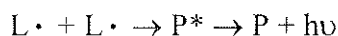
El grado de propagación de la reacción dependerá de varios factores, entre ellos la relación lípido-proteína en la membrana (la oportunidad de reaccionar un radical libre con una proteína de membrana, se incrementa al aumentar el contenido de proteína), de la composición de ácidos grasos, de la concentración de oxígeno, de la presencia de antioxidantes que inhiban

la propagación de la reacción, y de la presencia de metales de transición como el hierro o cobre (22, 23).

El hidroperóxido lipídico puede en adelante degradarse a una variedad de productos. Además, en presencia de metales de transición, el hidroperóxido produce un radical alcóxilo ($LO\cdot$) y un radical hidróxilo ($OH\cdot$), los cuales causan la **Fase de Ramificación** de la reacción, involucrando un mayor número de moléculas de sustrato en la peroxidación (22):



Cuando la concentración de moléculas de sustrato se hace pequeña, los radicales libres comienzan a reaccionar entre sí, en distintas combinaciones provocando la formación de productos excitados (P^*). El paso de estos productos excitados a su estado estable (P) ocurre con la emisión de cuantos de luz visible ($h\nu$). Estas reacciones reciben el nombre de **reacciones de terminación**, y con ellas concluye la reacción en cadena mediada por radicales libres (22):



Aunque, los residuos de ácidos de ácidos grasos de la membrana celular son afectados por los radicales libres derivados del oxígeno, el papel o la importancia de la peroxidación lipídica en los procesos que conducen a muerte celular permanece aún sin dilucidarse en su totalidad. Por esta razón, han sido propuestos otros compuestos celulares que pueden sufrir ataque por parte de los radicales libres que incluyen, los ácidos nucleicos y las glicoproteínas (22, 23).

RADICALES LIBRES, PATOLOGIAS HUMANAS Y ANIMALES

Es interesante y crucial mencionar que el interés actual por el estudio de la acción de los radicales libres, y de la peroxidación lipídica sobre las membranas biológicas y sobre distintas estructuras celulares, se debe a que ha sido demostrado que estos procesos juegan un papel prominente en diversas patologías, a saber: envejecimiento celular, toxicidad del oxígeno, acción tóxica de muchas drogas, enfermedades neurológicas como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, el síndrome de Down; en el cáncer, diabetes mellitus, aterosclerosis, colitis ulcerativa, enfisema pulmonar, preeclampsia-eclampsia, catarata ocular, malaria, en casos de transplantes de órganos como riñón y corazón, artritis reumatoide, síndrome de diestres respiratorio del adulto, enfermedades autoinmunes, isquemia cerebral y cardíaca, y hasta en el mismo síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (5, 6, 13, 14).

Es muy conveniente señalar aquí, que el incremento en la lipoperoxidación puede ser la consecuencia de una patología dada, o puede ser la responsable de la aparición de dicha patología (22, 23).

El estrés oxidativo ocurre como se ha descrito en un amplio rango de patologías humanas y animales. El entendimiento del papel jugado por los radicales libres en diversas patologías aún esta en sus inicios, mayormente debido a la carencia de métodos precisos de diagnóstico y estudio aplicables en los seres humanos. La terapia antioxidante promete un enfoque terapéutico útil, sobre todo en patologías donde otros tratamientos son poco efectivos (5, 6, 13, 14, 20, 21, 22, 23).

ASPECTOS FUTUROS

La hipótesis de los segundos mensajeros:



Si bien es cierto que los radicales libres producidos en cantidades excesivas tienen efectos nocivos, como lo es el caso del radical hidróxilo, no menos cierto es el papel que juegan el óxido nítrico o el radical anión superóxido en cantidades mínimas (23).

Hay crecientes evidencias que señalan que aparte de los fagocitos, hay otras células que producen aniones superóxido a muy bajas concentraciones. Se ha propuesto que esta producción de anión superóxido pudiera relacionarse a reacciones del óxido nítrico, el cual es otro radical estable que actúa como mensajero *in vivo*. El blanco fisiológico del óxido nítrico es el grupo heme- de la guanilato ciclasa soluble, la cual regula, vía del GMP_c, una gran variedad de procesos intracelulares. El sólo hecho que estos radicales pudieran participar en eventos de señalización biológicos, abre nuevas e interesantes áreas de investigación futura (23).

De actualidad también resulta el hecho, de los estudios que se realizan sobre la acción de radicales libres originados a partir de contaminantes atmosféricos. El ozono (O₃) presente en la atmósfera de las ciudades excesivamente contaminadas (caso de la Ciudad de México), reacciona con los ácidos grasos poli-insaturados de los fosfolípidos de las membranas, y libera numerosos compuestos tóxicos. En presencia de agua, se origina peróxido de hidrógeno, responsable de la producción de radicales hidróxilo (23).

El ozono puede fijarse así sobre células fagocíticas de los pulmones, e inducir la producción de radicales libres. Más interesante aún, es lo demostrado recientemente acerca de que ciertas moléculas, particularmente el radical nitrato (NO₃•), que puede ser producido durante la noche en circunstancias favorecedoras como las existentes en las zonas costeras contaminadas y en las grandes capitales (23).

Se han realizado diversas investigaciones para determinar la eficiencia antioxidante en humanos y ratas de varios compuestos, como son vitaminas, enzimas y drogas; en los últimos años se ha estudiado un compuesto que incluso se le llegó a considerar una vitamina: ácido lipoico. Algunos lo denominan el “antioxidante metabólico universal”.

α -ACIDO LIPOICO

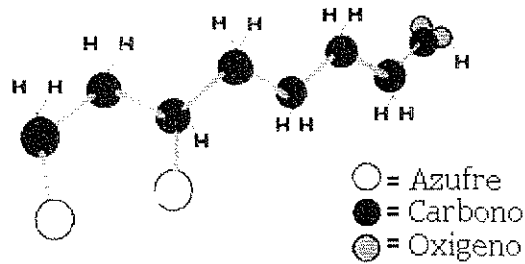


Figura 1: Modelo molecular del ácido lipoico

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El α -ácido lipoico (Figura 1) es también conocido como ácido lipoico, lipoato, α -lipoato, DL- α -ácido lipoico, ácido tioctico, DL-6,8-ácido tioctico, 1,2-ditioilano-3-ácido pentanoico, 1,2-ditioilano-3-ácido valérico, tioctan, tioctácido y biletán (24).

Se sabe desde la década de 1950 que es un factor esencial en el metabolismo oxidativo. Existen reportes de compuestos que mostraron la misma actividad biológica desde 1937. Estos compuestos fueron denominados “factor de crecimiento de la papa” (1937), “factor remplazador de acetato” (1946), “factor de oxidación del piruvato” (1952) y “protogen A” (1949). En 1951, Reed y sus colegas informaron la purificación del α -ácido lipoico. Se reconoció que el “factor de crecimiento de la papa”, el “factor remplazador de acetato”, el “factor de oxidación del piruvato” y el “protogen A” fueron todos probablemente el mismo compuesto: α -ácido lipoico (24, 25).

El α -ácido lipoico se encuentra como lipoamida en cinco proteínas en células eucariontes, donde está unido covalentemente al residuo lisil. Cuatro de estas proteínas se encuentran en los tres complejos α -cetoácidos deshidrogenasas, el complejo piruvato deshidrogenasa (CPD), la rama del complejo ceto ácido deshidrogenasa y el complejo α -ceto glutarato deshidrogenasa. Tres están en la enzima E2, dihidrolipoil aciltransferasa, la cual es

diferente en cada una de los complejos y específicamente para los sustratos del complejo. Uno se encuentra en la proteína X, la cual es la misma en cada complejo. La quinta lipoamida se encuentra en el sistema de partición de la glicina (24, 25).

PARTICIPACION DEL ACIDO LIPOICO EN EL METABOLISMO

Se sabe que es un cofactor esencial en el metabolismo oxidativo, participando con varios complejos enzimáticos. En la figura 2 se muestra su estructura molecular.

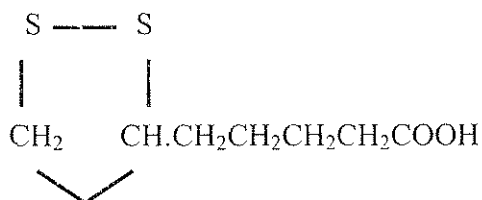


Figura 2. Estructura molecular del α -ácido lipoico.

A. α -CETO ACIDO DESHIDROGENASAS

El complejo α -ceto deshidrogenasas son compuestos de copias múltiples de tres enzimas: el alfa-ceto ácido deshidrogenasa o E1; el dihidrolipoil aciltransferasa o E2; y el dihidrolipoil dehidrogenasa o E3. Estas tres enzimas catalizan cinco reacciones que oxidativamente descarboxilan estas sustancias. La lipoamida está involucrada como un mediador en el cual un grupo acil es atacado; transfiriendo desde tiamina pirofosfato en E1 a coenzima A para producir acil-CoA. En el proceso, la lipoamida es reducida, con la ruptura de la unión disulfuro. E3 es la enzima que reoxida la lipoamida en otra vuelta de catálisis usando NAD^+ , el cual es convertido a NADH (24).

B. PROTEINA X

Cada CPD contiene alrededor de seis copias de proteína X, que contienen un dominio al que α -lipoato es unido y que puede aceptar un grupo acetil. Sin embargo la proteína X no tiene actividad catalítica, y el sitio directo de mutagénesis revela que la eliminación de este grupo lipoil no afecta la actividad catalítica del CPD. La proteína X parece jugar un papel estructural, ayudando en la unión de la E3, que es esencial para la actividad del CPD. La proteólisis limitada de la proteína X, disminuye la habilidad de unión de la E3 (24).

C. SISTEMA BARREDOR DE LA GLICINA

El sistema barredor de la glicina (Figura 3), cataliza la oxidación de glicina a CO_2 , amoniaco, formando NADH y 5, 10-metilentetrahidrofolato. Este contiene cuatro proteínas, las P, H, T, y L; el α -lipoato esta covalentemente unido a la lisina en la H-proteína y está involucrado en la transferencia de metilamina formada después de la descarboxilación oxidativa de la glicina. Estos son cuatro residuos altamente conservados cerca del sitio de lipoilación (Lys59) en la H-proteína: Gly43, Gly70, Glu56, y Glu63 (24).

D. ¿LA DIHIDROLIPOAMIDA DEHIDROGENASA CUMPLE UN PROPOSITO FUERA DE LOS COMPLEJOS MULTIENZIMATICOS?

La dihidrolipoamida deshidrogenasa del complejo α -cetoácido deshidrogenasa y el sistema barredor de la glicina son el componente que oxida la dihidrolipoamida a lipoamida. La reacción puede también ir en dirección inversa a expensas del NADH. Los siguientes, son reportes de la actividad dihidrolipoamida que no son asociados con el complejo α -cetoácido deshidrogenasa o el sistema barredor de la glicina. La archaeobacteria no tiene alguno de estos

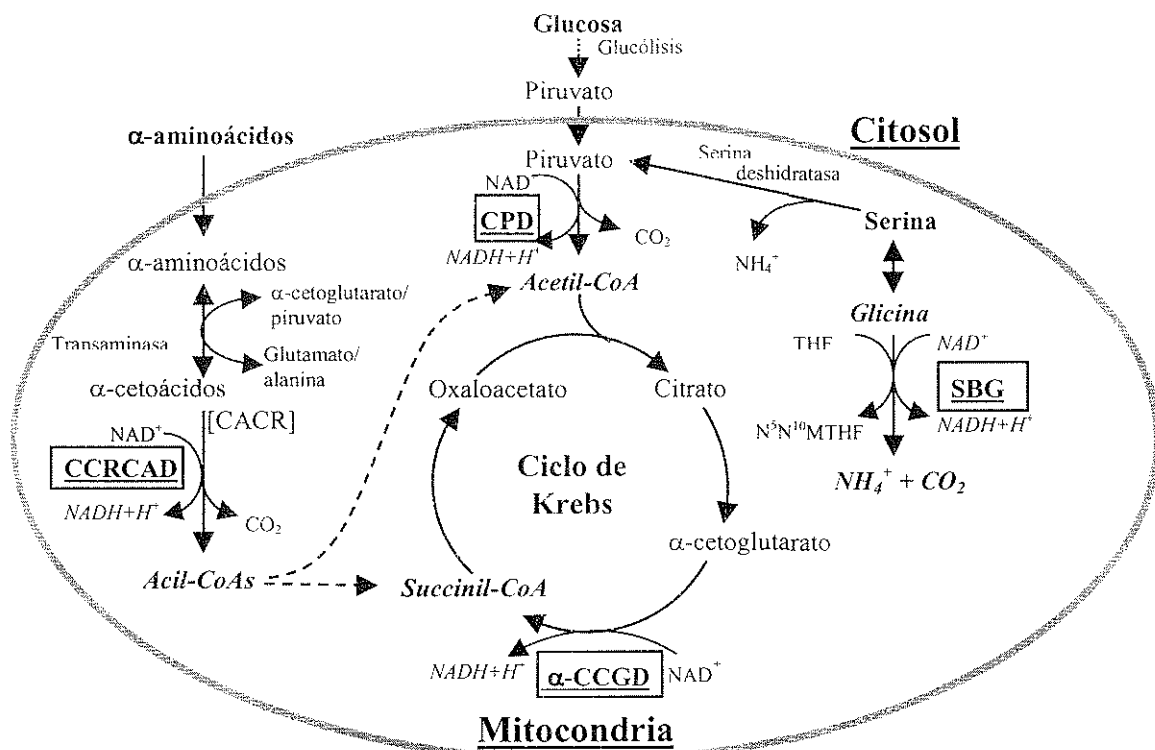


Figura 3. Sitios de acción del α -ácido lipoico en el metabolismo energético. CPD, complejo piruvato deshidrogenasa; α -CCGD, complejo α -cetoglutarato deshidrogenasa; CCRCAD, complejo cadena ramificada del α -cetoácido deshidrogenasa; SBG, sistema barredor de la glicina; CACR, α -cetoácidos de cadena ramificada; THF, tetrahidrofolato; N^5N^{10} MTHF, N^5N^{10} -metilén tetrahidrofolato.

complejos; sin embargo, la dihidrolipoamida deshidrogenasa se encuentra en las archaeobacteria halofílicas, termoacidofílicas y metanofílicas. En la archaeobacteria termoacidofílica *Thermoplasma acidophilum*, la enzima parece estar asociada con la membrana plasmática. La dihidrolipoamida deshidrogenasa también es purificada desde *Escherichia coli*, donde es ocupada en mutantes que no contienen normalmente la enzima, asociada con los complejos piruvato y ácido α -cetoglutarato deshidrogenasa. Esta enzima también localizada en la membrana plasmática, sugiere estar involucrada en la unión de proteínas transporte-dependientes. Además, las células eucarióticas contienen dihidrolipoamida no asociada con los complejos multienzimáticos. El parásito que causa la enfermedad del sueño, *Trypanosoma brucei*, contiene una única mitocondria que no tienen los complejos multienzimáticos. Se sabe

sin embargo, que estos tienen dihidrolipoamida deshidrogenasa asociada con la membrana plasmática y, además contienen ácido lipoico (presumiblemente es el sustrato de la enzima) (24).

No se sabe la función de esta dihidrolipoamida deshidrogenasa asociada a la membrana plasmática. En *E. coli* parece estar asociada con el transporte de azúcar. Se especula que en eucariontes puede ser relacionado con el transporte de hexosa estimulado por insulina. Aunque la función de dihidrolipoamida deshidrogenasa en transporte de hexosa permanece especulativa, es interesante hacer notar que varios grupos de investigación han publicado aumento de glucosa en estudios *in vitro* e *in vivo* en animales y humanos con diabetes tipo II (no insulino dependientes) tratados con α -ácido lipoico, un sustrato de la dihidrolipoamida deshidrogenasa que pudo estar involucrado en el cambio del tiol-disulfuro (24).

E. REDUCCION DE α -ACIDO LIPOICO EXOGENO

Mucho del interés actual del α -ácido lipoico se centra en los efectos de su forma libre, compuesto no unido a proteínas, que se suplementa exógenamente a sistemas celulares, animales y humanos. Se descubrió que la suplementación exógena de α -lipoato se absorbe, es transportado a los tejidos y reducido a dihidrolipoato, parte del cual se libera en el espacio extracelular.

La enzima E3 mitocondrial, la dihidrolipoamida deshidrogenasa de las α -cetoácido deshidrogenasas mitocondriales son capaces de reducir α -ácido lipoico a dihidrolipoico, a expensas del NADH (Figura 4). Esta reacción es en dirección inversa de la normalmente catalizada por la enzima en estos complejos multienzimáticos. Estas enzimas muestran una marcada preferencia natural por el enantiomero R del α -lipoato. Glutación reductasa, principalmente en el citosol, cataliza la reducción del glutatión oxidado, a expensas del NADPH. Estas enzimas catalizan también la reducción del α -ácido lipoico, aunque en muy poca proporción que con el sustrato natural, con una preferencia por el enantiomero S del α -

lipoato. Los tejidos varían en sus proporciones de NADH dependientes ó NADPH dependientes para la reducción de α -lipoato, y la variación corresponde con el contenido de mitocondrial. Tejidos con gran densidad de mitocondrias, tienen una elevada proporción de reducción NADH dependiente, presumiblemente por un gran contenido de dihidrolipoamida deshidrogenasa (24).

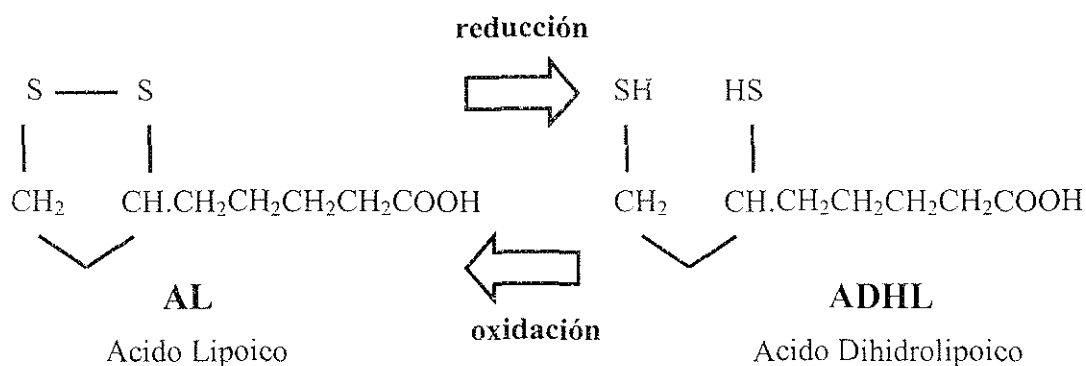


Figura 4. Reacción de óxido-reducción del ácido lipoico y ácido dihidrolipoico.

F. OTROS EFECTOS METABOLICOS DE α -ACIDO LIPOICO EXOGENO

Se sabe que esta lipoamida exógena, mejora drásticamente la recuperación funcional en el corazón de rata isquémico. Este efecto es probablemente debido a los efectos en el metabolismo alterado en el tejido isquémico; es decir, este activa el complejo piruvato deshidrogenasa, aumentando la oxidación del piruvato, y activa el ciclo de Krebs ó ciclo tricarboxílico, probablemente disminuyendo la proporción de acetil-CoA/CoA en la mitocondria actuando como un grupo acetil aceptor. El α -lipoato también mejora la recuperación en corazones isquémicos-reperfundidos, y esto es posible porque al menos parte del mecanismo es por medio una acción metabólica semejante a la lipoamida, además a los efectos antioxidantes (24).

PROPIEDAD ANTIOXIDANTE

A. α -ACIDO LIPOICO

El α -ácido lipoico barre de radicales hidroxilo, oxígeno singulet, ácido hipocloroso y óxido nítrico. Además, quelata metales de transición (24, 26, 27, 28, 29, 30, 31).

El α -ácido lipoico es un potente barre de radicales hidroxilo. Estudios en laboratorio con un nuevo compuesto produciendo radical hidroxilo: N,N'-bis(2- hidroperoxi-2-metoxietil) -1,4,5,8 -naftaleno -diamida tetracarboxilico (NP-III), confirma que el α -lipoato es un barre de radicales hidroxilo y elimina la posibilidad que el efecto es simplemente debido a la quelación de metales (31). El NP-III produce radicales hidroxilo en iluminación con luz ultravioleta. Estas determinaciones se hicieron por mediciones de la oxidación en albúmina de suero bovino y apolipoproteína B de baja densidad de humano (24).

De manera similar se reporta la habilidad del α -ácido lipoico como barre de ácido hipocloroso (HOCl). Si bien, el glutatión reducido es un potente barre de HOCl, la forma oxidada, no lo es. Los autores de este estudio especulan que la gran reactividad del α -ácido lipoico comparado con el glutatión oxidado ó disulfuro (GSSG) tal vez es debido a algún ***** de conformación de los cinco miembros del anillo en la forma intramolecular oxidada del α -ácido lipoico. Esto no pasa en el disulfuro intermolecular del glutatión oxidado, quizá explica esta falta de reactividad en este sistema (26, 27).

El α -ácido lipoico, es un barre del oxígeno singulet en al menos cuatro diferentes sistemas. Los primeros estudios muestran que el ácido lipoico reacciona con el oxígeno singulet generado por la autooxidación del rubreno, o por oxidación fotosensible del metileno. Estos experimentos fueron llevados a cabo en solventes orgánicos. Posteriores estudios hechos en condiciones más fisiológicas también mostraron que el ácido lipoico es un barre efectivo del oxígeno singulet (24, 26, 27).

Además, se ha observado que el ácido lipoico disminuye la producción de óxido nítrico en macrófagos. Los macrófagos se incubaron con lipopolisacáridos y varias dosis de ácido lipoico durante 24 horas. A dosis alrededor de 200 μM , tuvo un efecto significativo en la producción de óxido nítrico, y con más del 50% de inhibición a 0.5 mM (24, 28).

El ácido lipoico también puede ejercer un efecto antioxidante en sistemas biológicos por medio de la quelación de metales de transición. Algunos estudios mencionan la disminución de Cd^{2+} , induciendo la toxicidad en hepatocitos aislados, aunque los autores especulan que el efecto se debió a la conversión de α -ácido lipoico a dihidrolipoato, el cual fue el verdadero agente quelante. Otro estudio fundamenta que el ácido lipoico inhibe el sitio específico de degradación de la desoxirribosa por un sistema $\text{FeCl}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{ascorbato}$, indicando que este fue capaz de remover los iones hierro unidos a la desoxirribosa. El α -lipoato forma complejos estables con Mn^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} . También se han examinado los complejos formados con bisnorlipoato y tetranorlipoato, que son homólogos cortos de dos y cuatro carbonos del ácido lipoico respectivamente. Estos demostraron ser más estables que con ácido lipoico, presumiblemente porque las cadenas cortas también participan en la quelación permitido por el anillo ditiolano (31).

B. ACIDO DIHIDROLIPOICO

Con un potencial redox de 0.32 V para reducción LA/ADHL, el ácido dihidrolipoico es un potente reductor; en comparación, el potencial redox del GSSG/GSH es de 0.24 V. El ADHL reduce GSSG a GSH, pero el GSH es incapaz de reducir α -ácido lipoico a ADHL. El ADHL es un barredor, al igual que el α -lipoato del ácido hipocloroso, radical peroxilo, hidroxilo, anión superóxido y óxido nítrico (24, 32).

En los sistemas en los cuales el ácido lipoico fue probado para reaccionar con el ion hipocloroso, el ADHL también demostró tener la misma habilidad antioxidante. El ADHL es un inactivador efectivo de radicales peroxilo en varios sistemas diferentes. En un estudio, en el

cual generaron radicales peroxilo en sistemas lipídicos o acuosos, demostraron que el ADHL es un eficiente inactivador en los dos sistemas (33).

Usando NP-III en un sistema similar al utilizado con α -lipoato, el ADHL resultó ser un efectivo barredor de radicales hidroxilo (24).

En otro estudio, en el cual se generó anión superóxido por la xantina-xantina oxidasa, se cita la reacción del ADHL con el radical superóxido. Esta reacción se confirmó analizando la disminución del sulfidrilo contenido del ADHL y por el aumento de H_2O_2 . Estos resultados se comprobaron en un estudio posterior, utilizando el mismo sistema para la generación del radical superóxido y, compitiendo con la oxidación de epinefrina se evaluó la capacidad de inactivación del ADHL. En contraste con estos resultados, en un sistema similar generador de superóxido, y mediante la detección del radical superóxido dependiente de la reducción de azul nitro tetrazolium; no se encontró efecto del ADHL. Para esto no se encontró una explicación satisfactoria en la discrepancia de los resultados (24)

Similar a la capacidad del α -lipoato, se observó que el DHLA reaccionó con el óxido nítrico (24).

C. INTERACCIONES REDOX CON OTROS ANTIOXIDANTES

El ADHL parece ser capaz de regenerar otros antioxidantes de forma indirecta, como ascorbato y vitamina E. La vitamina E es el principal antioxidante que protege a las membranas de la lipoperoxidación. La vitamina E existe en membranas biológicas a baja proporción molar en fosfolípidos insaturados, usualmente menor que 0.1 nanomoles por miligramo de proteína de membrana o, en otras palabras, una molécula por 1000 a 2000 moléculas de fosfolípidos de membrana, que son el principal blanco de oxidación en las membranas. Los radicales lipoperoxilos pueden generarse en las membranas a la velocidad de 1-5 nanomoles por miligramo de proteína de membrana por minuto, sin embargo, la oxidación

destruccion de los lipidos de membrana no sucede normalmente, ni la deplesi3n r3pida de la vitamina E. Adem3s, los estados de deficiencia de vitamina E son notablemente difciles de inducir en animales adultos. Esta aparente paradoja puede explicarse por el "reciclaje de la vitamina E", en donde la habilidad antioxidante de la vitamina E, es curiosamente restablecida por otros antioxidantes. Los antioxidantes que restablecen a la vitamina E son; la vitamina C, ubiquinoles y tioles (34, 35, 36).

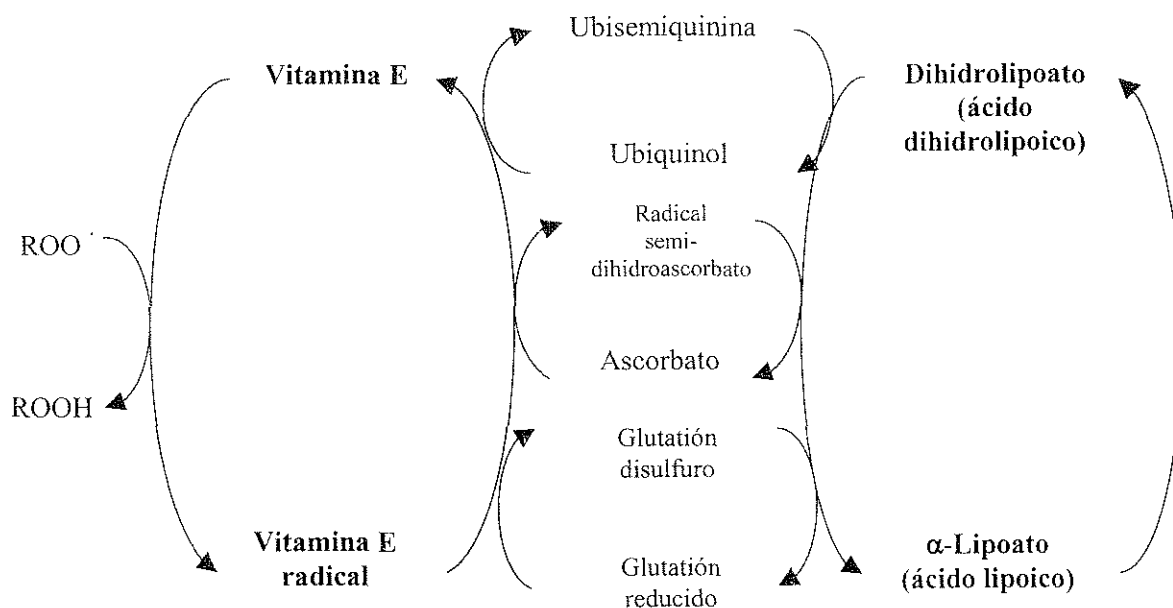


Figura 5. Vias por las cuales el dihidrolipoato restablece a la vitamina E y otros antioxidantes. El lipoato es reducido a dihidrolipoato por el NADH dependiente de la dihidrolipoamida deshidrogenasa (la enzima E3 del complejo α -ceto3cido deshidrogenasa) y tambi3n por el NADPH dependiente de la glutati3n reductasa.

La evidencia para el reciclaje de la vitamina E por el ADHL, procede de varios estudios. El ADHL protege contra la lipoperoxidaci3n microsomal, pero solo en presencia de vitamina E. El ADHL prolonga el retraso de la fase anterior al inicio del nivel bajo de quimioluminiscencia, p3rdida de vitamina E y la r3pida acumulaci3n de sustancias reactivas al 3cido tiobarbiturico in microsomas normales, pero no en las deficientes de vitamina E. El α -3cido lipoico no fue efectivo en ninguno de los sistemas. El ADHL puede ejercer este efecto



en estos sistemas por reducción directa del radical tocoferoxilo o por reducción de otros antioxidantes como el ascorbato, el cual después regenera a la vitamina E. Este puede tener una débil interacción directa entre el ADHL y el radical tocoferoxilo. El uso de luz ultravioleta, que produce directamente radicales tocoferoxilo, elimina la posibilidad de quelación del hierro o el efecto de otros antioxidantes, y el uso de liposomas elimina la posibilidad de acción del ADHL a través de otros antioxidantes. Por lo tanto, en este sistema es probablemente similar que el ADHL, que participa principalmente en fase acuosa, reduciendo directamente radicales tocoferoxilo por la superficie interna de la membrana, compuesta de agua. Sin embargo el efecto es pequeño, y la mayor capacidad de reciclaje de vitamina E por el ADHL en sistemas biológicos, probablemente es a través de otros antioxidantes (34, 35, 36).

Se sugiere que el ADHL previene la lipoperoxidación por reducción del glutatión oxidado, que a su vez restablece a la vitamina E. Esta propuesta se basa en la acción de la combinación de ADHL y glutatión oxidado, pero no del ADHL solo; los cuales previenen la lipoperoxidación inducida por ascorbato de Fe^{2+} . Alternativamente en 1992, Kagan propone que el ADHL protege a las membranas contra la oxidación por el reciclaje de ascorbato, que a su vez restaura a la vitamina E (figura 5). Estos estudios también muestran que el ADHL interactúa con NADPH o NADH dependientes de la cadena de transporte de electrones para reciclar la vitamina E. El reciclaje de la vitamina E dependiente del ascorbato por el ADHL, también se observa en lipoproteínas de baja densidad de humano y membranas de eritrocito. Además, la evidencia muestra que la administración *in vivo* de α -ácido lipoico puede aumentar el nivel de ubiquinol en la fase de estrés oxidativo; y que el ubiquinol recicla a la vitamina E. De aquí, que se señale actualmente la evidencia que el contenido de ADHL puede restablecer la vitamina E vía glutatión, vitamina C, o ubiquinol; pero la contribución relativa de cada vía, no son bien definidas (34, 35, 36, 37).

El α -ácido lipoico también causa un aumento intracelular de glutatión. Peinado *et al* (25) demostraron que los tioles aparecen en la perfusión cuando el α -lipoato fue infundido en el hígado, pero la naturaleza exacta de los tioles no fue identificada. La adición de ácido

lipoico a líneas celulares de neuroblastoma y melanoma, observaron a dosis dependientes el aumento de 30 a 70% el contenido de GSH, comparándolo con controles sin tratamiento. Estos investigadores fundamentan evaluaciones similares en células de pulmón, hígado y riñón. Estos resultados se confirmaron en líneas celulares Juncat de humano, donde las concentraciones intracelulares de GSH aumenta en aproximadamente 50%, 5 horas después de la adición de ácido lipoico al medio de cultivo. Tales elevaciones de GSH no pueden ser explicadas por una reducción de GSSG, porque la concentración de GSSG normalmente es menor al 10% de la concentración de GSH. Siguiendo con el medio de cultivo celular, el α -lipoato es tomado por las células y reducido a dihidrolipoato. El dihidrolipoato intracelular es liberado rápidamente al medio de cultivo rico en cistina, donde este aminoácido es reducido al aminoácido cisteína, que es un precursor para la síntesis de glutatión. La reducción extracelular de cistina a cisteína y la rápida entrada de este último a la célula para estimular la síntesis de glutatión, tal vez es una posible vía del aumento de glutatión intracelular, como respuesta al tratamiento con α -ácido lipoico (38, 39, 40).

D. EL ACIDO LIPOICO COMO UN ANTIOXIDANTE METABOLICO

Son dos vías por las cuales el α -lipoato está íntimamente conectado al metabolismo celular y al estado redox. Como se señaló anteriormente, se conoce en forma amplia la participación del ácido lipoico en el metabolismo oxidativo. El poder de reducción del α -lipoato exógeno a ADHL procede del NADH y el NADPH; el α -ácido lipoico puede modular las proporciones de NADH/NAD⁺ y de NADPH/NADP⁺, y estos afectan varios aspectos del metabolismo celular (24, 26, 28, 29).

El α -ácido lipoico tiene varias características que, en combinación, hacen de este un “antioxidante ideal” único. Es soluble en medios acuosos y lipídicos; es fácilmente absorbido de la dieta, transportado, tomado por las células y reducido a dihidrolipoato en varios tejidos. El ADHL formado es exportado y puede proveer de una protección antioxidante al compartimento extracelular y a células próximas. El ADHL es capaz de afectar un amplio

rango de antioxidantes, como glutatión, vitamina C, ubiquinol e indirectamente vitamina E. Esta combinación de cualidades hace del ácido lipoico una intrigante posibilidad para el tratamiento de una multitud de condiciones relativas al estrés oxidativo (24, 26, 28, 29).

JUSTIFICACION

Los avances que se han obtenido en la investigación sobre la fisiología del pollo de engorda, así como los antecedentes presentados (que mencionan una excesiva producción de RL), ello permite utilizar a estos como un modelo biológico para estudiar algunas alternativas que se han practicado en otras especies (roedores y el humano) para disminuir el cuadro de estres oxidativo; tal es el caso del ácido lipoico. Debido a los beneficios que este proporciona se comercializa actualtualmente para consumo humano en E.U.A. y Europa. Es pertinente aclarar, que no existe información sobre la utilización de ácido lipoico en la premezcla vitamínica del pollo de engorda.

Con relación a los antecedentes citados y dado que este estudio nos da la posibilidad de conocer más acerca de su función fisiológica en el pollo de engorda, se presenta el presente trabajo de investigación.

OBJETIVOS

Establecer como posible indicador del estatus oxidativo del pollo de engorda, el grado de lipoperoxidación así como los niveles de glutatión del hígado.

Evaluar los efectos del ácido lipoico a través de la producción de especies reactivas al ácido tiobabitérico (TBARS por sus siglas en inglés), sobre el nivel de lipoperoxidación y sobre los niveles de GT en hígado del ave.

Evaluar si la adición de ácido lipoico en el alimento, mejora la eficiencia productiva del pollo de engorda.

HIPOTESIS

La utilización del ácido lipoico en el alimento favorece el aumento de los niveles de GT y reduce el grado de lipoperoxidación en el hígado de las aves.

La utilización del ácido lipoico mejora los índices productivos del pollo de engorda.

OBJETIVOS

Establecer como posible indicador del estatus oxidativo del pollo de engorda, el grado de lipoperoxidación así como los niveles de glutatión del hígado.

Evaluar los efectos del ácido lipoico a través de la producción de especies reactivas al ácido tiobabitérico (TBARS por sus siglas en inglés), sobre el nivel de lipoperoxidación y sobre los niveles de GT en hígado del ave.

Evaluar si la adición de ácido lipoico en el alimento, mejora la eficiencia productiva del pollo de engorda.

HIPOTESIS

La utilización del ácido lipoico en el alimento favorece el aumento de los niveles de GT y reduce el grado de lipoperoxidación en el hígado de las aves.

La utilización del ácido lipoico mejora los índices productivos del pollo de engorda.

MATERIAL Y METODOS

El desarrollo de este estudio contempló fundamentalmente dos partes, una denominada de campo y otra de laboratorio:

FASE DE CAMPO

Tuvo una duración de 49 días que comprendieron los meses de Marzo, Abril y Mayo de 1999. Se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPA), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en Santiago Zapotitlán, delegación Tlahuac en el Distrito Federal a una altura de 2235 metros sobre el nivel del mar. El clima de la región está clasificado como templado subhúmedo, con bajo grado de humedad, con una precipitación media anual de 600 a 800 mm; siendo Enero el mes más frío y Mayo el más caluroso (41).

Se utilizó una caseta experimental de ambiente natural con piso de cemento, cortinas de lona y focos incandescentes; que previo a la llegada del pollo se lavó, encaló y desinfectó. El equipo utilizado fue: comederos de plato y bebederos de 3 litros en la recepción, manteniéndolos durante la primera semana de edad; posteriormente se cambiaron a comederos tipo tolva y bebederos automáticos de campana durante el resto del ciclo. Se recibió al pollo en el primer día con electrolitos junto con vitaminas en el agua de beber y, durante las primeras cuatro semanas de vida se les proporcionó calor con criadoras infrarrojas de gas.

Se emplearon 1032 pollos mixtos de un día de edad (Avian Farm –macho- X Arbor Acres –hembra-), provenientes de una incubadora comercial, se tomó una muestra representativa al azar para su pesaje (42 g) y posteriormente se distribuyeron aleatoriamente en 24 corrales (unidades experimentales) con cama de viruta. El programa de alimentación comprendió dos etapas, una de iniciación (del primer día al 21 de edad) y otra de finalización (del día 22 al 49); las dietas se formularon basándose en sorgo, soya y gluten de maíz (Cuadro

2); cubriendo las necesidades de nutrientes (Cuadro 3) señalados por Cuca *et al.* (42) para pollo de engorda. El acceso al alimento y agua de bebida fue *ad libitum*. Las dietas se elaboraron en la planta de alimentos del CEIEPA.

En el estudio se emplearon cuatro tratamientos:

Tratamiento 1 alimento basal ó testigo (sin ácido lipoico)

Tratamiento 2 alimento basal + 10 ppm de ácido lipoico

Tratamiento 3 alimento basal + 20 ppm de ácido lipoico

Tratamiento 4 alimento basal + 40 ppm de ácido lipoico

A partir de la dieta basal que se muestra en el testigo, se elaboraron 3 dietas experimentales por etapa, a cada tratamiento se sometieron grupos de 258 pollos, repartidos en 6 repeticiones de 43 animales cada uno. La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales fue completamente aleatoria.

Los pollos se pesaron en la primera, tercera, quinta y séptima semanas. Los datos de mortalidad se registraron diariamente, posterior a la determinación de la causa de la muerte: por síndrome ascítico u otros factores; también se determinaron los consumos de alimento y ganancias de peso en las semanas señaladas anteriormente.

Semanalmente se tomaba una muestra de un pollo por repetición, para su sacrificio; con la finalidad de hacer las determinaciones a partir del hígado en el laboratorio.

El manejo médico consistió en la inmunización contra la enfermedad de Newcastle a los 12 y 18 días de edad (vacuna vía ocular y emulsionada vía subcutánea en el primer tercio posterior del cuello) y contra la enfermedad de Infección de Bolsa de Fabricio a los 18 días de edad en el agua de bebida.

Cuadro 2. Composición de las dietas basales de iniciación y finalización.

INGREDIENTES	INICIACION	FINALIZACION
Sorgo	559.741	577.491
Pasta de soya	303.160	297.417
Gluten de maíz	60.000	28.459
Ortofosfato de calcio	20.432	21.214
Carbonato de calcio	14.532	14.147
Sal (NaCl)	2.756	2.623
Aceite vegetal	31.019	50.602
Premezcla de vitaminas (Cuadro 5)	2.500	2.500
DL-Metionina	1.444	1.826
L-Lisina	1.766	1.071
Premezcla de minerales (Cuadro 4)	1.000	1.000
Cloruro de colina (60 %)	0.500	0.500
Fungicida	0.500	0.500
Coccidiostato	0.500	0.500
Bacitracina de Zinc	0.500	0.500
Pigmento amarillo*	0.000	4.000
Antioxidante (Feed-Ox)	0.150	0.150
TOTAL DE KG	1000.000	1000.000

* Cortesía de Pigmentos Vegetales del Centro S.A. de C.V.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 3. Análisis calculado de las dietas basales en las dos etapas.

NUTRIENTE	INICIACION	FINALIZACION
Proteína cruda (%)	22	20
Energía metabolizable (Kcal/Kg)	3000	3100
Lisina (%)	1.2	1.1
Metionina (%)	0.51	0.50
Metionina + Cistina (%)	0.90	0.85
Treonina (%)	0.78	0.73
Calcio total (%)	1.00	1.00
Fósforo disponible (%)	0.48	0.47
Sodio (%)	0.18	0.18
Cloro (%)	0.19	0.21

Cuadro 4. Composición de la premezcla mineral utilizada en las dietas por tonelada de alimento.

MINERALES	CANTIDAD (g)	FUENTE
Hierro	110.00	Sulfato ferroso
Zinc	50.00	Oxido de Zinc
Manganeso	110.00	Oxido de Manganeso II
Cobre	12.00	Sulfato Cúprico
Yodo	0.30	EDDI
Selenio	0.10	Selenito de Sodio
Cobalto	0.20	Carbonato de Cobalto
Excipiente c.b.p.	1,000.00	Carbonato de Calcio

Cuadro 5. Composición de la premezcla vitamínica utilizada en las dietas por tonelada de alimento.

VITAMINA	CANTIDAD	FUENTE
Vitamina A	12,000.00 UI	Acetato de retinilo blindado
Vitamina D3	2,500.00 UIP	Colecalciferol irradiado y blindado
Vitamina E	30,000.00 UI	Acetato de DL- α -tocoferilo adsorbato
Vitamina K	2.00 g	Bisulfito sódico de menadiona
Vitamina B1	2.25 g	Clorhidrato ó mononitrato de tiamina
Vitamina B2	7.50 g	Riboflavina
Vitamina B6	3.50 g	Clorhidrato ó mononitrato de piridoxina
Vitamina B12	20.00 mg	Cianocobalamina
Niacina	45.00 g	Nicotinamida
Acido pantoténico	12.50 g	D-pantotenato de calcio
Biotina	125.00 mg	D-biotina
Acido fólico	1.50 g	Folacina
Antioxidante	25.00 g	TBHQ, BHT y ETQ
Vehículo c.b.p.	2,500.00 g	Vegetal y mineral

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

FASE DE LABORATORIO

Se efectuó en el laboratorio número 34 de la Unidad de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina y en el Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Universidad Nacional Autónoma de México.

El desarrollo de esta fase consistió en lo siguiente:

El sacrificio de los animales se realizó por dislocación cervical en la caseta donde se mantuvieron los pollos y se recolectó el hígado, dividiéndose en dos porciones para las determinaciones de lipoperoxidación y de glutatión total, posteriormente se colectaron en un termo con hielo seco para su traslado inmediato al laboratorio, previamente identificados por repetición y tratamiento. El sacrificio de las aves se realizó semanalmente, tomándose de forma aleatoria un pollo por repetición.

DETERMINACION DE LIPOPEROXIDACION HEPATICA

Se evaluó el grado de lipoperoxidación de hígado por medio de la determinación de Especies Reactivas al Acido Tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés Thio-Barbituric Acid Reactive Species), por la técnica del ácido tiobarbitúrico modificada por Zentella *et al* (43). Se obtiene una porción del órgano guardando una proporción de 1:6 en relación peso del tejido : volumen de agua destilada previamente enfriada, para su homogeneización y filtración a través de una gasa de algodón. Se tomó una alicuota de 200 µl del filtrado, para ser incubado en tubos de ensaye con 1.0 ml de solución buffer de fosfatos 0.15 M a un pH de 7.0, por 30 minutos a 37° C. Después se adicionó 1.5 ml de ácido acético 20% a un pH de 2.5 y 1.5 ml de ácido tiobarbitúrico (TBA, por sus siglas en inglés Thio-Barbituric Acid) al 0.8%; la mezcla se colocó en agua a ebullición durante 45 minutos, al termino del cual los tubos se colocaron en agua con hielo, después de 10 minutos se agregó 1 ml de KCl al 2% y 5 ml de butanol-piridina (15:1), se mezcló vigorosamente, finalmente se centrifugó a 5,000

revoluciones por minuto (rpm) durante 5 minutos, y se cuantificó la absorbancia espectrofotométrica a 532 nanómetros (43). Para la determinación de la cantidad de proteínas presentes en el homogenado, que es necesaria para calcular los TBARS como nanomoles por miligramo de proteína, se utilizó el método colorimétrico de Bradford (44), que consiste en realizar una curva patrón de diferentes concentraciones de albúmina (0, 20, 40, 60, 80 y 100 microgramos) y de colocar en otros tubos de ensaye, 50 µl de los homogeneados problema con una dilución 1:20 a todos los tubos; tanto los tubos de la curva como los problema se les afora a 100 ml con solución buffer Tris-KCl-EDTA. A todos los tubos se les agregó 5 ml del reactivo de Bradford y se cuantificó la absorbancia a 595 nm; la lectura problema se transforma mediante la curva de albúmina en gramos de proteína y luego se corrige por la dilución.

DETERMINACION DE GLUTATION TOTAL HEPATICO

Para dicha determinación se utilizó igualmente una porción del hígado, tomándose unicamente entre 0.25 y 0.3 g de muestra, a la cual se añadieron ocho veces su peso de ácido perclórico en un tubo homogeneizador para desproteínizar la muestra. Para esto, el tubo y el ácido perclórico (1M) permanecieron en hielo a 4° C. La muestra fue centrifugada a 5,000 rpm y el sobrenadante se decantó en tubos de ensaye de 5 ml y sellados hasta su análisis de la siguiente manera.

En cinco cubetas de cuarzo se deposita 1 ml de solución buffer de fosfatos con pH 7.0 a temperatura ambiente (21° C aproximadamente). Se colocan 5, 10, 20, 30, 50 µl de la solución estándar respectivamente; luego se colocó 20 µl de NADPH (2 mg/0.5 NaHCO₃ al 0.5%), 20 ml de la enzima glutatión reductasa (6 unidades/ml buffer), se agitan suavemente evitando la formación de burbujas, se dejan reposar por dos minutos; se introduce la cubeta a la celdilla del espectrofotómetro previamente calibrado a 412 nanómetros de absorbancia, se hace la lectura y se toma como blanco. Posteriormente se deposita 20 µl de ácido ditionitrobenzoico (DTNB) (0.75 mg/0.5 ml de NaHCO₃ al 0.5%), inmediatamente después de

depositado el DTNB se marca el tiempo de inicio, hasta que se cumplan 5 minutos, se agita la cubeta de cuarzo con su respectiva muestra y pasados los 5 minutos se introduce la cubeta a la celdilla para realizar la lectura (45).

Si las lecturas obtenidas a partir de los estándares corresponden a un rango previamente establecido, se dice que los reactivos y el estándar son adecuados; de no ser así, se tiene que reiniciar nuevamente hasta que las lecturas sean las esperadas. Finalmente se sustituyen los estándares por una alícuota por 10 µl de la muestra problema y se realiza el mismo procedimiento para obtener la lectura de cada muestra.

ANALISIS ESTADISTICO

Se empleó un diseño estadístico completamente aleatorizado para los cuatro tratamientos con seis repeticiones.

Los datos de consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia, mortalidad general y por síndrome ascítico se analizaron con el siguiente modelo (46):

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{(ij)} \quad (i = 1, 2, \dots, t; j = 1, 2, \dots, r)$$

Donde:

Y = variable de respuesta

μ = media general

τ = efecto del i-ésimo tratamiento $1 \leq i \leq 4$

ε = error experimental $1 \leq j \leq 6$

Para los resultados de las determinaciones de laboratorio, se utilizó un modelo similar al anterior para el análisis.

El análisis estadístico se realizó conforme al diseño utilizado, con un análisis de varianza (ANDEVA) y aplicando la prueba de Tuckey para diferencia de medias en casos donde se encontró diferencias significativas al 0.5 y 0.1% (47).

RESULTADOS

Los resultados que se presentan a continuación se dividen en dos fases; que corresponden a la fase de campo, donde se presentan los resultados de los parámetros productivos y, otros a la fase de laboratorio.

FASE DE CAMPO

En el transcurso del estudio, los datos productivos de la parvada se registraron en las etapas de iniciación que comprende de 0 a 3 semanas y finalización de la semana 3 a la semana 7, además se hizo un resumen del ciclo completo de producción, es decir de 0 a 7 semanas, en donde también se informa de los efectos lineales; por lo que los resultados se reportan en este orden.

VARIABLES PRODUCTIVAS EN LA ETAPA DE INICACION

No se encontraron diferencias estadísticas ($P>0.05$) entre los tratamientos para los parámetros productivos analizados durante esta etapa: consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia. Se puede observar en el Cuadro 6, que los resultados fueron muy similares entre los tratamientos.

Con relación a la mortalidad por síndrome ascítico (SA) no se observó alguna diferencia estadística significativa ($P>0.05$) entre tratamientos, sin embargo en mortalidad general se detectaron diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$) en el tratamiento 2 (dieta convencional más 10 ppm de ácido lipoico) en comparación con el grupo testigo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 6. Consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia de 0 a 21 días.

	T1	T2	T3	T4
Ganancia de peso (g)	584 ± 20 a	585 ± 20 a	582 ± 40 a	568 ± 50 a
Consumo de alimento (g)	858 ± 14 a	858 ± 12 a	863 ± 37 a	841 ± 46 a
Conversión alimenticia	1.469 ± 0.02 a	1.467 ± 0.03 a	1.482 ± 0.07 a	1.479 ± 0.08 a

* Valores promedio ± error estándar.

a= Valores con distinta literal en el mismo renglón son estadísticamente diferentes (P<0.05).

Cuadro 7. Porcentaje de mortalidad por SA y mortalidad general de 0 a 21 días.

	T1	T2	T3	T4
Mortalidad general (%)	3.527 ± 0.815 a	0.785 ± 0.496 b	1.172 ± 0.524 ab	1.938 ± 1.11 ab
Mortalidad por SA (%)	0.767 ± 0.485 a	0 ± 0 a	0 ± 0 a	0.388 ± 0.39 a

* Valores promedio ± error estándar.

a, b= Valores con distinta literal en el mismo renglón son estadísticamente diferentes (p<0.05).

VARIABLES PRODUCTIVAS EN LA ETAPA DE FINALIZACION

El Cuadro 8 muestra que en consumo de alimento, se encontró una disminución significativa (P<0.05) en los tratamientos 2, 3 y 4 en relación con el testigo; siendo los tratamientos 2 y 4 estadísticamente iguales. El tratamiento 3 tuvo el menor consumo. En ganancia de peso, el tratamiento con el mejor comportamiento (P<0.05) fue el tratamiento 4 en comparación con los otros tres tratamientos. También se encontraron diferencias significativas (P<0.05) en la conversión alimenticia, siendo más favorable a las dosis más altas de ácido lipoico (tratamientos 3 y 4), teniendo un efecto significativamente mejor (P<0.05) el tratamiento 4 que el tratamiento 3.

Cuadro 8. Efecto en consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia de 22 a 49 días.

	T1	T2	T3	T4
Ganancia de peso (g)	1,783 ± 60 a	1,678 ± 70 a	1,725 ± 50 a	1,832 ± 50 b
Consumo de alimento (g)	3,751 ± 50 a	3,45 ± 30 b	3,387 ± 40 c	3,438 ± 40 b
Conversión alimenticia	2.104 ± 0.08 a	2.056 ± 0.07 a	1.963 ± 0.08 b	1.877 ± 0.06 c

* Valores promedio ± error estándar.

a, b, c = Valores con distinta literal en el mismo renglón son estadísticamente diferentes (P<0.05).

La mortalidad general y por SA disminuyeron (P<0.05) con ácido lipoico, siendo mejor este efecto con la dosis mayor (40 ppm), es decir, el tratamiento 4 (Cuadro 9).

Cuadro 9. Datos de porcentaje de mortalidad general y por SA de 22 a 49 días.

	T1	T2	T3	T4
Mortalidad general (%)	5.645 ± 0.996 a	4.307 ± 1.118 ab	3.518 ± 1.035 ab	1.572 ± 0.498 b
Mortalidad por SA (%)	4.862 ± 0.881 a	2.318 ± 0.841 ab	1.968 ± 0.743 ab	0.767 ± 0.485 b

* Valores promedio ± error estándar.

a, b = Valores con distinta literal en el mismo renglón son estadísticamente diferentes (P<0.05).

RESULTADOS PRODUCTIVOS EN EL CICLO COMPLETO

Los datos promedio que están en el Cuadro 10, indican que no se encontraron diferencias significativas (P>0.05) en los parámetros consumo de alimento y ganancia de peso, no así en conversión alimenticia, en donde el tratamiento 4 fue significativamente (P<0.05) mejor.

Cuadro 10. Datos del consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia de 0 a 49 días.

	T1	T2	T3	T4
Ganancia de peso (g)	2,367 ± 57 a	2,262 ± 30 a	2,307 ± 18 a	2,399 ± 58 a
Consumo de alimento (g)	4,730 ± 21 a	4,476 ± 15 a	4,446 ± 48 a	4,461 ± 33 a
Conversión alimenticia	1.999 ± 0.025 a	1.980 ± 0.0245 a	1.927 ± 0.015 ab	1.859 ± 0.026 b

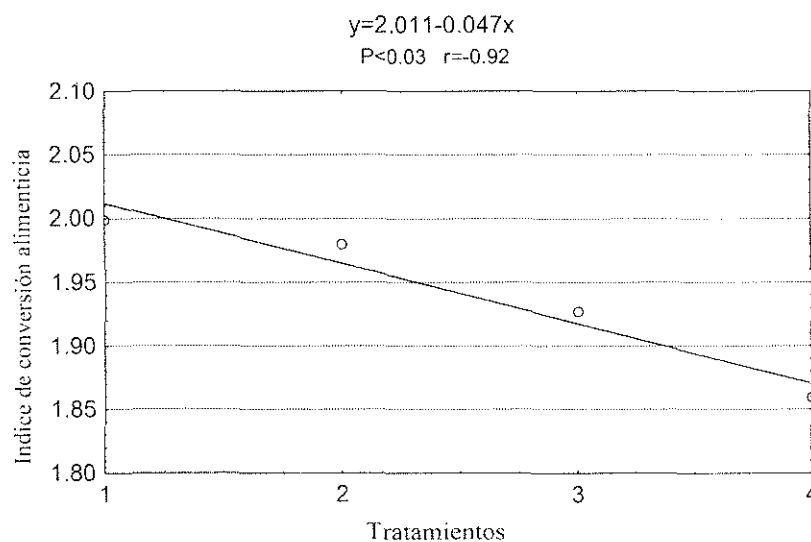
* Valores promedio ± error estándar.

a, b = Valores con distinta literal en el mismo renglón son estadísticamente diferentes (P<0.05).

Así mismo, en la Gráfica 1 se observa el efecto lineal encontrado en el índice de conversión alimenticia; este efecto lineal fue negativo y se expresa con la siguiente ecuación:

$$y = 2.011 - 0.047 x$$

Es decir, se observó un comportamiento inversamente proporcional (P<0.03) con un valor de regresión de -0.92, dada la dosis de ácido lipoico en el alimento, por lo que a mayor dosis, menor el índice de conversión.



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Gráfica 1. Efecto lineal del índice de conversión alimenticia durante el ciclo completo de producción.

Cuadro 11. Porcentaje de mortalidad por SA y mortalidad general de 0 a 49 días.

	T1	T2	T3	T4
Mortalidad General (%)	8.58 ± 1.43 a	5.43 ± 1.16 ab	4.64 ± 1.08 ab	3.7 ± 0.93 b
Mortalidad por SA (%)	3.92 ± 0.71 a	2.32 ± 0.387 b	1.93 ± 0.772 b	1.15 ± 0.386 b

* Valores promedio ± error estándar.

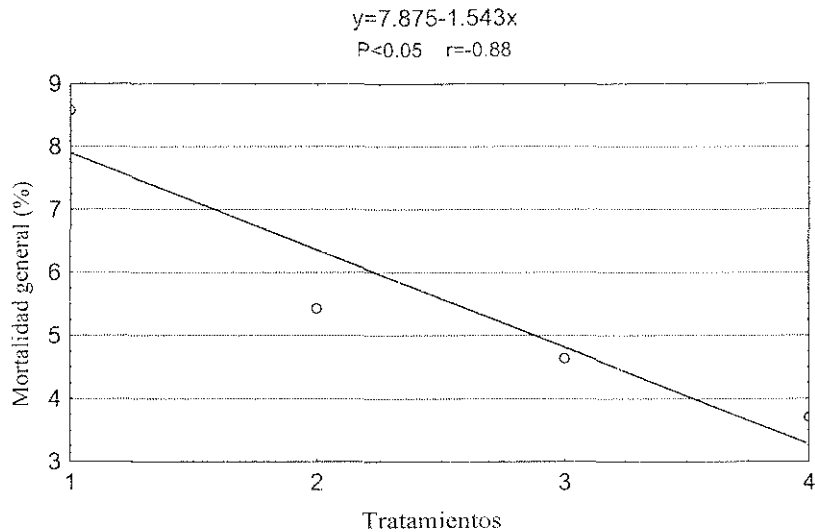
a, b = Valores con distinta literal en el mismo renglón son estadísticamente diferentes (P<0.05).

En el Cuadro 11 se observa que la mortalidad por SA resultó significativamente menor (P<0.05) a las tres dosis de ácido lipoico (tratamientos 2, 3, 4) en relación con el tratamiento testigo, también se observa una disminución numérica conforme la dosis es mayor. En cuanto a la mortalidad general solo fueron significativamente diferentes (P<0.05) los tratamientos 1 y 4 al comparar los cuatro tratamientos, resultando favorable el tratamiento 4.

En mortalidad general se encontró (Gráfica 2) un efecto lineal negativo que se expresa en la siguiente ecuación:

$$y = 7.875 - 1.543 x$$

donde hubo un comportamiento inversamente proporcional (P<0.05) con un valor de regresión de -0.88, dadas las diferentes dosis de ácido lipoico en el alimento, por lo que lo que a mayor dosis, menor la mortalidad general.



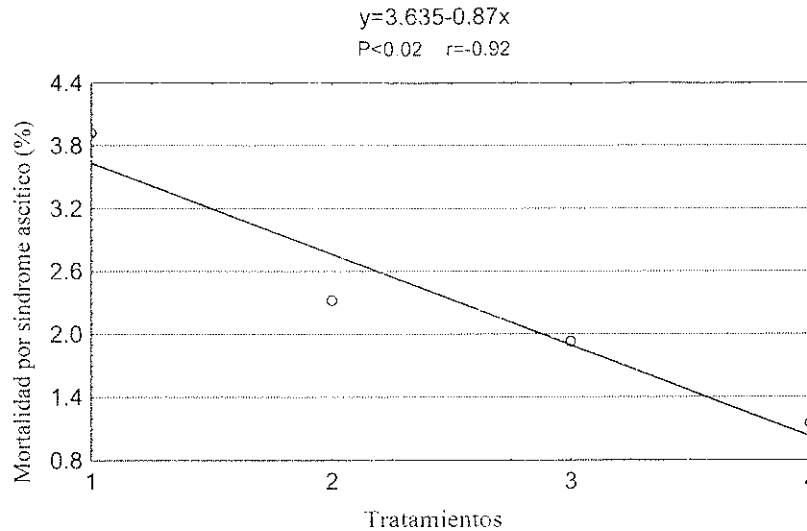
Gráfica 2. Efecto lineal del porcentaje de mortalidad general en el ciclo completo.

En la mortalidad por SA de igual forma se encontró un efecto lineal negativo, que se expresa en la siguiente ecuación:

$$y = 3.635 - 0.87 x$$

donde el comportamiento fue inversamente proporcional ($P<0.02$), con un valor de regresión de -0.92 , dadas las diferentes dosis de ácido lipoico en el alimento, por lo que a dosis mayores, la mortalidad por SA disminuye.

TESIS CON
 FALTA DE ORIGEN



Gráfica 3. Efecto lineal del porcentaje de mortalidad general en el ciclo completo.



FASE DE LABORATORIO

Las concentraciones de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) se midieron semanalmente en hígado, a partir de la primera semana de vida del pollo (semana cero) hasta la sexta semana. Las concentraciones se presentan en nanomoles de TBARS/miligramo de proteína del tejido.

LIPOPEROXIDACION HEPATICA

Analizando semanalmente los resultados (Cuadro 12), no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en la semana cero y la primer semana, sin embargo a partir de la segunda semana de vida se encontraron los siguientes efectos:

En la segunda semana hubo un efecto a favor del ácido lipoico estadísticamente significativo ($P < 0.05$) en los tratamientos 2 y 3 en relación con el tratamiento testigo, y

aunque en el tratamiento 4 se observó una disminución numérica en la concentración de TBARS, esta no fue significativa.

Cuadro 12. TBARS (nanomoles/mg de proteína) en hígado de pollos por tratamiento y por semana.

SEMANA	T1	T2	T3	T4
0	0.416 ± 0.208 a	0.316 ± 0.168 a	0.229 ± 0.155 a	0.338 ± 0.186 a
1	0.168 ± 0.037 a	0.082 ± 0.035 a	0.051 ± 0.048 a	0.093 ± 0.066 a
2	0.384 ± 0.14 a	0.195 ± 0.097 a	0.172 ± 0.068 a	0.211 ± 0.092 a
3	0.939 ± 0.224 a	0.467 ± 0.103 b	0.353 ± 0.85 b	0.336 ± 0.134 b
4	0.897 ± 0.137 a	0.235 ± 0.085 c	0.521 ± 0.114 b	0.294 ± 0.095 c
5	0.65 ± 0.182 a	0.579 ± 0.097 a	0.285 ± 0.11 b	0.307 ± 0.178 b
6	0.487 ± 0.102 a	0.206 ± 0.045 b	0.196 ± 0.059 b	0.186 ± 0.088 b

* Valores promedio ± error estándar.

a, b, c = Valores con distinta literal en el mismo renglón son estadísticamente diferentes (P<0.05).

Hubo un efecto significativo (P<0.05) en cualquiera de las tres dosis administradas de ácido lipoico comparándolos con el tratamiento 1 en la tercera semana de vida del pollo.

Se encontró un efecto similar en la cuarta semana, los valores más bajos se encontraron en los tratamientos 2 y 4, él mas alto en el tratamiento 1, aunque no se obtuvieron valores tan bajos en el tratamiento 3 como en los tratamientos 2 y 4, este también fue estadísticamente significativo (P<0.05).



Cuadro 13. TBARS (nanomoles/mg de proteína) en hígado de pollos por semana independiente del tratamiento.

SEMANA	TBARS
0	0.325 ± 0.121 a
1	0.099 ± 0.069 b
2	0.241 ± 0.143 ab
3	0.524 ± 0.315 a
4	0.487 ± 0.31 a
5	0.455 ± 0.23 a
6	0.269 ± 0.208 ab

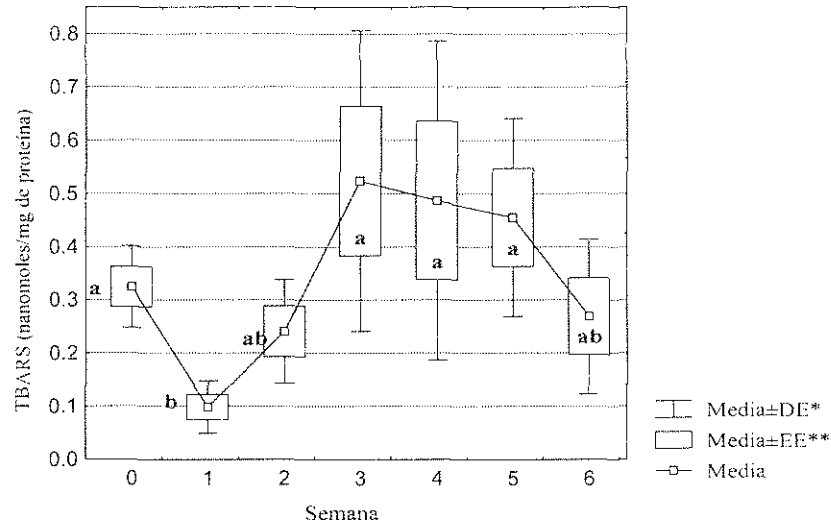
* Valores promedio ± error estándar.

a, b = Valores con distinta literal en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

En la semana 5 se observaron diferencias estadísticamente significativas (P<0.05) en los tratamientos 3 y 4, que corresponden a las concentraciones más bajas de TBARS; en el tratamiento 2 se notó una disminución numérica con relación al tratamiento testigo, pero sin diferencia estadística.

En la última semana de vida se obtuvo un efecto estadísticamente significativo (P<0.05) en los tratamientos 2, 3 y 4 en comparación con el tratamiento 1 a favor del ácido lipoico.

Analizando los resultados del Cuadro 13 por semana independientemente del tratamiento, no se observó alguna diferencia significativa (P>0.05), salvo en la primer semana de vida del pollo, en donde este valor fue menor comparándolo con las demás semanas, efecto que se nota más claramente en la Gráfica 4.



Gráfica 4. TBARS (nanomoles/mg de proteína) en hígado de pollos por semana independiente del tratamiento. * Desviación estándar, ** error estándar.

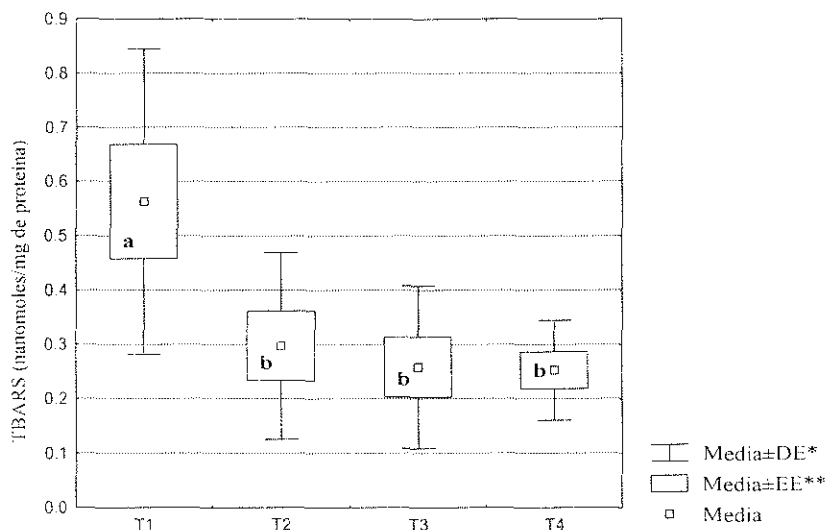
En el Cuadro 14 se puede apreciar que los tratamientos 2, 3 y 4 presentaron concentraciones estadísticamente menores ($P < 0.05$) al comparar los tratamientos independientemente de la semana; este efecto del ácido lipoico sobre los TBARS en hígado de pollos se aprecia en la Gráfica 5.

Cuadro 14. TBARS (nanomoles/mg de proteína) en hígado de pollos por tratamiento independiente de la semana.

TRATAMIENTO	TBARS
1	0.563 ± 0.301 a
2	0.297 ± 0.13 b
3	0.258 ± 0.163 b
4	0.252 ± 0.107 b

* Valores promedio ± error estándar.

a, b = Valores con distinta literal en la misma columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).



Gráfica 5. TBARS (nanomoles/mg de proteína) en hígado de pollos por tratamiento independiente de la semana.

* Desviación estándar, ** error estándar.

GLUTATION TOTAL HEPATICO

En el análisis de los resultados por semana, no se encontró efecto significativo ($P > 0.05$) en las dos primeras semanas. En la tercera y cuarta semana se detectó un efecto significativo del ácido lipoico. En la tercera semana existió efecto a las tres dosis utilizadas en relación con el testigo, no habiendo diferencias significativas entre las tres dosis. A la cuarta semana igualmente hubo un efecto del ácido lipoico, encontrándose los niveles significativamente más altos de glutatión total en el tratamiento 3.

En la quinta semana existieron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos. En la última semana se observó un efecto de la inclusión del ácido lipoico a favor de éste sobre el nivel de glutatión total; las tres dosis tuvieron niveles estadísticamente iguales.

Cuadro 15. Glutación total (micromoles por gramo de peso húmedo) en hígado de pollos por tratamiento y por semana.

SEMANA	T1	T2	T3	T4
0	2.40 ± 0.66 a	2.53 ± 0.47 a	3.40 ± 0.63 a	2.33 ± 0.55 a
1	2.16 ± 0.41 a	2.78 ± 0.31 a	2.56 ± 0.33 a	3.22 ± 0.79 a
2	2.40 ± 0.72 a	2.73 ± 0.21 a	2.06 ± 0.46 a	3.07 ± 1.1 a
3	1.32 ± 0.39 b	1.00 ± 0.26 b	2.19 ± 0.58 a	2.93 ± 0.43 a
4	2.03 ± 0.38 b	1.04 ± 0.58 c	2.66 ± 0.42 b	3.32 ± 0.4 a
5	0.89 ± 0.59 b	3.22 ± 0.53 c	2.01 ± 0.42 a	2.54 ± 0.46 a
6	2.07 ± 0.26 a	2.50 ± 0.62 ab	3.19 ± 0.71 b	2.48 ± 0.39 ab

* Valores promedio ± error estándar.

a, b, c = Valores con distinta literal en el mismo renglón son estadísticamente diferentes (P<0.05).

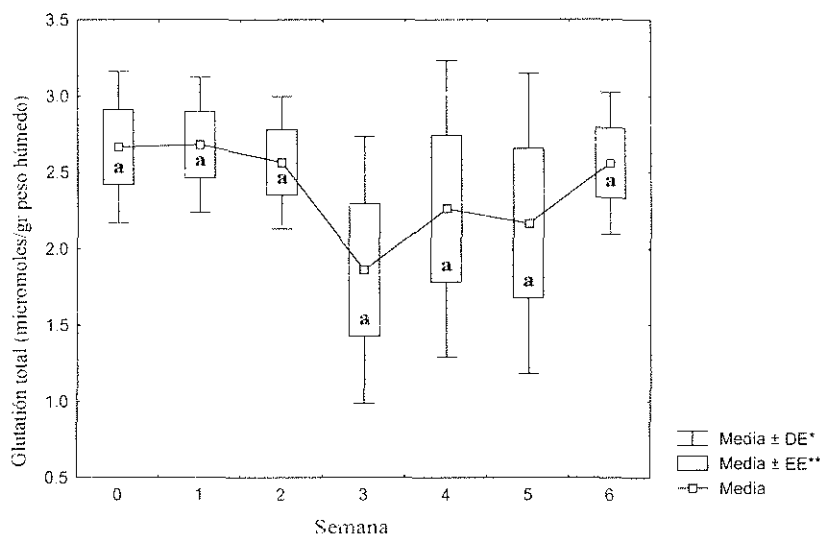
Cuadro 16. Glutación total (micromoles por gramo de peso húmedo) en hígado de pollos por semana independiente del tratamiento.

SEMANA	Glutación total
0	2.66 ± 0.57 a
1	2.68 ± 0.41 a
2	2.57 ± 0.62 a
3	1.86 ± 0.53 a
4	2.26 ± 0.56 a
5	2.17 ± 0.59 a
6	2.56 ± 0.48 a

* Valores promedio ± error estándar.

a = Valores con distinta literal en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

Al analizar los datos por semana independientemente del tratamiento como se observa en el Cuadro 16, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$). Sin embargo se observan los niveles más bajos de glutatión total alrededor de la tercer semana de vida de los pollos como se aprecia más claramente en la Gráfica 6.



Gráfica 6. Glutatión total (micromoles por gramo de peso húmedo) en hígado de pollos por semana independiente del tratamiento.

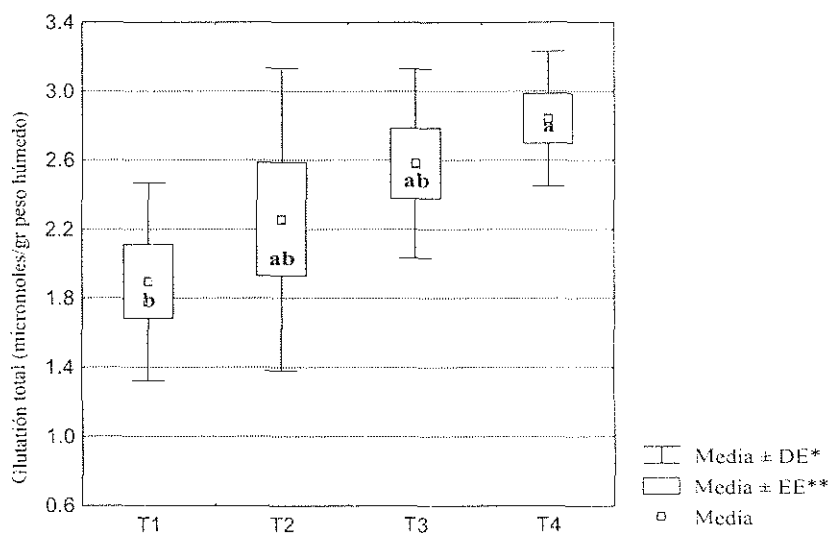
Cuadro 17. Glutatión total (micromoles por gramo de peso húmedo) en hígado de pollos por tratamiento independiente de la semana.

TRATAMIENTO	Glutatión total
1	1.89 ± 0.32 b
2	2.26 ± 0.29 ab
3	2.58 ± 0.11 ab
4	2.84 ± 0.19 a

* Valores promedio ± error estándar.

a, b = Valores con distinta literal en la misma columna son estadísticamente diferentes ($P<0.05$).

En los promedios de las concentraciones de glutatión total por tratamiento independientemente de la semana que se encuentran en el Cuadro 17, se ve un aumento estadísticamente significativo con relación al testigo ($P < 0.05$) en los tratamientos 3 y 4 que corresponden a las dosis más altas de ácido lipoico (Gráfica 7). No así con el tratamiento 2 donde no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) con respecto al testigo.



Gráfica 7. Glutatión total (micromoles por gramo de peso húmedo) en hígado de pollos por tratamiento independiente de la semana.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISCUSION

PARAMETROS PRODUCTIVOS

En los parámetros productivos consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia, no hubo efecto alguno de la inclusión del ácido lipoico en el alimento durante la etapa de iniciación; sin embargo al analizar estos mismos parámetros en la etapa de finalización se detectó un efecto favorable a la inclusión del ácido lipoico; el *consumo de alimento* disminuyó significativamente con las tres dosis de ácido lipoico, observándose el menor consumo con la dosis de 20 ppm; esto puede deberse a : .

La *ganancia de peso* en esta etapa fue claramente mayor con la dosis más alta del antioxidante; contrario a lo observado con las dosis menores, que aunque no fueron estadísticamente diferentes, fueron menos pesados numéricamente. Las dosis de 20 y 40 ppm, del antioxidante, mostraron la menor *conversión alimenticia*; correspondiendo a la dosis de 40 ppm la mejor conversión.

Analizando los resultados durante el ciclo completo, no se observó diferencia significativa por parte de la adición del ácido lipoico en los parámetros consumo de alimento y ganancia de peso; solo la variable *conversión alimenticia* fue afectada favorablemente por la inclusión de ácido lipoico, con la dosis de 40 ppm.

MORTALIDAD

El porcentaje de *mortalidad por síndrome ascítico (SA)* no fue alterado significativamente en la primera etapa de crecimiento del pollo. En la segunda etapa encontró una disminución significativa de este parámetro con la dosis de 40 ppm; y aunque

también hubo un menor porcentaje de mortalidad con las dosis de 10 y 20 ppm, estas no fueron significativas.

Durante el ciclo completo, la mortalidad por SA se abatió con la adición de las tres dosis del antioxidante, y a pesar de que no fueron diferentes entre sí, se observó una tendencia que a mayor dosis de ácido lipoico hay un menor porcentaje de mortalidad.

En cuanto a *mortalidad general* durante la etapa de iniciación se obtuvo el menor porcentaje con la dosis de 10 ppm de ácido lipoico y las dosis mayores no fueron diferentes estadísticamente con respecto al grupo testigo, pero la disminuyeron en dos puntos porcentuales.

En la etapa de finalización y durante todo el ciclo del ave, la variable mortalidad general tuvo un comportamiento similar; se ve una disminución gradual del porcentaje conforme la dosis de ácido lipoico es mayor, pero solo se detectó una diferencia estadística con la dosis de 40 ppm, que corresponde a la mayor dosis.

LIPOPEROXIDACION HEPATICA

La lipoperoxidación hepática medida como TBARS en las dos primeras semanas de vida (semana 0 y 1) del pollo no resultó significativamente favorecida, aunque se observa una tendencia numérica a disminuir, observándose los valores más bajos con el tratamiento 3 en ambas semanas.

En la segunda semana se observó un efecto significativo, al disminuir los TBARS con las dosis más bajas de 10 y 20 ppm. En las semanas 3 y 6 se encontró un comportamiento similar entre dosis; pero se observó una clara tendencia a disminuir la lipoperoxidación conforme la dosis fue mayor. No así en la semana 4 y 5; los valores menores correspondieron al tratamiento 4.

Fue interesante analizar los datos de lipoperoxidación por tratamiento en el hígado, independiente de la semana; hubo una clara disminución de la lipoperoxidación en comparación con el testigo a la mitad del valor de este último; no obstante que no fueron diferentes estadísticamente los niveles de los tres tratamientos de ácido lipoico, se observó una tendencia siempre a ser menor los TBARS conforme la dosis fue mayor.

GLUTATION TOTAL HEPATICO

En los resultados de glutación total (GT) por semana se detectaron diferencias significativas en la tercera, cuarta y sexta semanas; en la semana tres, a pesar de no haber diferencia entre las tres dosis, hubo una tendencia a aumentar el GT; en la cuarta semana si existió diferencias entre los tratamientos con ácido lipoico y el que tuvo un mejor comportamiento fue el tratamiento 3. De manera similar que en la tercer semana existió un aumento del GT con las tres dosis de ácido lipoico, pero no se encontraron diferencias estadísticas entre los tres tratamientos.

La inclusión de ácido lipoico en la dieta mejoró los niveles de GT al aumentarlos, según lo observado en el análisis de los tratamientos sin tomar en cuenta la semana; aunque no fue muy marcado este aumento, si fueron significativos los tratamientos 3 y 4 con relación al tratamiento testigo.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

CONCLUSIONES

Basándose en los resultados obtenidos y bajo las condiciones empleadas en este experimento, se llegaron a las siguientes conclusiones:

1. El uso de ácido lipoico en la dieta para pollos de engorda, no tuvo efecto significativo sobre los parámetros consumo de alimento y ganancia de peso; sin embargo mejoró la conversión alimenticia del ciclo completo con la dosis de 40 ppm de alimento.
2. Se disminuyó la mortalidad general y por síndrome ascítico durante todo el ciclo productivo del pollo de engorda, administrando la dosis mayor: 40 ppm.
3. Se observó un efecto favorable del ácido lipoico sobre la lipoperoxidación hepática medida como TBARS, a partir de la segunda semana de vida del pollo; siendo más baja en las semanas 3, 4, 5 y 6, con la dosis mayor.
4. La lipoperoxidación hepática, disminuyó significativamente con las tres dosis utilizadas de ácido lipoico (10, 20 y 40 ppm), en comparación con los no tratados, independientemente de la semana de vida.
5. El glutatión total mostró una tendencia a aumentar desde la primera semana de vida, conforme la dosis de ácido lipoico fue mayor; aunque solo resultó significativo el efecto a la 3^a, 4^a y 6^a semanas de edad.
6. Las dosis de 20 y 40 ppm de ácido lipoico, aumentaron los niveles de glutatión total con relación al grupo testigo.
7. Se observó una tendencia, que al aumentar los niveles de glutatión disminuyó la lipoperoxidación hepática.

8. El ácido lipoico disminuyó el cuadro de estrés oxidativo en el pollo de engorda.
9. Se confirmó un efecto antioxidante del ácido lipoico en el pollo de engorda, coincidiendo con lo reportado en otras especies.
10. Podrían probarse dosis mayores a las utilizadas en este experimento, puesto que se observó una tendencia favorable a mayor dosis.

LITERATURA CITADA

1. Reddy PR. *Situación actual y desarrollos futuros en la mejora y potencial genético de reproductoras pesadas*. Temas de actualidad para la industria avícola, Midia relaciones SA de CV. 1995 México DF, México 73-90.
2. Reddy PR. Oportunidades y retos del presente y futuro en la crianza de progenitoras de pollos de engorda. Memorias del I Simposium Avícola; 1994 octubre 20-22; Zacatecas (Zacatecas) México: Sección Nacional de Progenitores de Aves de la Unión Nacional de Avicultores, AC, 1994:118-139.
3. Mackay B. Programa genético primario en pollo de engorda en Shaver Poultry Breeding Farms. Temas de actualidad para la industria avícola, Midia relaciones SA de CV. 1995 México DF, México 101-104.
4. Barton N. Ross Breeders ve hacia el año 2000 en el desarrollo de productos. Temas de actualidad para la industria avícola, Midia relaciones SA de CV. 1995 México DF, México 109-112.
5. Zentella PM, Corona GS, Saldaña BY, Piña GE. Toxicidad del oxígeno: papel de los radicales libres en la peroxidación de los lípidos. BEB 1994; 13: 87-93.
6. Grishaw BM. Reactive metabolites of oxygen and nitrogen in biology and medicine. Texas: RG Landes Company, 1992.
7. Lozada CA. Efecto del piroxicam sobre el grado de lipoperoxidación en hígados de pollos con síndrome ascítico y su relación con el comportamiento productivo. (tesis de maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1995.

8. Díaz CA, Nava C, Villanueva R, Serret GM, Guinzberg PR, Piña GE. Hepatic and cardiac oxidative stress and other metabolic changes in broilers with the ascites syndrome. *Poult Sci* 1996; 75: 900-903.
9. Villar PG. Efecto del piroxicam (anti-inflamatorio no esteroideo), vitamina E y vitamina C sobre el grado de lipoperoxidación en corazón de pollos predispuestos a síndrome ascítico y su relación con la eficiencia productiva (tesis de maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1996.
10. Arrieta AM. Efecto de la adición de vitaminas E+C y selenio en la dieta, sobre el estatus oxidativo hepático, comportamiento productivo y presentación del síndrome ascítico en pollo de engorda (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia: UNAM, 1998.
11. Valle VK. Evaluación de diferentes dosis de Piroxicam (anti-inflamatorio no esteroideo) sobre la respuesta inflamatoria y grado de lipoperoxidación en hígado, corazón y pulmón así como su efecto en parámetros productivos en pollos de engorda predispuestos a síndrome ascítico (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia: UNAM, 1999.
12. Aruoma OI. Free radicals and antioxidant strategies in sports. *J Nutr Biochem* 1994; 5: 370-381.
13. Tiskow DG. Radicales libres en biología y medicina: una breve revisión. *Gaceta de Veterinaria, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA)* 1996; 1(2): 44-57.
14. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?. *J Lab Clin Med* 1992; 119 (6): 598-620.

15. Southorn PA. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biological reactions. Clin Proc Dep Anesthesiol 1988; 63: 381-389.
16. Halliwell R. Antioxidants in human health and disease. In Annual Review of Nutrition 1996; 16: 1-36.
17. Enkvetchakul B, Bottje W, Anthony N, Moore R, Huff W. Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. Poult Sci 1993; 72: 2272-2280.
18. Bottje GW, Enkvetchakul B, Moore WR, McNew R. Effect of α -tocopherol on antioxidants, lipid peroxidation, and the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers. Poult Sci 1995; 74: 1356-1369.
19. Enkvetchacul B, Nicholas BA, Bottje GW. Liver and blood glutathione in male broiler chickens, turkeys and quail. Poultr Sci 1995; 74: 885-889.
20. Anderson ME. Glutathione and glutathione delivery compounds. In: Sies H, editor. Advances in pharmacology vol 38. San Diego: Academic Press, 1997: 65-77.
21. Biasi F, Chiarpotto E, Lanfranco G, Capra A, Zummo U, Chiappino I. Oxidative stress in the development of human ischemic hepatitis during circulatory shock. Free Radic Biol Med 1994; 17: 225-233.
22. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. TIBS 1990; 15: 129-135.
23. Chamulitrat W, Mason R. Lipid peroxy radical intermediates in the peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenase. J Biol Chem 1989; 264: 20968-20973.

24. Packer L, Roy S, Sen CK. α -Lipoic acid: A metabolic antioxidant and potential redox modulator of transcription. In: Sies H, editor. *Advances in pharmacology* vol 38. San Diego: Academic Press, 1997: 79-101.
25. Peinado J, Sies H, Akerboom T. Hepatic lipoate uptake. *Arch Biochem Biophys* 1989; 273: 389-395.
26. Challem J. Alpha-Lipoic acid: Quite possibly the "universal" antioxidant. *The Nutrition Reporter* 1996 July; [2 screens]. Available from: URL: <http://www.nutritionreporter.com/Alpha-Lipoic.html>.
27. Majeed M, Prakash L. Alpha-lipoic acid: an efficient antioxidant. Sabinsa Corporation, New Jersey. 1996; [4 screens]. Available from: URL: http://www.sabinsa.com/products/alpha_lipoic_paper.htm.
28. Packer L. Alpha lipoic acid (dithio-octanoic acid) the metabolic antioxidant. Department of molecular and Cellular Biology; University of California, Berkeley, CA. 1999 January; [7 screens]. Available from: URL: <http://packer.berkeley.edu/research/la.html>.
29. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. Alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(2): 227-50.
30. Scott BC, Aruoma OI, Evans PJ, O'Neill C, Van der Vliet A, Cross CE, Tritschler H, Halliwell B. Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radic Res* 1994; 20(2): 119-133.
31. Von Zglinicki T, Wiswedel I, Trümper L, Augustin W. Morphological changes of isolated rat liver mitochondria during Fe^{2+} / ascorbate-induced peroxidation and the effect of thioctacid. *Mech Ag Develop* 1991; 57: 233-246.

32. Ou P, Tritschler HJ, Wolff SP. Thiocctic (lipoic) acid: a therapeutic metal-chelating antioxidant?. *Biochem Pharmacol* 1995; 50 (1): 123-126.
33. Haramaki N, Packer L, Assadnazari H, Zimmer G. Cardiac recovery during post-ischemic reperfusion is improved by combination of vitamin E with dihydrolipoic acid. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 196: 1101-1107.
34. Kagan VE, Shvedova A, Serbinova E, Khan S, Swanson C, Powell R, Packer L. Dihydrolipoic acid-a universal antioxidant both in the aqueous phase. Reduction of peroxil, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem Pharmacol* 1992; 44: 1637-1649.
35. Brown D. Lipoic acid: rejuvenate your antioxidants. Life Enhancement, Inc 1999; [4 screens]. Available from: URL: <http://www.life-enhancement.com/902mwebsite/902lipoic.htm>
36. Packer L. The metabolic antioxidants: vitamin E and lipoic acid. Department of molecular and Cellular Biology; University of California, Berkeley, CA. 1996; [1 screen]. Available from: URL: <http://avsunxsvr.aeiveos.com/confs/oxconf96/abs29.html>
37. Podda M, Tritschler HJ, Ulrich H, Packer L. Alpha-lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 204 (1): 98-104.
38. Han D, Tritschler HJ, Packer L. Alpha-lipoic acid increases intracellular glutathione in a human T-lymphocyte Jurkat cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 207 (1): 258-64.
39. Busse E, Zimmer G, Schopohl B, Kornhuber B. Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo. *Arzneimittelforschung* 1992; 42(6): 829-831.

40. Bast A, Haenen GR. Interplay between lipoic acid and glutathione in the protection against microsomal lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta* 1988; 963(3): 558-561.
41. INEGI. Tlahuac. Cuaderno de información básica delegacional INEGI. México 1992.
42. Cuca GM, Avila GE, Pro MA. La alimentación de las aves. Colegio de posgraduados, Montecillos México 1990.
43. Zentella PM, Hernández A, Saldaña BY, Piña GE. Nonsteroidal antiinflammatory drugs lower ethanol mediate liver increase in lipids and thibarbituric acid reactive substances. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1993; 17: 1228-1232.
44. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the cuantification of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyth Biochem* 1976; 72: 248-254.
45. Akerboom TPM, Sies H. Assay of glutathione, glutatione disulfide, and glutatione mixed disulfides in biological samples. *Met Enzymol* 1981; 77: 372-382.
46. Gill JL. Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences. Vol 1. Iowa: The Iowa state university press, 1978.
47. Statistical Analysis System. (Computer program). Manual of SAS. Institute Inc. 1995.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN