



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN  
Y DE LA SALUD ANIMAL

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DEL ÁCIDO LIPOICO Y DE LA N-  
ACETIL-CISTEÍNA SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS E  
INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN EL POLLO DE  
ENGORDA

T E S I S  
QUE PARA OBTENER  
EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

**ANALÍA BALDERAS GONZÁLEZ**

Tutor: Enrique Piña Garza

Comité tutorial: Ernesto Ávila González  
Raquel Guinzberg Perrusquia



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis 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.

*"Homo res sacra homini"*  
(El hombre es sagrado para el hombre)  
**Máxima de Séneca**

"El hombre fuerte es el que gobierna sus pasiones,  
El hombre honrado es el que trata a todos con dignidad  
El hombre sabio es el que aprende de todos con amor"  
**Talmúd Hebreo**

## Dedicatoria

A mis padres quienes con su ejemplo me han enseñado a entender y vivir con alegre sensatez el sentido de la libertad y de la honestidad; quienes me han inculcado el disfrutar del que hacer diario y de quienes he aprendido el valor de concluir ciclos y tramos en los momentos en que es necesario seguir adelante.

A mi novio por todo su cariño, por estar siempre presente y dispuesto a apoyarme en todos los detalles diarios. A mis hermanos, a mis sobrinos el resto de mi familia y a ustedes mi verdaderos amigos quienes me recuerdan siempre y con cada detalle el significado y las bondades de entablar una convivencia verdadera, desinteresada y auténtica realmente auténtica.

A mi Colegio Madrid, por que los reencuentros siempre serán atinados y como siempre muy afortunados.

A todos Ustedes mis maestros de vida  
El resto de los seres vivos que son igual de sagrados que nosotros los hombres.

A Dios porque has permitido que de una u otra manera siga buscando y explorando los caminos para seguir siendo feliz.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis tutores, el Dr. Enrique Piña, la Dra. Raquel Guinzberg y el Dr. Ernesto Ávila. Por el tiempo dedicado a este proyecto, por su compromiso, por el apoyo brindado, por sus acertados comentarios, y sobre todo por la apertura, y disposición. Gracias por sus enseñanzas.

A los doctores Carlos López Coello y Arturo Cortés Cuevas que como parte de mi jurado enriquecieron este trabajo con sus comentarios. Aprecio mucho su tiempo y sus palabras, muchas gracias.

A todas las personas involucradas en el desarrollo de este trabajo, pues su aportación fue importantísima, agradezco su gesto espontáneo y amable de enseñarme a través de su ayuda tantas cosas valiosas.

Al laboratorio 34 y a la familia Díaz por su apoyo incondicional durante todas y cada una de las etapas de este proyecto. Muchas gracias.

A la Dra. Martha Zentella, que me brindó el apoyo necesario para el desarrollo de la fase de laboratorio. A todos los integrantes del laboratorio 5 cuya ayuda y participación agradezco sinceramente.

A mi Universidad Nacional Autónoma de México de quien orgullosamente formo parte.

A CONACYT por el apoyo financiero

Al posgrado de la FMVZ por el apoyo y orientación general.

## CONTENIDO

Página

<b>I. RESUMEN</b> .....	V
<b>II. ABREVIATURAS</b> .....	VI
<b>III. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Importancia de la avicultura en México.....	2
Exigencias actuales.....	2
Desórdenes derivados del manejo intensivo de la avicultura.....	3
<b>El Síndrome Ascítico (SA)</b> .....	4
Una enfermedad multifactorial.....	4
Factores predisponentes.....	6
Los signos del SA.....	9
Las lesiones del SA.....	9
Patogenia del SA.....	10
Esquema de la fisiopatología en el SA.....	11
<b>El Estrés Oxidativo (EO)</b> .....	13
Concepto.....	13
Origen.....	13
Radicales libres (RL) .....	14
Formación de RL.....	14
El Oxígeno y sus derivados.....	15
Tipos de radicales libres y especies reactivas de oxígeno.....	16
Fuentes de radicales libres.....	18
Generación de radicales libres. Atributo de la vida aerobia normal.....	19

EL EO y la enfermedad en humanos.....	21
El EO y la enfermedad en animales.....	22
Modulación del EO. Sistema de defensa antioxidante.....	23
Algunos de los antioxidantes de importancia.....	24
El uso de los antioxidantes.....	27
Antioxidantes clave en la modulación del EO en el SA.....	29
Glutación (GSH). <i>Indicador más abundante de EO</i> .....	29
N-acetil-cisteína (NAC). <i>Precursor de la síntesis de GSH</i> .....	33
Ácido lipoico (AL). <i>Agente regenerador del GSH</i> .....	36
<b>IV. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>45</b>
<b>V. HIPÓTESIS .....</b>	<b>45</b>
<b>VI. OBJETIVOS .....</b>	<b>45</b>
<b>VII. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>46</b>
Fase de campo.....	46
Fase de laboratorio.....	47
Determinación de GSH.....	48
Esquematización de la técnica para determinar GSH.....	49
Análisis estadístico.....	50
<b>VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>51</b>
<b>IX. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>72</b>

## X. ÍNDICE PARA CUADROS Y FIGURAS

### CUADROS:

<b>Cuadro 1.</b> Comportamiento de los parámetros productivos observado en la avicultura a partir de la década de los 40's.....	3
<b>Cuadro 2.</b> Clasificación del sistema de defensa antioxidante.....	24
<b>Cuadro 3.</b> Principales eventos celulares involucrados con el GSH.....	30
<b>Cuadro 4.</b> Principales reservorios de GSH dentro del organismo.....	31
<b>Cuadro 5.</b> Actividad antioxidante del ácido $\alpha$ -lipoico y del ácido dihidrolipoico.....	39
<b>Cuadro 6.</b> Tratamientos incluidos en la prueba experimental.....	47
<b>Cuadro 7.</b> Muestras obtenidas durante la prueba experimental.....	47
<b>Cuadro 8.</b> Composición porcentual y aportes nutricionales de las dietas experimentales empleadas para pollo de engorda en las etapas de iniciación y finalización.....	72
<b>Cuadro 9.</b> Análisis de nutrientes calculado de las dietas experimentales para las etapas de iniciación y finalización.....	72
<b>Cuadro 10.</b> Resultados de Parámetros productivos. Etapas de iniciación, finalización y ciclo Completo.....	73
<b>Cuadro 11.</b> Resultados de los niveles de GSH en dietas enriquecidas con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Comparación entre tratamientos.....	74
<b>Cuadro 12.</b> Resultados de los niveles de GSH en dietas enriquecidas con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Comparación por semana.....	74

## FIGURAS:

<b>Figura 1.</b> Vías de generación de EO presentes en el SA.....	8
<b>Figura 2.</b> Circulación pulmonar bajo condiciones normales y secuencia fisiopatológica que conduce a la ascitis Terminal.....	11
<b>Figura 3.</b> Especies Reactivas derivadas del oxígeno.....	16
<b>Figura 4.</b> Síntesis e interconversión de GSH a nivel celular.....	32
<b>Figura 5.</b> Reacción de óxido-reducción del ácido lipoico y ácido dihidrolipoico.....	37
<b>Figura 6.</b> Vías por las cuales el dihidrolipoato restablece a otros antioxidantes.....	41
<b>Figura 7.</b> Ganancia de peso en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil cisteína. Etapa de iniciación (0-21 días).....	52
<b>Figura 8.</b> Ganancia de peso en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil cisteína. Etapa de finalización (22- 49 días).....	52
<b>Figura 9.</b> Ganancia de peso en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil cisteína. Ciclo completo (0-49 días).....	53
<b>Figura 10.</b> Consumo de alimento en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-ciateína. Etapa de iniciación (0-21 días).....	55
<b>Figura 11.</b> Consumo de alimento en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Etapa de finalización (22-49 días).....	55
<b>Figura 12.</b> Consumo de peso en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Ciclo completo (0-49 días).....	56
<b>Figura 13.</b> Conversión alimenticia en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Etapa de iniciación (0-21 días).....	57
<b>Figura 14.</b> Conversión alimenticia en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Etapa de finalización (22-49 días).....	57
<b>Figura 15.</b> Conversión alimenticia en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Ciclo completo (0-49 días).....	57
<b>Figura 16.</b> Mortalidad general en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Etapa de iniciación (0-21 días).....	58

<b>Figura 17.</b> Mortalidad general en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Etapa de finalización (22-49 días).....	59
<b>Figura 18.</b> Mortalidad general en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Etapa de Ciclo completo (0-49 días).....	59
<b>Figura 19.</b> Mortalidad por Síndrome Ascítico en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Etapa de iniciación (0-21 días).....	60
<b>Figura 20.</b> Mortalidad por Síndrome Ascítico en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Etapa de finalización (22-49 días).....	60
<b>Figura 21.</b> Mortalidad por Síndrome Ascítico en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Etapa de Ciclo completo (0-49 días).....	61
<b>Figura 22.</b> Valores de GSH de tejido hepático en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Semana 1.....	62
<b>Figura 23.</b> Valores de GSH de tejido hepático en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Semana 2.....	63
<b>Figura 24.</b> Valores de GSH de tejido hepático en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Semana 3.....	64
<b>Figura 25.</b> Valores de GSH de tejido hepático en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Semana 4.....	64
<b>Figura 26.</b> Valores de GSH de tejido hepático en pollos de engorda alimentados ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Semana 5.....	65
<b>Figura 27.</b> Valores de GSH de tejido hepático en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Semana 6.....	65
<b>Figura 28.</b> Valores de GSH de tejido hepático en pollos de engorda alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Semana 7.....	66
<b>Figura 29.</b> Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Comparación entre tratamientos 1, 2 y 3.....	67
<b>Figura 30.</b> Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Comparación entre tratamientos 1, 4, 5 y 6.....	68
<b>XII. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>74</b>

## I. RESUMEN

**BALDERAS GONZÁLEZ ANALÍA.** EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACIDO LIPOICO Y N-ACETIL-CISTEINA SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS E INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN EL POLLO DE ENGORDA. (Bajo la dirección de Dr. Enrique Piña Garza, MVZ MSc. Ernesto Ávila González y Dra. Raquel Guinzberg Perrusquia).

Con el propósito de evaluar diferentes combinaciones de ácido lipoico (AL) con N-acetil-cisteína (NAC) sobre los principales indicadores productivos, incluyendo la presentación de Síndrome Ascítico (SA), así como también valorar el daño a nivel hepático a través de los niveles de glutatión reducido (GSH); se utilizaron 1200 pollos mixtos de la línea Ross 508 de un día de edad, distribuidos en seis tratamientos de 180 pollos cada uno y 5 réplicas por tratamiento. Los pollos se alojaron en una caseta de ambiente natural y se alimentaron a libre acceso durante todo el ciclo productivo. Los tratamientos fueron los siguientes: **1.** Dieta basal (DB); **2.** DB+10 mg/kg de alimento de AL; **3.** DB+ 800 mg de NAC /kg de peso vivo; **4.** DB+ 10 mg/kg de alimento de AL + 200 mg de NAC/kg de peso vivo; **5.** DB+10mg/Kg de alimento de AL+400 mg de NAC/kg de peso vivo; y **6.** DB+10mg/kg de alimento de AL+ 800 mg de NAC/kg de peso vivo. Los resultados de los indicadores productivos ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, mortalidad general y mortalidad por SA para las etapas de iniciación, finalización y ciclo completo, no mostraron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) a favor de ninguna de las combinaciones planteadas. Sin embargo fue notable la diferencia numérica para ganancia de peso en el Tx.2 con respecto al resto de los tratamientos. El índice de mortalidad general resultó menor en los Tx.3 y Tx.5; mientras que para mortalidad por SA los menores índices se observaron en los Tx.5 y Tx.6.; destacando que en el Tx.3 la mortalidad fue nula. Con respecto a los valores de glutatión reducido (GSH) se encontró diferencia con significado estadístico ( $p<0.05$ ) para la semana 1 donde el Tx.5 resultó diferente de los Tx. 1 y 2 que entre ellos resultaron similares ( $P=0.010$ ); para la semana 2 donde el Tx1 mostró ser diferente y menor a los Tx.5 y Tx.6 ( $P=0.009$ ); y para la semana 7 con el Tx. 3 con respecto a los Tx.5 y Tx.6 que al ser similares entre ellos fueron mayores que el Tx3 ( $P=0.020$ ). De los resultados obtenidos en este estudio, se puede apreciar la diferencia numérica sobre ganancia de peso en el tratamiento con AL con respecto al resto de los tratamientos. Probablemente la NAC y la combinación con AL en sus dosis menor y media resulten benéfica sobre la mortalidad por SA, datos que además coinciden con los valores de GSH para los Tx.5 y Tx.6 ( $P>0.05$ ). Por lo que se concluye que aunque no se aprecian las diferencias estadísticas en parámetros productivos, existe una fuerte tendencia numérica que muestra el efecto positivo de la NAC y sus combinaciones sobre la mortalidad general y la mortalidad por SA; datos que podrían relacionarse con el incremento en los valores de GSH hepático para algunos de estos tratamientos. Se sugiere un mayor número de réplicas.

**Palabras clave:** Pollo de engorda, síndrome ascítico, ácido lipoico, N-acetil-cisteína, glutatión reducido, estrés oxidativo.

## ABREVIATURAS

<b>Síndrome ascítico</b>	<b>SA</b>
<b>Estrés oxidativo</b>	<b>EO</b>
<b>Antioxidantes</b>	<b>AOs</b>
<b>Radicales libres</b>	<b>RL</b>
<b>Especies reactivas del oxígeno</b>	<b>EROs</b>
<b>Glutación reducido</b>	<b>GSH</b>
<b>Glutación oxidado</b>	<b>GSSG</b>
<b>Glutación total</b>	<b>GSHT</b>
<b>Gama Glutamilcisteín sintetasa</b>	<b>GCS</b>
<b>Glutación peroxidasa</b>	<b>GPx</b>
<b>Superóxido dismutasa</b>	<b>SDO</b>
<b>Ácido lipoico</b>	<b>AL</b>
<b>N-acetil-cisteína</b>	<b>NAC</b>
<b>Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico</b>	<b>TBARS</b>
<b>Parámetros productivos</b>	<b>PP</b>
<b>Consumo de alimento</b>	<b>CDA</b>
<b>Ganancia de peso</b>	<b>GDP</b>
<b>Conversión alimenticia</b>	<b>CA</b>
<b>Mortalidad general</b>	<b>Mt Gral</b>
<b>Mortalidad por SA</b>	<b>Mt SA</b>
<b>Virus de inmunodeficiencia adquirida</b>	<b>VIH</b>

# EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DEL ACIDO LIPOICO Y DE LA N-ACETIL CISTEINA SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS E INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN POLLO DE ENGORDA

## II. INTRODUCCIÓN

Dentro del sector primario, la industria avícola es una de las actividades pecuarias con mayor desarrollo. Su importancia, radica en el hecho de que aporta, entre la carne de pollo y el huevo para plato, el 63.21% del total de la proteína de origen animal producida a nivel nacional<sup>1</sup>.

A nivel mundial, México es el cuarto productor de carne de pollo y el sexto de huevo para plato. Actualmente, mantiene consumos per cápita por arriba de los 25.03 Kg de carne de pollo y de los 22.4 kg de huevo para plato, por habitante *per annum*. Datos que, comparativamente superan por mucho a los consumos *per capita* de carne bovina (15.5kg) y carne porcina (15.3 kg)<sup>1</sup>.

La tendencia creciente por preferir el consumo de productos avícolas, se ha venido observando desde el año de 1994 hasta la fecha, y se explica básicamente por la coincidencia de razones nutritivas y económicas. La carne de pollo, por ejemplo, es una excelente fuente de proteínas de buena calidad, además su contenido calórico es bajo. Por su parte el huevo para plato es uno de los productos naturalmente mejor balanceados. Ambos son accesibles desde los puntos de vista, precio, manejo y conservación. Comercialmente hay facilidad para exportarlo o importarlo y están libres de impedimentos religiosos<sup>2</sup>.

Buscando un enfoque de “rendimiento económico”, la industria avícola ha debido optimizar los esquemas de procesos productivos contemplados para obtener proteína animal de excelente calidad a un costo mínimo y a un menor tiempo, mediante el estudio y la integración de disciplinas fundamentales como la genética, la nutrición, la sanidad y el manejo<sup>3</sup>.

A la fecha los resultados han sido muy favorables. Por ejemplo, para el 2005, se obtuvo una producción mayor a las 4.775 millones de toneladas de carne y huevo de aves, de donde 2.498 millones de toneladas fueron de carne pollo y 2.276 millones de toneladas de huevo para plato. Estas cifras, correspondieron a ganancias que superaron los 54 795 millones de pesos. Lo que representa a nivel pecuario el 44.17% del producto interno bruto (PIB), y a nivel agropecuario el 16.57%<sup>1</sup>.

Las proyecciones indican que México, en diez años, deberá tener una producción de más 7 millones de toneladas de huevo y carne de pollo conjuntamente, lo que equivaldría a ganancias mayores a los 81 610 millones de pesos; estos supuestos lejos de implicar un panorama económicamente agradable exigen un soporte técnico en el área biológica muy bien estructurado<sup>1</sup>.

A pesar de que el actual enfoque dirigido a la obtención de una máxima producción en un menor tiempo, a través de estrictos programas zootécnicos, aunados a una intensa selección genética, ha resultado provechoso, no ha sido del todo eficiente, ya que la manifestación de ciertos desórdenes metabólicos o funcionales en las aves se ha hecho evidente<sup>4</sup>.

Como se muestra en el Cuadro 1, en el pollo de engorda los parámetros productivos se han ido mejorado cada vez más; los días al ciclo son menores y las ganancias de peso mayores, la conversión alimenticia indica mayor eficiencia mientras que la viabilidad se conserva en altos índices<sup>2</sup>. Sin embargo, parece ser, que se está llegando también, a un límite fisiológico donde el ave manifiesta una incapacidad anatomofisiológica para adaptarse a la sobrecarga de estrés generada durante el transcurso de los intensos ciclos producción<sup>4</sup>.

Enfermedades como el Síndrome Ascítico, el síndrome de muerte súbita, debilidad en patas, y pobre fertilidad, entre otros<sup>2</sup>, son padecimientos que frecuentemente se asocian a este tipo de producción intensificada y acelerada.

**Cuadro 1. Comportamiento de los parámetros productivos observado a partir de la década de los 40's<sup>2</sup>.**

Año	Peso (g)	Edad (días)	Ganancia de peso/día (g)	Conversión Alimenticia (kg:kg)	Viabilidad (%)
1943	1360	84	16.4	4	90
1963	1590	67	23.7	2.4	94.3
1983	1930	49	39.4	1.9	95.5
1993	2040	42	48.6	1.8	95.7
2000*	2270	38	59.7	1.7	95.5
2007**	2900	49	59.1	1.8	95.5

\* Valor proyectado \*\* Valor tomado de la línea comercial Ross-508.

Entre las enfermedades señaladas, despierta especial interés, el síndrome ascítico (SA), enfermedad cuya gran incidencia en las parvadas genera un impacto económico importante; que además revela en su patogenia la presencia de un particular cuadro bioquímico de estrés oxidativo<sup>5,6</sup>.

En términos generales el SA es consecuencia, por un lado, de la intensa selección genética encaminada a mejorar los rendimientos productivos en el pollo de engorda y por otro, a las condiciones ambientales y de manejo que someten al ave a una carga de estrés a la que no puede adaptarse<sup>6</sup>.

El SA en principio se ha asociado a pollos de rápido crecimiento cuya crianza se desarrolla a elevadas altitudes sobre el nivel del mar, por lo tanto es un problema que se ha reportado en países como Sudáfrica, Kenia, algunas partes del sur de América y México, por mencionar algunos<sup>7</sup>.

En México, desde los principios de la década de los setenta, se observó un incremento importante en el SA; su incidencia elevada se ha reflejado en porcentajes de mortalidad en la parvada hasta de un 30%. Estudios como el de López (1991)<sup>8</sup> revelan que en el periodo de 1981 a 1984 los registros de mortalidad por SA resultaron en un 37.5% de la mortalidad general.

Durante 1995, a nivel nacional, se produjeron 900 millones de pollos de engorda, de los cuales se estima que el 70% (630 millones), se ubicaron en zonas donde el SA representó el 3% de la mortalidad total (18.9 millones e aves)<sup>9</sup>. Hasta la fecha, estudios experimentales y reportes de granja siguen apoyando niveles notablemente elevados de mortalidad atribuidos a esta causa<sup>4, 6</sup>.

Las pérdidas económicas directas, no solo se limitan al porcentaje de mortalidad, sino también a la pérdida en productividad de la parvada que ocurre por la aplicación de medidas paliativas, como son los programas de restricción alimenticia, que en general causan una reducción de 100 a 150 g sobre ganancia de peso de cada pollo y alargan los días de ciclo de las parvadas. Añadiendo además, que este síndrome resulta ser la causa de decomiso más común en los rastros<sup>9</sup>.

## EL SÍNDROME ASCÍTICO

El SA también conocido como Síndrome de Hipertensión Pulmonar, es una entidad patológica específica, común en el pollo de engorda, que se logra diferenciar de las otras causas de ascitis por la manifestación de un cuadro clínico específico, compuesto por: hidropericardio, cardiomegalia, hipertrofia cardiaca derecha, flacidez, pérdida de tono del miocardio, congestión crónica pasiva generalizada, aumento de la presión hidrostática venosa, edema pulmonar, hipertensión pulmonar, hipertrofia de la arteria pulmonar y fluido con gravedad específica baja<sup>10,11,12</sup>.

Por lo tanto el SA, es una entidad con características epidemiológicas, clínicas y anatomofisiológicas constantes, que transcurren entre otros síntomas y lesiones con ascitis; una condición patológica derivada de las causas generales del edema<sup>5</sup>; caracterizada por la acumulación de fluido no-inflamatorio en el espacio intersticial de órganos y tejidos<sup>5,13</sup>. Aunque el SA se hace evidente a partir de la tercera semana de edad, es posible observarlo a edades tan tempranas como los 15 días<sup>8</sup>. En general, su incidencia es mayor en el pollo de engorda, a partir de la quinta semana de edad<sup>6</sup>.

### **El SA: Enfermedad metabólica multifactorial con una causa primaria**

Aunque se menciona que la participación de diversos agentes tóxicos, ambientales, genéticos, nutricionales, de manejo, infecciosos y físicos que solos o algunos en su conjunto, pueden llegar a actuar como factores que predispongan a la manifestación del SA<sup>9</sup>; la problemática central se puede

Las pérdidas económicas directas, no solo se limitan al porcentaje de mortalidad, sino también a la pérdida en productividad de la parvada que ocurre por la aplicación de medidas paliativas, como son los programas de restricción alimenticia, que en general causan una reducción de 100 a 150 g sobre ganancia de peso de cada pollo y alargan los días de ciclo de las parvadas. Añadiendo además, que este síndrome resulta ser la causa de decomiso más común en los rastros<sup>9</sup>.

## EL SÍNDROME ASCÍTICO

El SA también conocido como Síndrome de Hipertensión Pulmonar, es una entidad patológica específica, común en el pollo de engorda, que se logra diferenciar de las otras causas de ascitis por la manifestación de un cuadro clínico específico, compuesto por: hidropericardio, cardiomegalia, hipertrofia cardiaca derecha, flacidez, pérdida de tono del miocardio, congestión crónica pasiva generalizada, aumento de la presión hidrostática venosa, edema pulmonar, hipertensión pulmonar, hipertrofia de la arteria pulmonar y fluido con gravedad específica baja<sup>10,11,12</sup>.

Por lo tanto el SA, es una entidad con características epidemiológicas, clínicas y anatomofisiológicas constantes, que transcurren entre otros síntomas y lesiones con ascitis; una condición patológica derivada de las causas generales del edema<sup>5</sup>; caracterizada por la acumulación de fluido no-inflamatorio en el espacio intersticial de órganos y tejidos<sup>5,13</sup>. Aunque el SA se hace evidente a partir de la tercera semana de edad, es posible observarlo a edades tan tempranas como los 15 días<sup>8</sup>. En general, su incidencia es mayor en el pollo de engorda, a partir de la quinta semana de edad<sup>6</sup>.

### **El SA: Enfermedad metabólica multifactorial con una causa primaria**

Aunque se menciona que la participación de diversos agentes tóxicos, ambientales, genéticos, nutricionales, de manejo, infecciosos y físicos que solos o algunos en su conjunto, pueden llegar a actuar como factores que predispongan a la manifestación del SA<sup>9</sup>; la problemática central se puede

ubicar en dos fuertes razones que desencadenan en un severo cuadro de estrés oxidativo (EO) y finalmente en el SA<sup>14,15</sup>:

i) Por un lado las condiciones de **hipoxia**, producto de la coincidencia de dos situaciones contrarias; donde se observa una mayor demanda de oxígeno para cubrir las necesidades de la masa muscular en desarrollo; junto con el aporte insuficiente del mismo oxígeno, debido principalmente a factores específicos, como la menor disponibilidad de esta molécula vital, ya sea por la menor presión parcial de oxígeno a nivel ambiental; y/o, por la deficiente capacidad del sistema cardiorespiratorio para actuar bajo estas circunstancias<sup>14</sup>, y por otro lado;

ii) Por el desequilibrio metabólico generado entre los sistemas músculo-esquelético y el cardio-pulmonar, debido a la respuesta limitada del segundo para responder las demandas tan elevadas del primero. Específicamente, en este punto, un aspecto de real importancia es el riesgo de lesión tisular como consecuencia de la hipoxia, cuando aparecen **especies reactivas derivadas del oxígeno (EROs)**<sup>15</sup>, que desencadenan como se indicó anteriormente, en un cuadro crónico por la naturaleza de las circunstancias, de EO.

Bajo estas condiciones, cualquier factor, que predisponga a los pollos de engorda a un hipoxia y la subsecuente generación de EROs; como son: una menor presión parcial de oxígeno por elevada altitud, o por falta de ventilación, un aumento en los requerimientos de oxígeno por bajas temperaturas ambientales, el daño en tejido pulmonar por causas infecciosas, químicas o mecánicas, el daño en tejido pulmonar, cardíaco o hepático por causas tóxicas, podrá desencadenar un cuadro de EO y el desarrollo del SA<sup>8,15</sup>.

El clima frío, los cambios bruscos de temperatura, la calidad del aire, y la altitud sobre el nivel del mar, son factores ambientales clave, relacionados con la presentación del SA. Señalando que en la actualidad, el SA ya no está restringido a zonas de elevada altitud, ya que este problema también se presenta en bajas altitudes sobre todo cuando existen complicaciones de aspergiliosis pulmonar o problemas tóxicos que afectan el hígado<sup>8</sup>.

A continuación se hace mención de algunos de los factores asociados y citados con mayor frecuencia en relación al SA:

- Casetas con alta densidad poblacional y/o mala ventilación<sup>5</sup>.
- Inhalación de polvo e irritantes, como el formol<sup>5</sup>.
- Predisposición ligada al sexo<sup>7</sup>.
- Inadecuada tensión de oxígeno en incubadoras y nacedoras<sup>12</sup>.
- Crías provenientes de reproductoras con micoplasma<sup>16</sup>.
- Malformaciones genéticas cardíacas<sup>16</sup>.
- Dietas ricas en grasas polinsaturadas<sup>16</sup>.
- Crianza en zonas con altitudes por arriba de los 1500 msnm<sup>11,16</sup>.
- Alta densidad energética en la ración<sup>17</sup>.
- Dietas en forma peletizada o granulada<sup>12, 17</sup>.
- Aves criadas a bajas temperaturas, temporadas invernales y con intensos programas de iluminación<sup>12, 17</sup>.

Diversos autores han concluido que los cambios anatomofisiológicos que se encuentran constantemente en el SA, se asemejan mucho a los presentes en pollos que han sido sometidos a hipoxia crónica, experimental<sup>18</sup>. Los efectos de la hipoxia crónica se han conocido desde hace muchos años en los animales y en el hombre y entre las alteraciones anatómicas y fisopatológicas que la acompañan, destacan la hipertensión pulmonar, dilatación e hipertrofia cardíaca derecha, congestión pasiva venosa generalizada, incremento de la presión hidrostática venosa y edema<sup>19</sup>. Por esta razón, se apoya la idea de que la hipoxia desempeña un papel de gran importancia en el desarrollo de SA<sup>14</sup>. Además de la clara deficiencia en la capacidad de oxigenación hemática del pollo de engorda, debida en gran medida, al rápido desarrollo corporal que no concuerda con el pulmonar; se sabe, por estudios comparativos, que el pulmón del pollo para abasto es menos eficiente anatómicamente para el intercambio gaseoso que el pulmón de por lo menos otras 25 especies de aves silvestres<sup>16,20</sup>. Es conveniente también considerar otros estudios comparativos entre el pollo doméstico y su ancestro *Gallus gallus*, donde el primero resulta ser sustancialmente inferior al segundo en lo referente a diversos parámetros pulmonares importantes<sup>21,22</sup>. Por ejemplo:

- a) El pulmón del gallo doméstico tiene un volumen 20% inferior al del gallo silvestre.
- b) La barrera aerohemática tisular del gallo doméstico es 28% más gruesa que la del gallo silvestre.
- c) La capacidad de difusión de oxígeno de la barrera tisular aerohemática del pollo doméstico es 25% inferior a la del gallo silvestre.

En este contexto, vale la pena insistir en las consecuencias moleculares ampliamente observadas en tejidos sometidos a hipoxia, las cuales sin lugar a dudas contribuyen a alterar la fisiología tisular. La falta de oxígeno en las células ocasiona un aumento de las EROs (especies reactivas de oxígeno), cuyo ejemplo típico es el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) que a su vez genera otras EROs identificadas como radicales libres (RL) entre las que se pueden mencionar al radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) y al radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ )<sup>15</sup>.

Una de las características de las EROs y de los RL es su altísima reactividad, lo que las lleva a combinarse con las moléculas celulares, ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y carbohidratos, ocasionando una notable alteración de la fisiología celular que puede llegar a la muerte<sup>15</sup>.

Nótese que para fines prácticos, cualquier condición que promueva en los pollos de engorda la hipoxia ya existente, tenderá a incrementar la presencia celular de EROs, las cuales favorecerán la lesión de moléculas celulares y promoverá la disfunción celular haciendo más aparente la patología observada<sup>15</sup>. Así por ejemplo, entre los factores que pueden contribuir a la formación de EROs en el SA, se identifican a los siguientes<sup>23,24</sup>:

- i) Mayor exigencia metabólica debida a los intensos programas de alimentación a los que se somete el pollo de engorda.
- ii) Defecto en la reducción del oxígeno a nivel de cadena respiratoria suscitada a nivel mitocondrial, producto de la selección genética aplicada a este tipo de estirpes, y;
- iii) Disfunción a nivel endotelial en respuesta a la hipoxia crónica, observada con un mecanismo inflamatorio generalizado que involucra la liberación final de EROs.

Referente al último punto, cabe mencionar, que entre las funciones del endotelio, está la de regular el tono vascular a través de una serie de mediadores (endotelina 1 y tromboxano como vasoconstrictores, y prostaciclina y óxido nítrico como vasodilatadores). Frente a diversos estímulos como los que componen los factores de riesgo cardiovascular (tabaco, lípidos, diabetes) o aquellos que acontecen en enfermedades que cursan con hipoxia, como el SA, se produce una respuesta endotelial anómala que da lugar a vasoconstricción, reducción de la capacidad de vasodilatación y una reacción inflamatoria<sup>24</sup>. Cuando la intensidad y duración del estímulo (en este caso la hipoxia) es constante, se observa una inflamación sistémica, lo que expone al organismo a una cantidad notable de EROs<sup>24</sup>.

En el SA, la generación excesiva de EROs por las tres vías indicadas anteriormente; las dos primeras directas y la última indirecta, pueden generar y magnificar la reacción inflamatoria a nivel sistémico (obsérvese la Figura 1.) García y cols.<sup>25</sup>, propone que los mecanismos implicados bajo estas circunstancias pueden afectar a otros órganos, como por ejemplo, pulmón y corazón, que actúan en principio, en respuesta a la necesidad de conservación de la homeostasis, pero que en situaciones crónicas, terminan por comprometer la vida del individuo.

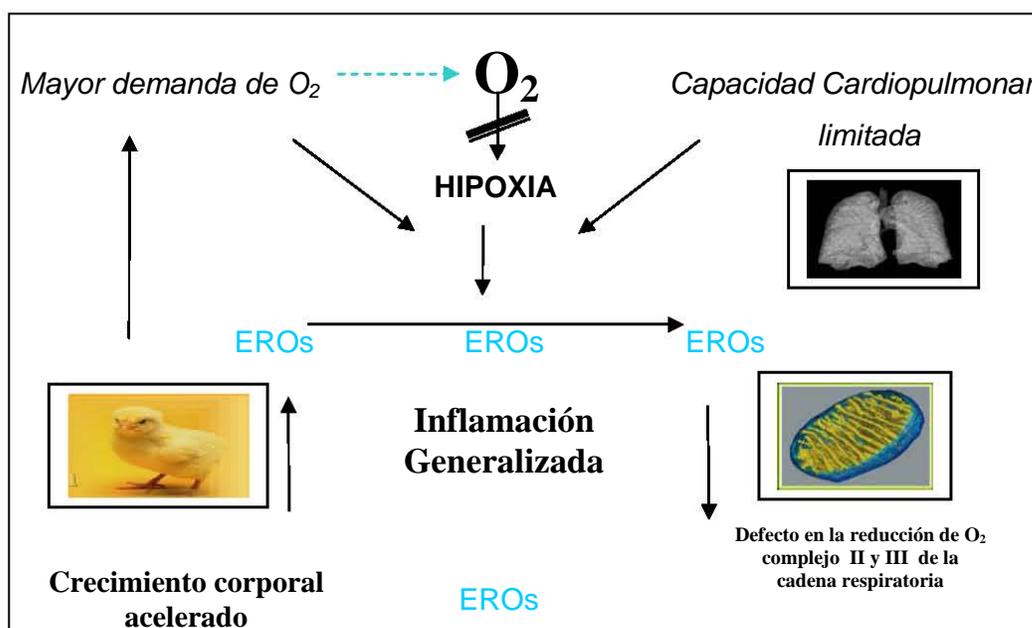


Figura 1. Vías de generación de EO presentes en el SA.

De modo que, la coincidencia de uno o más factores predisponentes (que dañan directamente al sistema respiratorio y comprometen el intercambio eficiente de oxígeno a nivel pulmonar<sup>26</sup>, aunado a la capacidad anatomofisiológica pulmonar limitada del pollo de engorda y a la velocidad exagerada de crecimiento de su masa muscular; predispone, facilita y exacerba en el pollo de engorda, una situación que en principio, se relaciona con un consumo y transporte deficiente de oxígeno, y simultáneamente con una mayor demanda de oxígeno por la existencia de más tejido muscular, lo que se traduce a una hipoxia tisular junto con la formación de EROs, que derivan, tras volverse la situación crónica, en un cuadro de EO acompañado de una variedad de signos ya bien identificados en el SA<sup>4,12,27</sup>.

### **Los signos del SA**

Los pollos con SA, mostrarán cianosis de cresta y barbillas, cresta atrofiada, cabeza pálida, boqueo o jadeo, letargia, plumaje erizado y el abdomen distendido. Los pollos afectados caminan con dificultad y cuando se manipulan, el fluido en cavidad abdominal se puede palpar. No todas las aves con SA presentan líquido en cavidad abdominal sobre todo si se trata de los primeros estadios de la enfermedad<sup>28</sup>.

### **Las lesiones del SA**

A nivel macroscópico los pollos con SA presentan gran cantidad de líquido ascítico en cavidad abdominal, éste puede ser claro o amarillo, y puede llegar a coagularse formando una masa de aspecto gelatinoso que se deposita al rededor del hígado y otras vísceras<sup>28</sup>.

En corazón se observa dilatación del ventrículo derecho, flacidez de la pared, y bordes redondeados, puede haber petequias en grasa coronaria y miocardio.

En hígado se aprecia un aumento de tamaño, bordes redondeados, congestión; en la etapa terminal se puede producir cirrosis. La coloración puede ser grisácea, duro al tacto y con coágulos de fibrina adheridos<sup>28</sup>.

En pulmones, áreas pálidas con variación en la coloración desde gris hasta sensiblemente rojizo, presentando también edema<sup>28</sup>.

A nivel microscópico, se observa en cortes de hígado, la disociación de láminas hepáticas, individualización de cordones hepáticos, infiltración grasa,

cariorexis y degeneración hialina. Julian (1993)<sup>27</sup>; menciona además; que los hepatocitos pierden la uniformidad estructural original, presentando vacuolización en citoplasma, gran infiltración de basófilos y aumento en la cantidad de eosinófilos. En pulmones se informa congestión con un mayor número de macrófagos, heterófilos y un evidente engrosamiento en las paredes capilares<sup>28</sup>. Al respecto Maxwell (1999)<sup>7</sup>, en su trabajo con pollos ascíticos inducidos por hipoxia, reporta un gran número de células inflamatorias a nivel de tejido hepático, pulmonar y cardíaco.

### **Patogenia del SA**

Tal como se observa en la Figura 2; cuando el pollo criado bajo las condiciones descritas anteriormente experimenta hipoxia, hay menor concentración de oxígeno en los tejidos, a nivel pulmonar hay una disminución significativa en las presiones parciales de oxígeno, así como incremento en las presiones parciales de CO<sub>2</sub> arterial; se genera acidosis metabólica que en un mecanismo fisiológico de compensación se contrarresta con el aumento de bicarbonato; y se detecta un incremento del hematocrito, consecuencia de la policitemia generada como producto del estímulo de la eritropoyetina sobre la médula ósea para liberar más glóbulos rojos necesarios para el transporte de oxígeno<sup>7,11</sup>.

Como resultado la sangre se vuelve más viscosa, incrementando la resistencia del flujo sanguíneo y ocasionando una presión arterial pulmonar elevada, caracterizada por una constricción a nivel de las arteriolas pulmonares, y por ende hipertensión pulmonar<sup>7</sup>.

Esta condición contribuye a un mayor trabajo cardíaco, particularmente del ventrículo derecho, que al enfrentarse a una mayor presión venosa sostenida, se hipertrofia y si la situación continua, se torna flácido y termina por dilatarse., continuando con una insuficiencia valvular, reflujo sanguíneo, hipertensión portal, congestión de órganos, salida de líquidos por venas coronarias y cava, para terminar acumulándose en el saco pericárdico y en cavidad abdominal. La ascitis se manifiesta rápidamente en respuesta a un aumento en la presión venosa<sup>7,11,28</sup>.

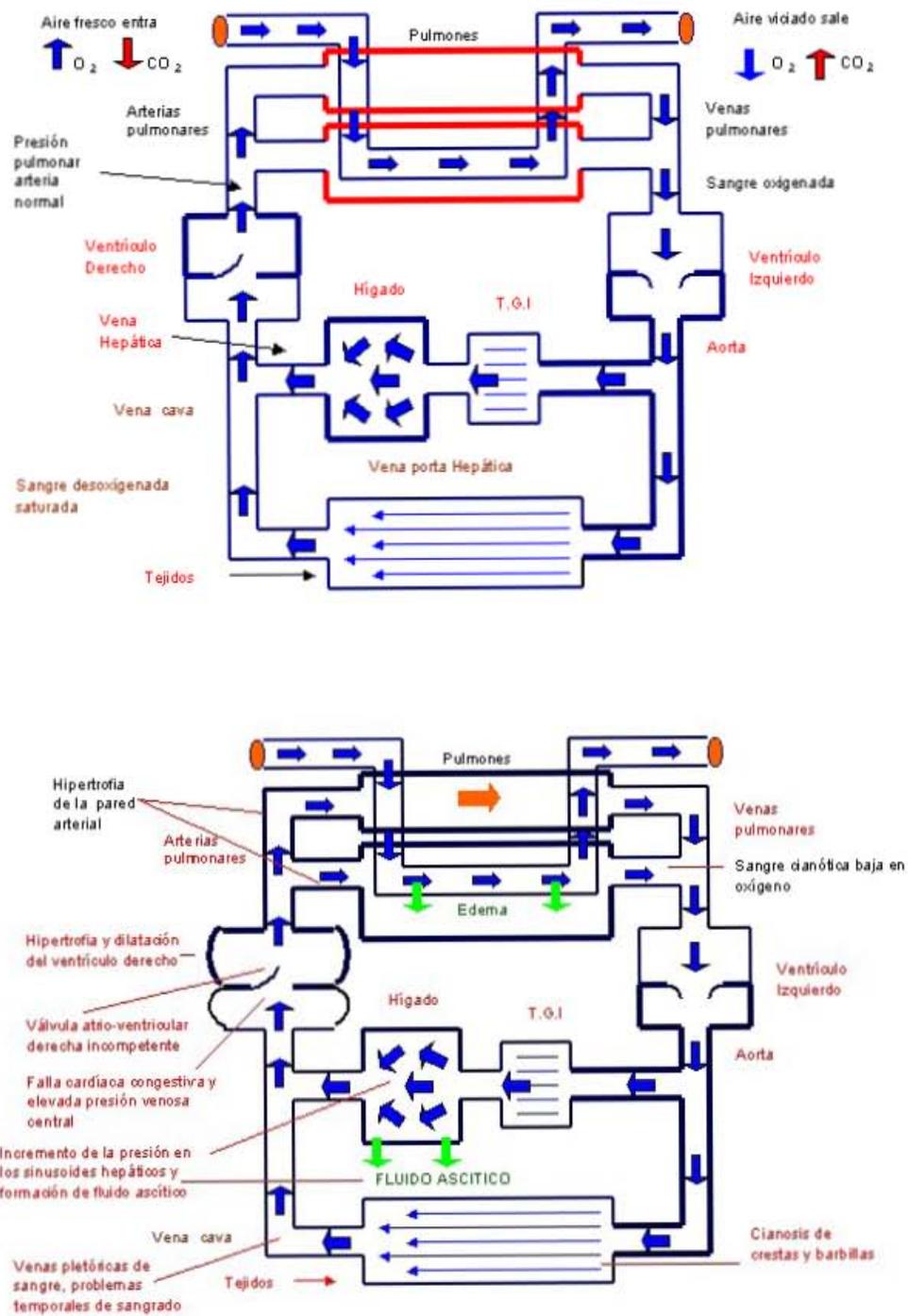


Figura 2. Circulación pulmonar bajo condiciones normales y secuencia fisiopatológica que conduce a la ascitis Terminal <sup>13,28</sup>

A nivel bioquímico se explica que ante la situación de disponibilidad de oxígeno limitada, se pueden activar a nivel tisular las enzimas fosfolipasas A y C encargadas de la producción de mediadores químicos de la inflamación, como prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos derivados del ácido araquidónico. Estos mediadores atraen células blancas, principalmente neutrófilos, las cuales son liberadoras de EROs<sup>6</sup>.

Los neutrófilos, son células blancas fagocíticas, que representan la primera línea de defensa del organismo; su función es la de contrarrestar la invasión de diversos agentes patógenos, mediante la participación de la NADPH oxidasa, en el proceso conocido como “estallido respiratorio”. Esta enzima de múltiples sub unidades proteicas, ubicada a nivel de la membrana plasmática transporta electrones desde el NADPH citoplasmático al oxígeno molecular en orden de generar radicales superóxido y otras EROs para eliminar los microorganismos que entren en contacto con el huésped<sup>29</sup>.



En pacientes con enfermedad pulmonar crónica obstructiva (EPCO) por ejemplo, se han detectado marcadores de estrés oxidativo en sangre periférica, elevadas concentraciones plasmáticas de reactantes de fase aguda (proteína C reactiva), de citocinas (factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ) y de interleucinas seis y ocho; así como la activación de los neutrófilos y linfocitos circulantes. Todos estos hallazgos sugieren que las alteraciones inmunológicas desencadenadas en el pulmón, se extiende hacia el torrente circulatorio originando una reacción inflamatoria sistémica<sup>25</sup>. Además, en un proceso paralelo, es posible que la formación de EROs se produzca también, por un defecto en la reducción del oxígeno a nivel de cadena respiratoria. Se han observado en estudios en pollos con SA; que los niveles de peróxido de hidrógeno en mitocondrias de pulmón, son mayores que en las mitocondrias de pollos normales. Diferencias que se magnificaron al inhibir sitios específicos de la cadena de transporte de electrones como los complejos II y III (coenzima Q)<sup>23</sup>.

Estos resultados indican que los defectos a nivel de complejos I y III en mitocondrias de pulmón pueden subrayar la disfunción del SA en pollo de engorda; y que tales defectos podrían estar relacionados incluso con una predisposición genética al SA<sup>23</sup>. De manera que, tanto las EROs como los RL, generados por cualquiera de estas u otras vías, son capaces de ocasionar daño a las células a diferentes niveles, ocasionando el cuadro patológico de estrés oxidativo el cual en el pollo de engorda con SA se ha venido observando desde hace algunos años<sup>6,30,31</sup>.

### El Estrés Oxidativo

El término “Estrés Oxidativo” se refiere a un desequilibrio entre la velocidad de producción de radicales libres y la capacidad del sistema antioxidante del organismo, para remover a éstas moléculas y reparar los daños producidos a nivel molecular<sup>32,33,34</sup>.

Básicamente, el cuadro de estrés oxidativo puede ser generado, a partir de los siguientes procesos:

- a) **Excesiva producción de radicales libres**, ya sea por exposición a elevadas concentraciones de oxígeno, presencia de toxinas que al ser metabolizadas originan radicales libres, por la activación excesiva de los sistemas productores de estos compuestos bajo condiciones fisiológicas<sup>35,36</sup> como el metabolismo aerobio normal, y la acción de los peroxisomas, del sistema enzimático citosólico P-450 y la fagocitosis<sup>37</sup>. También, por condiciones de hipoxia e isquemia por reperfusión que implican la activación de las fosfolipasas A y C y un aumento en la generación de RL<sup>36</sup>.
- b) **Disminución sustancial de antioxidantes** causada por aporte insuficiente en la dieta. (Deficiencia de vitaminas E, C, riboflavina, etc)<sup>36</sup>.

En éste panorama, se ubica a los RL como aquellos átomos o compuestos moleculares que contienen uno o más electrones ( $e^-$ ) no apareados en su orbital más externo, situación que les confiere la propiedad de reaccionar muy fácilmente con los compuestos celulares<sup>38</sup>.

Normalmente se encuentran en concentraciones bajas ( $1 \times 10^{-4}$  a  $1 \times 10^{-9}$  M) y no se desplazan muy lejos de los sitios donde se forman porque su vida media es muy corta<sup>39</sup>. Pero debido a su alta reactividad pueden reaccionar con otras moléculas no radicales provocando reacciones en cadena<sup>40</sup>.

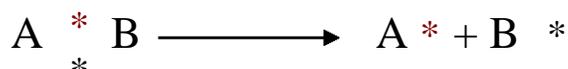
### Formación de radicales libres

En un átomo o molécula con uno o más electrones desapareados, la tendencia es que éstos se comporten paramagnéticamente, lo que significa que están ocupando orbitales diferentes y que sus spines apuntan en direcciones totalmente azarosas. A nivel molecular la formación de RL puede llevarse a cabo por uno de los siguientes tipos de reacciones<sup>39</sup>:

- (i) Ceder su electrón desapareado (radical reductor)
- (ii) Aceptar un electrón de la molécula estable para estabilizar el electrón desapareado (radical oxidante)

Estos pueden formarse muy fácilmente por ruptura de un enlace covalente. Por ejemplo, en el supuesto de que A y B fueran dos átomos unidos covalentemente, tendríamos la siguiente vía de formación de radicales<sup>39</sup>:

Fisión homolítica, donde (donde  $*$  representan el par de electrones):



Tanto  $A^*$  como  $B^*$  quedarán como átomos radicales puesto que mantienen cada uno a un electrón libre. Por ejemplo, tras la ruptura del enlace covalente en la molécula de  $H_2O$  se obtienen el radical de hidrógeno ( $H^*$ ) y el radical hidroxilo ( $OH^*$ ).

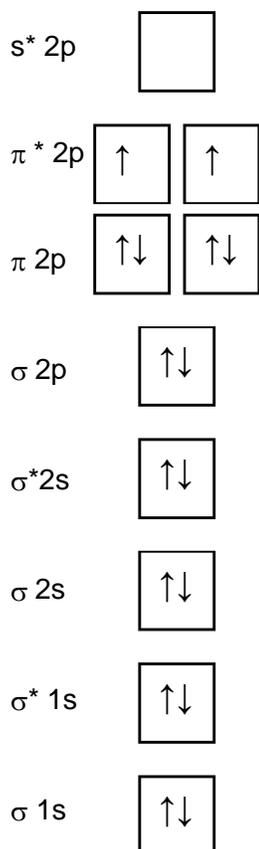


## El oxígeno y sus derivados

La gran mayoría de las reacciones de interés suscitadas en la naturaleza son reacciones de **óxido-reducción** que comprenden la transferencia de electrones de un reactivo a otro.

Es conveniente precisar que el proceso de oxidación se refiere a la reacción donde un átomo o un grupo de átomos pierden  $e^-$ ; mientras que el proceso de reducción consiste en que un átomo o un grupo de átomos ganan  $e^-$ . En este contexto, el agente oxidante, es la sustancia que se reduce (gana  $e^-$ ) provocando la oxidación; y el agente reductor es la sustancia que se oxida (pierde  $e^-$ ) provocando la reducción.

La molécula de oxígeno tal como se encuentra naturalmente, puede llegar a figurar como radical: en el esquema siguiente se muestra que posee dos electrones desapareados ubicados en diferentes espacios a nivel de su último orbital. Estos electrones se caracterizan por tener spines paralelos<sup>39</sup>. En un momento dado, el oxígeno podrá actuar como agente oxidante con otros átomos o moléculas al aceptar un par de electrones.



El principio de Pauli que concibe a los electrones dentro de un orbital de forma antiparalela, excluye a la molécula de oxígeno para poder recibir al par de electrones en esta forma. Por lo que la tendencia en el proceso de reducción será recibir a los electrones uno a uno. Esta situación le da la peculiar reactividad a esta molécula, y permite la generación de una gama de moléculas derivadas con gran importancia dentro de los procesos de estrés oxidativo (ver Figura 3).

Entre las formas más reactivas del oxígeno se ubican los dos tipos de **oxígeno singulete**. Estos pueden originarse en presencia de compuestos fotocolorimétricos, por dismutación espontánea del oxígeno o por la descomposición del peróxido de hidrógeno, entre otras. El oxígeno singulete Sigma ( $\Sigma^1O_2$ ) es la forma de los singuletes que tiene los dos electrones desapareados pero en forma antiparalela, mientras que el oxígeno singulete Delta  $\Delta^1O_2$  se caracteriza por tener los dos electrones apareados; éste tipo molecular no es un radical, dado que no posee electrones desapareados, sin embargo en esta situación su capacidad oxidante sigue siendo aun muy poderosa<sup>39</sup>.

### Esquematización de la molécula de oxígeno en estado basal

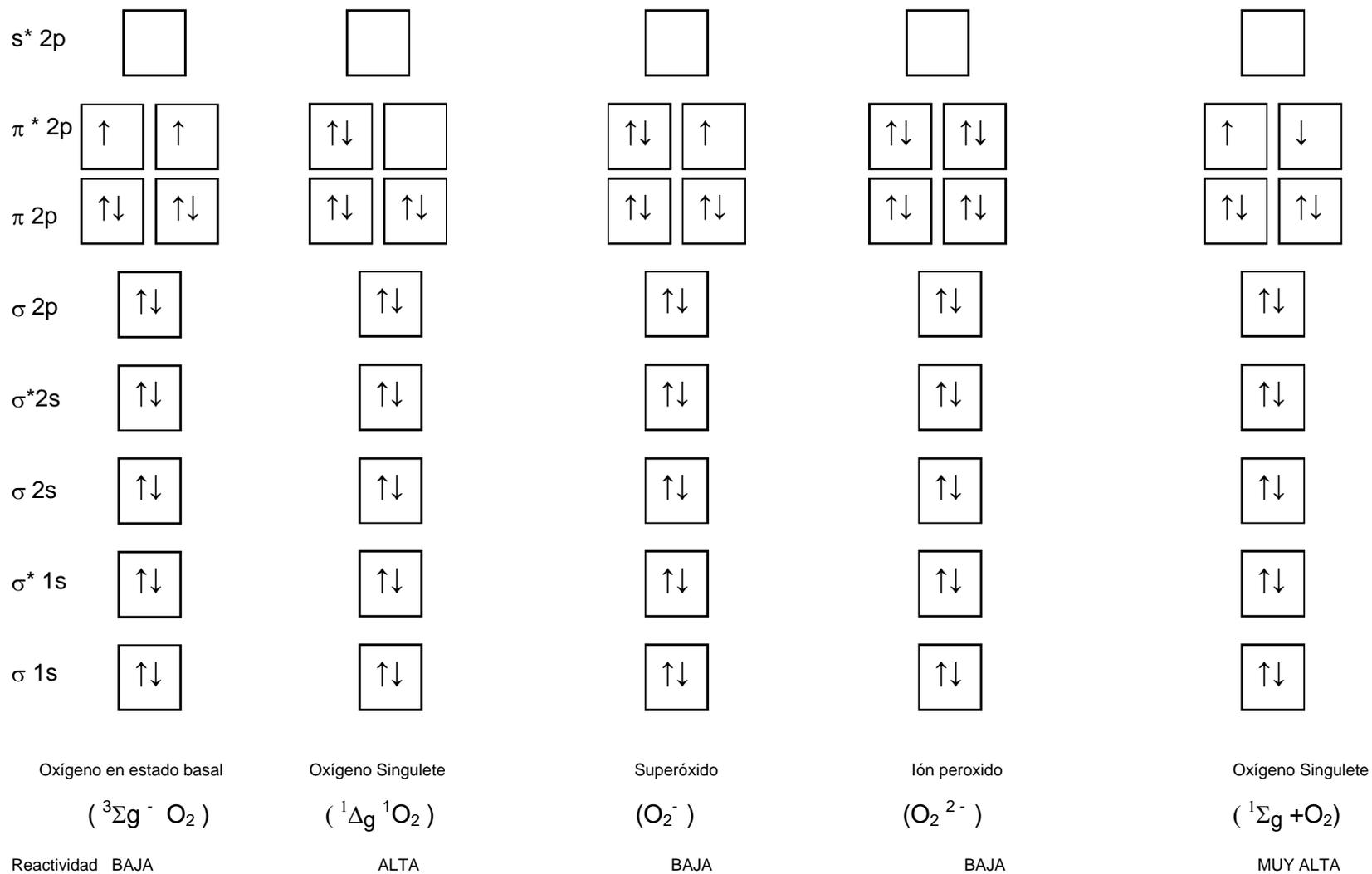


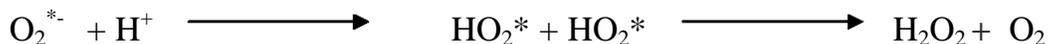
Figura 3. Especies Reactivas derivadas del oxígeno

Cuando un solo electrón es agregado al estado basal del oxígeno, aunque se coloque en sentido antiparalelo formará un radical libre; el radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), éste radical podrá aceptar a otro electrón formando al ión peroxilo; o bajo la acción de la superóxido dismutasa dismutarse para formar peróxido de hidrógeno  $H_2O_2$ . El peróxido de hidrógeno sufre entonces una ruptura en su enlace peróxido y se transforma en especies como el radical  $OH^*$  que es muy oxidante. También a partir del  $H_2O_2$  se puede formar por acción de la mieloperoxidasa y con la participación del  $Cl^-$  el hipoclorito ( $HClO$ ) otra especie con gran tendencia antioxidante. Esta molécula reacciona nuevamente con la forma oxígeno singulete una molécula que estrictamente no es un radical libre pero si una especie reactiva con gran capacidad <sup>41</sup>.

### **Algunas EROs de importancia** **Anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ )**

En un inicio diversos autores; postularon al  $O_2^{\cdot-}$  como el principal responsable in vivo de los efectos tóxicos del oxígeno<sup>4</sup>. El  $O_2^{\cdot-}$  es un radical libre, el cual se forma cuando el oxígeno acepta un electrón en el último orbital, por lo que un electrón queda desapareado. Este proceso ocurre en todos los organismos que respiran, pues una pequeña parte de los electrones que pasa por la cadena respiratoria salen de esta y son capturados por el oxígeno<sup>33</sup>. Otro lugar donde se generan es en el transporte de electrones del retículo endoplásmico y en los citocromos P450 de la membrana nuclear<sup>33</sup>.

La adición de un electrón más al  $O_2^{\cdot-}$  da la formación a un no radical, el ión hidroperoxilo ( $HO_2^*$ ), el cual en presencia de protones se transforma en  $H_2O_2$ .



### **Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ )**

La mayor parte del  $H_2O_2$  proviene de la dismutación del  $O_2^{\cdot-}$ , aunque también algunas oxidasas lo producen como oxidasa de la xantina. Aunque es poco reactivo, su toxicidad radica en que se pueden formar  $^1O_2$  y radical hidroxilo ( $OH^*$ ), estos últimos formados en la reacción de fenton, en presencia de metales de transición como el  $Fe^{2+}$  el  $Cu^{2+}$  <sup>(33)</sup>.



### **Oxígeno singulete ( $^1\text{O}_2$ )**

Como se mencionó, el  $^1\text{O}_2$  se produce en presencia de compuestos fotocolorimétricos, los cuales pueden captar energía luminosa, y que son capaces de transferir energía al oxígeno y formar al  $^1\text{O}_2$ . Además este mismo compuesto puede ser formado tras la dismutación espontánea del oxígeno y de la descomposición del  $\text{H}_2\text{O}_2$ <sup>33</sup>.

El  $^1\text{O}_2$  si bien no se considera un radical libre como tal, por el hecho de no tener electrones desapareados; resulta una molécula muy reactiva con la capacidad de reaccionar con la mayoría de los compuestos celulares<sup>33</sup>.

### **Fuentes de radicales libres**

La generación de RL sucede de manera constante dentro de los seres vivos, y se involucra principalmente con el metabolismo celular del oxígeno junto con las reacciones de oxido-reducción. Sin embargo, también existen, otros mecanismos bioquímicos de generación de RL a nivel celular, como; la fagocitosis y el papel de la NADPH oxidasa, la acción del sistema enzimático citocromo P-450 y los peroxisomas, la autoxidación de catecolaminas, síntesis de prostaglandinas, oxidación de hipoxantina y xantina hasta ácido úrico, y otras fuentes “externas” como la radiación ionizante, contaminantes atmosféricos, productos de la combustión de materia orgánica y las altas ingestas de algunos metales pesados de transición como el  $\text{Fe}^{2+}$  y el  $\text{Cu}^{2+}$  (31,37).

En este esquema se entiende que la existencia de los RL como derivados de muchos elementos químicos dentro de estos procesos es normal<sup>40</sup>; de hecho, a bajas concentraciones (mucho menores a las requeridas para causar daño oxidativo), cumplen un papel fisiológico importante; pues regulan una variedad de mecanismos moleculares clave que podría estar ligados con importantes procesos biológicos como la respuesta inmune, la adhesión entre células, la proliferación celular, la inflamación, el metabolismo, el envejecimiento y la muerte celular<sup>43</sup>.

### **Generación de radicales libres. Atributo de la vida aerobia normal**

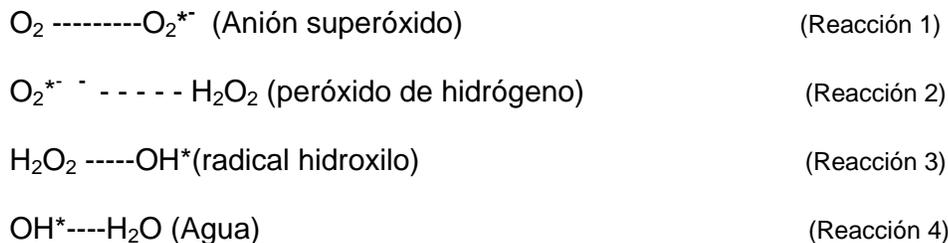
De todas las fuentes generadoras de RL mencionadas anteriormente, quizás la de mayor relevancia sea la del metabolismo del oxígeno a nivel celular.

Los organismos aerobios que obtienen energía para realizar sus funciones a partir de la hidrólisis del adenosín trifosfato (ATP), disponen de un proceso situado en la mitocondria que acopla la oxidación de sustratos con la generación de ATP. El oxígeno actúa como el último y más importante aceptor de electrones provenientes de la oxidación de los sustratos adecuados<sup>33</sup>. A este nivel, la mitocondria consume entre el 85 y 90% del oxígeno para sintetizar el 80% del ATP utilizado a nivel celular.

Bajo condiciones de normalidad, las células metabolizan la mayor parte de oxígeno (95%) hasta agua, sin formación de intermedios tóxicos, mediante la vía de reducción tetravalente:



Sin embargo, un pequeño porcentaje (menor al 5%) lo hace, en condiciones normales, mediante la reducción univalente siguiendo la ruta que a continuación se presenta desglosada en cuatro etapas:



El producto final en ambas rutas es el mismo: agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ) pero con la pequeña diferencia, que en el segundo caso se forman tres intermediarios de naturaleza altamente reactiva y que de ordinario se incluyen entre las especies reactivas derivadas del oxígeno. El anión superóxido y el radical hidroxilo que son radicales libres y el peróxido de hidrógeno, que sin ser un radical en sentido estricto, se encuentra involucrado en la formación de otros radicales libres<sup>40</sup>.

Cabe aclarar que en el proceso de respiración celular, tal como se mencionó, la reducción incompleta del oxígeno favorece la formación de algunos radicales

libres y, algunas moléculas que estrictamente no lo son, pero que resultan potentes precursoras de otros radicales libres; de modo que por ésta razón, a todos se les ha ubicado como especies reactivas derivadas del oxígeno (EROs); término al que se recurrirá durante el desarrollo de este trabajo.

Además de las EROs mencionadas, existen otras especies reactivas derivadas del nitrógeno, del carbono y de la interacción con metales pesados que también, en sus calidad de radicales libres son capaces de generar daño a las moléculas cercanas. Por ejemplo: el átomo de hidrógeno ( $H^*$ ), los radicales peróxilo ( $RO_2^*$ ), alcóxilo ( $RO^*$ ), hidroperoxilo ( $H_2O^*$ ), óxido nítrico ( $NO^*$ ), y dióxido de nitrógeno ( $NO_2^*$ )<sup>44,45</sup>.

Ahora bien, el grado de severidad que resulte de un estado de estrés oxidativo, dependerá no sólo de la agresividad química del propio oxidante, sino también de la cantidad de éstos y del tiempo de exposición, así como del tipo de tejido que sufra el efecto; y de la eficacia de las defensas antioxidantes existentes<sup>43</sup>.

A nivel de los componentes estructurales básicos de las células, las EROs podrán generar diferentes daños<sup>40,46</sup>:

- 1) Ácidos nucleicos: modificación en la secuencias de bases nitrogenadas, ruptura a nivel de hebras y producción de tumores.
- 2) Proteínas: alteraciones enzimáticas -inactivación-, afectando la permeabilidad iónica de membrana y la transducción de señales intercelulares e intracelulares.
- 3) Carbohidratos: producción de la patología secundaria en la diabetes, y en general donde el ácido hialurónico existe en concentraciones anormales, por ejemplo en las enfermedades reumáticas o en las cataratas.
- 4) Lípidos: peroxidación lipídica, en la cual se produce cambios estructurales y ruptura de la bicapa constitutiva de todas las membranas celulares limitando su función.

Otros reportes señalan daño mitocondrial por destrucción de la integridad estructural de la membrana, derivado de la serie de radicales libres y sus metabolitos generados por componentes de la cadena de transporte de electrones durante la respiración mitocondrial, hecho que expone a la membrana

mitocondrial a una situación mucho más vulnerable que otras membranas celulares<sup>47</sup>.

Aunque en este apartado se ha dado mayor importancia a la generación de los EROs a partir de la reducción incompleta de la molécula de oxígeno en el proceso de respiración celular, el cuadro de estrés oxidativo puede ser generado por esta y otras razones que incluyen desde la presencia de toxinas hasta la disminución en el aporte sustancial de antioxidantes.

La gama importante de enfermedades donde se involucran se menciona tanto en humanos como en animales<sup>48</sup>.

### **El estrés oxidativo y la enfermedad en humanos**

En algunos casos el incremento en la formación de oxidantes puede causar enfermedad, como en algunos tipos de cáncer en los cuales puede producirse daño directo sobre el ADN por radicales libres, o bien, la rinopatía del recién nacido causada por la lipoperoxidación, que puede mejorarse con tratamiento a base de vitamina E<sup>34</sup>.

En otros casos la formación de agentes oxidantes son más bien una consecuencia de la actividad de la enfermedad como sucede en la inflamación, donde la infiltración masiva de neutrófilos a un sitio, seguido de la activación de estas células para generar ión superóxido y peróxido de hidrógeno pueden producir un estrés oxidativo localizado muy intenso, tal como ocurre en la artritis reumatoide<sup>34</sup>.

**Envejecimiento.** En la mayoría de los mamíferos, durante el envejecimiento, las funciones antioxidantes declinan, mientras que el ritmo de generación de  $H_2O_2$  y  $O_2^{*-}$  incrementa. En este panorama la mitocondria es uno de los principales blancos de las EROs, en donde se ven afectadas las funciones respiratorias y la síntesis de ATP<sup>49</sup>. Sin embargo, se ha propuesto que la acumulación de mutaciones genómicas mitocondriales, ocasionadas por las EROs, tal vez sean la mayor causa del daño en las enfermedades degenerativas asociadas con la edad<sup>50</sup>. Investigaciones recientes revelan que el promedio del contenido de lipoperoxidación de mitocondrias de hígado y riñón de sujetos adultos es mucho mayor que en sujetos jóvenes<sup>50</sup>. También otros indicadores de EO valorados en ratas adultas; como glutatión reducido (GSH), vitamina E, vitamina C, actividad de

la superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GPx), se observan en niveles remarcablemente menores<sup>51</sup>.

**Ejercicio.** Diversos estudios han mostrado que el ejercicio intenso induce daño oxidativo<sup>52,53</sup>. Consistentemente se ha encontrado que el ejercicio aumenta los niveles de lipoperoxidación en hígado y músculo esquelético. Por ejemplo, en ratas sometidas a ejercicio exhaustivo se ha observado un incremento significativo en los niveles de TBARS en hígado  $P < 0.001$  y músculo gastronemio<sup>54</sup>.

**VIH.** Ciertos estudios han demostrado que los individuos infectados con el virus de la inmunodeficiencia adquirida tienen niveles menores de tioles solubles en el suero, así como niveles menores de GSH en células mononucleares a nivel de sangre periférica. Incluso los pacientes asintomáticos “sero” positivos muestran niveles dramáticamente menores de GSH en pulmón y plasma que los individuos sanos<sup>55</sup>.

**Neurotoxicidad.** El GSH ha sido sugerido en la patogénesis de desórdenes neurodegenerativos como es el caso de la enfermedad del Parkinson. En pacientes con estados preclínicos se ha reportado un decremento en los niveles de GSH total a nivel de la sustancia “nigra”<sup>56</sup>. Varias líneas de investigación sugieren que el estrés oxidativo puede jugar un importante papel en los cambios de comportamiento y neurotoxicidad en ratas después de la administración de metanfetaminas (MAP). Estos estudios reportan niveles disminuidos de GSH en las ratas expuesta a altas dosis de MAP<sup>56</sup>.

### **El estrés oxidativo y la enfermedad en animales**

**En aves.** El EO se ha relacionado con el desarrollo de enfermedades como el hígado graso en gallinas ponedoras pesadas durante el primer período de producción, argumentando que dicho síndrome está asociado a diversos factores genéticos, sustancias tóxicas, hormonas y radicales libres.

Se ha reportado que el daño que producen los EROs está asociado a la excesiva lipoperoxidación de los ácidos grasos acumulados a nivel de hepatocitos<sup>48</sup>.

**El SA en pollo de engorda.** En pollos de engorda que padecieron SA, se ha documentado de la presencia de daño oxidativo, así como disminución en la capacidad antioxidante<sup>57</sup>. Hasta ahora ha sido claramente demostrado que pollos con SA tienen un incremento en los niveles de GSSG, GPx y de la relación GSSG/GSH en los tejidos., e incremento de lípidos y peróxidos en el plasma además de disminución en el número de enzimas y vitaminas antioxidantes como GSH,  $\alpha$ -tocoferol y ácido ascórbico en hígado y pulmón<sup>58</sup>.

Otros datos indican que los pollos con SA presentan un incremento de estrés oxidativo a nivel de hígado y pulmón debido a un consumo deficiente de oxígeno mitocondrial<sup>59,60</sup>.

**En rumiantes.** En vacas lecheras, el EO, se ha asociado a problemas de mastitis y edema en la ubre; los autores citados, sugieren que la peroxidación puede causar inactivación de enzimas que pueden afectar la síntesis de hormonas esteroidales<sup>48</sup>.

En ovinos con miopatía nutricional degenerativa relacionada con la deficiencia de vitamina E y Se, se observa un incremento en los peróxidos que son responsables de inducir la necrosis del músculo esquelético y cardíaco, desarrollando laminitis severas y finalmente la muerte<sup>48</sup>.

**Otras especies.** El efecto de la actividad física se ha evaluado en perros Alaska, galgos y caballos con actividad moderada y en condiciones de ejercicio prolongado, en estos estudios se observó que ciertos marcadores oxidativos aumentan mientras que la capacidad antioxidante disminuye<sup>48</sup>.

## **Modulación del Estrés Oxidativo**

### **Sistema antioxidante de defensa**

En condiciones normales, las células cuentan con mecanismos de protección, tanto enzimáticos como no enzimáticos, que involucran a ciertas sustancias, conocidas como antioxidantes. Estas moléculas se caracterizan por estar relativamente a bajas concentraciones compitiendo con otros sustratos oxidables susceptibles de reaccionar con las ERO's. Finalmente logran inhibir o disminuir significativamente la oxidación de estos sustratos, evitando con esto el daño a nivel celular<sup>33,61,62</sup>.

Independientemente al origen, el sistema de defensa que el organismo emplea para contrarrestar a las EROs es el mismo. La protección contra la oxidación molecular mediada por ERO's, toxinas y otros mediadores del estrés oxidativo se realiza en gran medida por los antioxidantes (AOs) endógenos<sup>63</sup>.

Entre los antioxidantes de tipo enzimático y no enzimático se encuentran los siguientes (ver Cuadro 2)<sup>64,65,66</sup>:

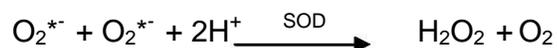
Cuadro 2. Clasificación del sistema de defensa antioxidante	
Tipo enzimático	Tipo no enzimático
superóxido dismutasa Catalasa glutatión peroxidasa glutatión reductasa tioredoxina reductasa tioredoxina peroxidasa	glutatión reducido vitamina E, vitamina C vitamina A, β caroteno, selenio, bilirubina, adenosina, tioredoxina glicina, glutamato, ácido lipoico, NADPH, N-acetyl-cisteína

## Algunos antioxidantes de importancia

### Antioxidantes de tipo enzimático

#### Superóxido dismutasa

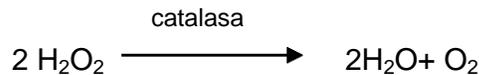
Las superóxido dismutasas (SOD) son enzimas que eliminan el radical superóxido. Durante la reacción una molécula de superóxido se oxida hasta O<sub>2</sub> molecular, mientras que la otra se reduce a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Por tanto más que eliminar formas activas del oxígeno, esta enzima transforma una (el superóxido) en la otra (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sup>67</sup>.



Existen dos formas moleculares en los animales: la SOD Cu-Zn dependiente del Cu para hacer la dismutación; y presente en abundancia en el citoplasma y en los peroxisomas; y la SOD- Mn, dependiente de éste átomo para realizar la dismutación; que es más abundante en mitocondrias. Se ha descrito que la SOD Cu-Zn está presente en líquidos extracelulares como el plasma, la linfa o el líquido sinovial, hecho que podría ser de especial relevancia en el control de las reacciones inflamatorias<sup>67</sup>.

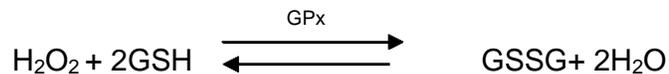
## Catalasa

La catalasa es una de las enzimas más activas que se conocen, exhibiendo una actividad molecular de 5´600,000 moléculas de peróxido de hidrógeno por minuto por molécula de enzima. La catalasa cataliza dos tipos de reacciones. En la reacción catalítica se produce la dismutación de dos moléculas de peróxido de hidrógeno. Una se oxida a oxígeno y la otra se reduce a dos moléculas de agua. En la reacción peroxidativa se utiliza un substrato inespecífico como reductor para transformar una sola molécula de peróxido de hidrógeno en dos de agua. Esta enzima está en abundancia en peroxisomas<sup>67</sup>.



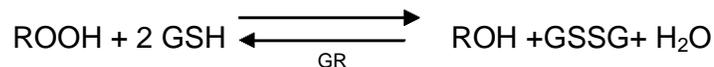
## Glutación peroxidasa

La glutatión peroxidasa elimina los hidroperóxidos utilizando GSH como agente reductor. Existe en dos variedades, una dependiente de Se y otra que no lo es; se encuentran presentes tanto en citosol como en mitocondria y son complementarias respecto a la catalasa<sup>67</sup>.



## Glutación Reductasa

La glutatión reductasa reduce una molécula de glutatión oxidado (GSSG) a dos de GSH a expensas de equivalentes de reducción en forma de NADPH. También están presentes tanto en citosol como en mitocondrias. Esta enzima es de vital importancia para el funcionamiento de la eliminación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por la vía de la GPx, así como para la reconstitución de GSSG vía no enzimática<sup>67</sup>.



## **Antioxidantes de tipo no enzimático**

### **Ascorbato**

La vitamina C, puede existir en tres estados redox, ascorbato (reducido), radical semidehidroascrobato (tras la oxidación monoelectrónica del ascorbato) y dehidroascrobato (DHA; tras la oxidación bielectrónica del ascorbato). Puede eliminar al  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ , el  $H_2O_2$  y también extinguir al singulete. También es capaz de regenerar a la vitamina E<sup>6,67</sup>.

### **Vitamina E**

En la naturaleza existen ocho sustancias con actividad vitamina E, el d- $\alpha$ , d- $\beta$ , de  $-\gamma$  y d- $\delta$  tocoferol y los correspondientes tocotrienoles. De ellos, el d- $\alpha$ -tocoferol es el que muestra más actividad biológica y constituye el estándar de comparación. La vitamina E suele ser el principal antioxidante de las membranas en las células animales. Su importancia radica en que impide la reacción de propagación, que es la principal causante de la peroxidación lipídica<sup>67</sup>.

## El uso de los Antioxidantes

En la alimentación humana y animal, el uso de antioxidantes para contribuir a contrarrestar el estrés oxidativo ha sido motivo de diversas investigaciones. Originalmente el empleo de antioxidantes, como el etoxiquin y el  $\beta$ -hidroxitolueno, se promovió por la necesidad de evitar el enranciamiento del alimento; sin embargo, después se enfocó la atención hacia la valoración del efecto antioxidante de diversas sustancias (como las vitaminas E y C, el selenio y los carotenos) sobre la prevención de algunos procesos patológicos ya mencionados relacionados con la lipoperoxidación, así como también, sobre algunos indicadores productivos y de estrés oxidativo en diferentes especies<sup>57,62,68</sup>.

Existe una gran variedad de reportes que describen los beneficios del uso de antioxidantes como la vitamina E, vitamina C y el Se en especies como peces, bovinos, ovinos, equinos y suinos. Coincidiendo todos estos en una disminución de los indicadores de EO como las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés), acompañada de menor lipoperoxidación y para el caso de los animales de abasto una mejoría en las características organolépticas de la canal<sup>48</sup>.

Para el caso de las aves domésticas que es la especie de estudio de nuestro interés; se ha documentado que el estrés por calor es un factor que afecta la producción de carne y huevo, al estimular la liberación de catecolaminas y la activación de la lipoperoxidación en las membranas celulares. La suplementación de vitamina E ha mostrado reducir tales efectos negativos<sup>69</sup>.

En otros estudios enfocados a determinar la calidad de la canal *Cherian y cols. (1996)*<sup>70</sup> encontraron que las gallinas suplementadas con  $\alpha$ -tocoferol tuvieron una reducción significativa en la peroxidación de los lípidos del huevo, hígado y carne.

Actualmente, en las investigaciones de EO en aves, se ha documentado suficiente información que apoya la idea de que en pollo de engorda susceptible al SA existe un daño celular evidente causado por procesos de oxidación, sugiriéndose una disminución en la capacidad antioxidante<sup>6,31,41,42</sup>.

En un principio, experimentos comparativos donde se estudió el efecto de diferentes ambientes hipóxicos demostraron un incremento en el daño oxidativo, por presencia de peróxido de hidrógeno a nivel mitocondrial en células de

miocardio de pollos con SA. Situación debida posiblemente a la hipoxia tisular que involucró una disminución en el estatus natural del sistema antioxidante<sup>71</sup>.

La adición de antioxidantes en la dieta se ha reflejado con un efecto favorable sobre los parámetros de producción en el pollo de engorda. Valle y cols. (2001)<sup>42</sup> encontraron que el uso de piroxicam, un antiinflamatorio no esteroideo, en dietas para pollo de engordas reduce de 3 a 4% la mortalidad general y por SA. Por otro lado se encontró que la adición de vitamina E en la dieta favoreció significativamente la ganancia de peso y conversión alimenticia<sup>42</sup>.

Por su parte Ramírez y cols. (2003)<sup>6</sup>; estudiaron dietas enriquecidas con ácido lipoico (AL), en 40ppm para pollo de engorda con predisposición a desarrollar el SA, notaron un aumento significativo en la ganancia de peso en los pollos tratados con AL respecto a los pollos del grupo testigo, acompañado por una notable reducción en la mortalidad atribuida a éste trastorno.

Así mismo los indicadores de EO se han visto modificados positivamente en respuesta a las dietas enriquecidas con diferentes antioxidantes. En el mismo estudio Ramírez y cols. (2003)<sup>6</sup> observaron una disminución de radicales hidroxilo. Mientras que, Villar-Patiño y cols. (2002)<sup>41</sup>, al suministrar dietas enriquecidas con vitamina E en pollos predispuestos a desarrollar el mismo síndrome, detectaron una disminución de TBARS.

Los hallazgos del experimento anterior, apoyan a los trabajos de Bottje y cols. (1995)<sup>62</sup>, quienes emplearon vitamina E en la dieta de pollos con alta predisposición al SA, y observaron una disminución de algunos indicadores del estrés oxidativo.

En coincidencia, las pruebas de Serret y cols. (2002)<sup>31</sup> mostraron un incremento significativo en los niveles de TBARS, principalmente en la sexta semana así como una disminución del glutatión total (GSHT) en la tercer semana, en el hígado, corazón y pulmón de pollos con SA. Sin embargo, al administrar AL, se observó una mejor situación del equilibrio oxidante/antioxidante favorecida por un aumento en los niveles de GSHT.

### Antioxidantes clave en la modulación del EO en el SA

Como se apreció, en el SA el cuadro de EO se ha tratado de manejar con AOs como la vitaminas C y E, el selenio y otros agentes de tipo antionflamatorio no esteroidal con acción antioxidante como el piroxicam, sin embargo las investigaciones más recientes se han concentrado en evaluar el efecto del AL y ahora más recientemente de la N-acetil-cisteína (NAC), debido a sus importantes efectos antioxidantes, el primero como regenerador y el segundo como precursor de la síntesis del GSH, el antioxidante más importante a nivel intracelular<sup>6,31,41,42</sup>.

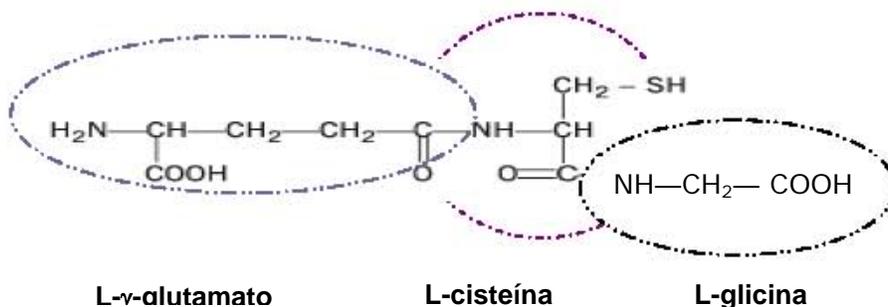
### El Glutati3n reducido (GSH). Indicador m3s abundante de EO

De los sistemas antioxidantes con los que cuenta el h3gado, el m3s importante, por ser este el principal antioxidante que se sintetiza, almacena y exporta en este nivel, es el del glutati3n (GSH)<sup>25,72</sup>.

El GSH es un importante antioxidante end3geno que actúa, cuando hay situaciones de estr3s oxidativo como un instrumento clave en la prevenci3n del daño celular, posee una serie de funciones vitales involucradas con la regulaci3n de procesos de oxido reducci3n, detoxificaci3n de xenobi3ticos e inactivaci3n de radicales libres<sup>63,73</sup>. El hecho de ser el tiol m3s abundante a nivel intracelular refuerza la importancia de su papel como antioxidante.

La mol3cula del glutati3n (ver esquema) es un trip3ptido constituido por los amino3cidos L-glutamato, L-cisteína y L-glicina. Aunque se puede observar en forma de tiol reducido (GSH) o en su forma oxidada (GSSG), el 99% del glutati3n celular total se encuentra como GSH, mientras que la porci3n m3nima restante, est3 en estado oxidado y otra parte unido a prote3nas<sup>73,74</sup>.

### Mol3cula de Glutati3n (GSH)



El GSH, está presente en la mayoría de las células y se involucra con una gran variedad de funciones adicionales a las mencionadas anteriormente: Protege a las células de la peroxidación lipídica, regula la actividad enzimática, modula la síntesis de proteínas, mantiene el nivel de tioles en la proteína, neutraliza los peróxidos liberados por los macrófagos, y sirve además como transportador y almacenador de cisteína<sup>75,76</sup>.

Otras reacciones celulares (ver Cuadro 3) en las que el GSH participa, se citan a continuación<sup>77</sup> :

**Cuadro 3. Principales eventos celulares involucrados con el GSH**

<b>Defensa antioxidante</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Secuestra radicales libres y otras especies reactivas</li> <li>Remueve hidrógeno y peróxidos lipídicos</li> <li>Previene la oxidación de biomoléculas</li> </ul>
<b>Metabolismo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Síntesis de leucotrienos y prostaglandinas</li> <li>Conversión de formaldehído a formato</li> <li>Producción de D-lactato del metilglioal</li> <li>Formación de aductos GSH-NO</li> <li>Almacenamiento y transporte de cisteína</li> </ul>
<b>Regulación</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Estado intracelular redox</li> <li>Transducción de señales y expresión genética</li> <li>Síntesis de proteínas y ADN y proteólisis</li> <li>Proliferación celular y apoptosis</li> <li>Integridad y función mitocondrial</li> </ul>

Por lo anterior, se reconoce que el GSH presenta una versatilidad regulatoria y metabólica sobresaliente. Como parte de la pareja redox GSH/GSSG, juega un papel importante en la defensa antioxidante, metabolismo de nutrientes, y regulación de vías metabólicas esenciales para la homeostasis del organismo. La deficiencia de GSH contribuye al estrés oxidativo, y por lo tanto podría jugar un rol importante en la patogénesis de muchas enfermedades<sup>78</sup>.

El GSH se sintetiza principalmente a nivel hepático, y de ahí se exporta a otros tejidos como: cerebro, riñón, pulmones, corazón, intestino, y eritrocitos; principales órganos responsables de su homeostasis. La captación de cada

órgano o tejido depende de la actividad de la enzima  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa ( $\gamma$  GT o GGT) localizada en la membrana celular<sup>78</sup>.

Se indican en a continuación (Cuadro 4), los lugares del organismo donde el GSH se encuentra en mayor concentración<sup>78</sup> :

**Cuadro 4. Principales reservorios de GSH dentro del organismo:**

	Concentración de GSH
Cristalino	10 mM
Hígado	5-7 mM con niveles de excreción hasta de 10 mM
Riñón	3 mM
Corazón	2 mM
Glóbulos rojos	2 mM
Músculo	1-2 mM
Plasma	0.05 mM

Dentro de la célula, el GSH se encuentra principalmente en dos pozas; en el citosol donde se sintetiza y en la mitocondria donde la demanda es grande<sup>79</sup>. También, es posible encontrarlo a nivel de retículo endoplásmico y núcleo<sup>78</sup>. Se menciona que las células deficientes en GSH son más susceptibles al daño generado por las especies moleculares antes mencionadas, y que la protección generada es producto tanto de la capacidad celular para sintetizar GSH así como de la cantidad existente del mismo dentro de la célula<sup>72</sup>.

El GSH juega un papel crucial como agente protector ya que actúa dentro de la primera línea de defensa como secuestrador de EROs como  $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{HOCl}\cdot$ , peroxinitrito,  $\text{O}_2\cdot$ , y  $\text{ONOO}^-$ , y como reductor de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . En tanto que, dentro de la segunda línea de defensa, actúa como cofactor de las enzimas antioxidantes glutatión reductasa y glutatión peroxidasa<sup>72</sup>.

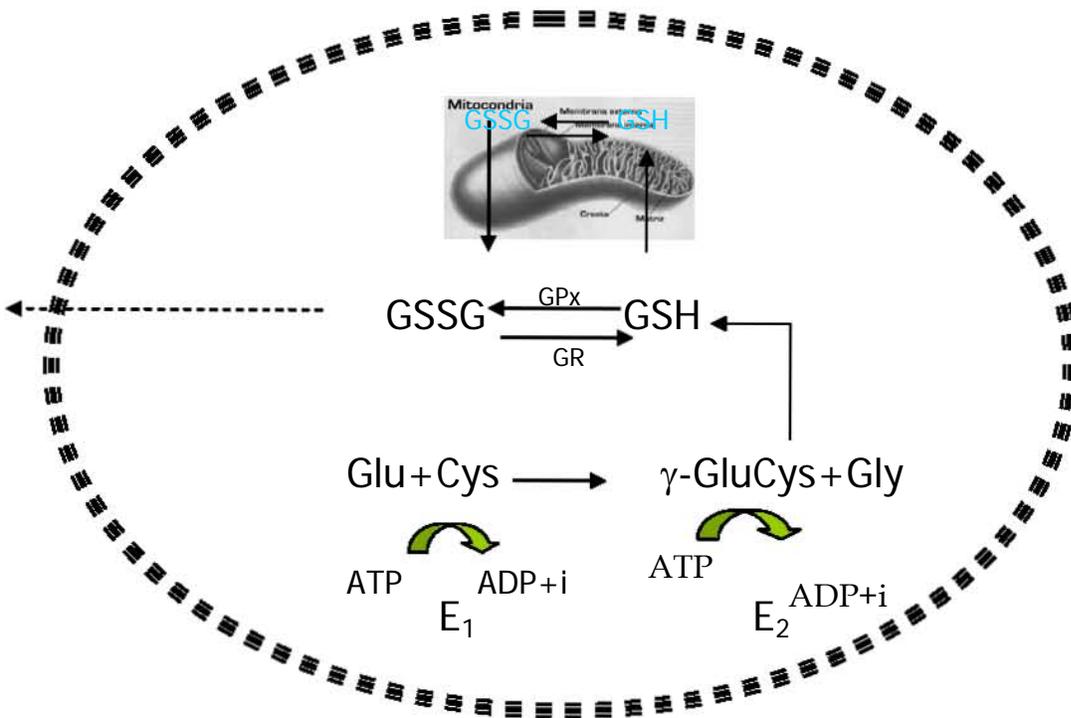
### Síntesis de GSH

El GSH como se observa en la Figura 4, es sintetizado en el citosol celular por la acción consecutiva de las enzimas  $\gamma$ -glutamilcistein sintetasa (GCS) y glutatión sintetasa (GSH sintetasa), en un proceso dependiente de ATP. En primer orden se da la formación de  $\gamma$ -glutamil-cisteín-glicina, y posteriormente, a partir de la unión de la glicina, se forma la molécula de GSH<sup>72</sup>.

Aunque la conversión de GSH a su forma oxidada (GSSG) es reversible en ambos compartimentos: citosol y mitocondria, la síntesis ocurre únicamente en el

primero, debido a que solo en este espacio se encuentran las enzimas necesarias que se involucran en este proceso<sup>72</sup>.

Es importante mencionar que dentro de este esquema, los factores determinantes de la síntesis de GSH son, por un lado, la disponibilidad de cisteína el aminoácido azufrado que actúa como precursor; así como por el otro, la actividad de la enzima  $\gamma$ -glutamil-cisteín sintetasa<sup>80</sup>.



*E<sub>1</sub>-γ-glutamil cisteín sintetasa y E<sub>2</sub>-Glutatió sintetasa*

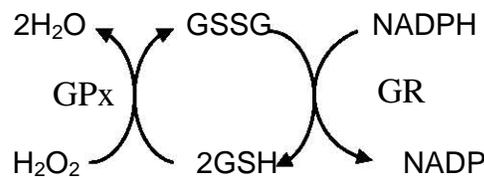
**Figura 4. Síntesis e interconversión de GSH a nivel celular**

El inusual enlace entre el glutamato y la cisteína le confiere estabilidad celular y resistencia a la degradación por peptidasas intracelulares, por lo que, únicamente la enzima  $\gamma$ -glutamiltranspeptidasa, ubicada en la superficie externa de la membrana celular, puede hidrolizarlo<sup>72</sup>. El GSH es esencial para la función mitocondrial. La generación de especies reactivas de oxígeno y radicales libres por la propia célula representa una seria amenaza contra su integridad. La detoxificación celular implica la conversión de GSH a GSSG, y también en un momento dado a la mezcla de glutatió disulfuros (GGSR). Subsecuentemente el mantenimiento de los niveles de GSH vía síntesis de novo, es una situación

adicional importante que fortalece la habilidad celular para resistir ante la toxicidad inducida por estos tipos moleculares.

De manera que, en la medida en que resulte necesario, el GSH será transportado hasta la mitocondria<sup>72</sup>.

Dentro del esquema siguiente se muestra como el GSH provee equivalentes reductores para que la glutatión peroxidasa (GPx) catalice la reducción del peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos lipídicos en agua y su respectivo alcohol. Durante este proceso el GSH se transforma en GSSG, que posteriormente es reciclado a GSH por acción de la glutatión reductasa (GR) y la presencia de NADPH<sup>81</sup>.



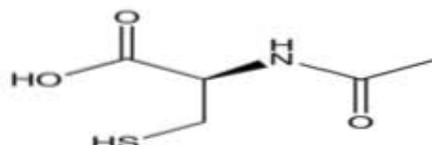
En condiciones de estrés oxidativo cuando la interconversión de GSSG a GSH no es eficiente y la capacidad de síntesis es superada, el GSSG puede transportarse fuera de la mitocondria y de la membrana celular; no obstante, en situaciones crónicas, el GSH requerirá ser suplementado<sup>72,82</sup>.

### La N-acetyl-cisteína. Precursor de la síntesis de glutatión

La N-acetil-cisteína (NAC) es una excelente fuente de grupos sulfhidrilo y es capaz de estimular la síntesis de GSH, promover la detoxificación, y actuar directamente como secuestrador de RL<sup>83</sup>. Diversos autores han descrito sus efectos benéficos en condiciones caracterizadas por un decremento en los niveles de GSH o involucradas con un EO, como en el caso del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (V.I.H.), el cáncer, efectos derivados del consumo del cigarro, y enfermedades cardíacas y hepáticas. La NAC también se administra en forma de droga mucolítica para el tratamiento de diversas enfermedades respiratorias; e incluso se emplea en el tratamiento de la intoxicación con acetaminofen, y el envenenamiento con metales pesados<sup>83,84</sup>.

La NAC es una variante acetilada de la L-cisteína, el aminoácido limitante que aporta el grupo tiol (-SH) a la molécula de glutatión.

Este aminoácido no esencial puede ser sintetizado dentro del organismo, a partir de la metionina (donador de azufre) y de la serina (donadora de nitrógenos y carbonos). Es un constituyente de proteínas, y se requiere para la síntesis otras moléculas como la taurina, la coenzima A y el condroitín sulfato<sup>85,86</sup>. A continuación se muestra su estructura química.



Por si sola, la NAC posee propiedades antioxidantes propias, sin embargo, como ya se mencionó, despierta mayor importancia el hecho de su participación en la síntesis del GSH<sup>86</sup>.

Una de las principales razones que regulan la velocidad de síntesis del GSH es la disponibilidad de cisteína. Este aminoácido deriva normalmente de la dieta y del catabolismo de las proteínas; y en el hígado del aminoácido metionina vía transulfuración<sup>80</sup>. El uso de la cisteína exógena para fines de síntesis de GSH se ha limitado porque es muy inestable y rápidamente se oxida a cistina, en tanto que, su forma oxidada tampoco es útil ya que resulta poco soluble<sup>86</sup>. El estudio de formas alternativas para incrementar la poza de este aminoácido y a su vez promover la síntesis de GSH a nivel intracelular ha sido creciente.

En su forma N-acetilada la NAC es capaz de mantener el estado redox de la cisteína notablemente estabilizado. Después de que la NAC entra a la célula, esta es rápidamente hidrolizada a cisteína<sup>40</sup>.

En modelos animales se ha reportado que la NAC estimula la producción de GSH. Sugiriéndose que una vez ingerida y absorbida es transportada hasta el citosol de las células hepáticas, en donde es desacetilada y utilizada como sustrato por la enzima  $\gamma$ -glutamyl-cistein sintetasa involucrada en el proceso de síntesis del tripéptido<sup>82</sup>.

### **Investigaciones que apoyan su eficacia**

De las bondades atribuidas directamente a la NAC, destaca el efecto mucolítico logrado a través de la escisión del puente disulfuro de las mucoproteínas responsables de producir la cohesión del moco y el efecto de viscosidad. También controla las exacerbaciones infecciosas por un efecto directo sobre la flora

bacteriana, puesto que la acción antiadhesiva de NAC actúa disminuyendo el número de bacterias en la orofaringe<sup>87</sup>.

También se ha propuesto que la NAC podría ser de utilidad para el tratamiento de diversos síntomas asociados con el uso y abuso de fármacos que estimulan al sistema nervioso. Goro y cols. (2004)<sup>88</sup> mostraron que la NAC podría prevenir los cambios en el comportamiento (hiperlocomoción aguda) y neurotoxicidad en ratas después de la administración con metanfetamina (MAP) un potente psicoestimulante, que activa enérgicamente ciertos sistemas en el cerebro.

La MAP administrado en dosis repetidas es capaz de causar daño a nivel de terminaciones nerviosas dopaminérgicas; pero el pretratamiento de NAC revela una disminución en la liberación de dopamina aunando a un efecto atenuante significativo en la hiperlocomoción de ratas inducidas por una sola administración de MAP<sup>88</sup>.

Otros estudios coinciden en que el tratamiento con NAC puede atenuar significativamente la reducción de dopamina en cambios después de darles dosis consecutivas de MAP<sup>88</sup>. Por otra parte, se ha documentado que el abuso del 3,4-metilenedioximetamfetamina (MDMA), comúnmente conocida como éxtasis, ha sido asociado a diversos reportes clínicos de daño hepático, ictericia, hepatomegalia, necrosis centrolobulillar y falla hepática entre otros<sup>89</sup>.

En el metabolismo de esta droga se incluye la formación final de quinonas, moléculas con alta actividad redox que pueden entablar un ciclo redox fácilmente, y originar radicales semiquinona dando paso a la generación de especies reactivas de oxígeno (EROs) y especies reactivas de nitrógeno (ERNs), observándose además depleción de GSH y muerte celular. En este contexto, la NAC previenen significativamente estos efectos<sup>89</sup>.

En otros aspectos, la NAC ha sido empleada para evaluar sus efectos protectores tras el tratamiento utilizado para contrarrestar ciertos tipos de cáncer. Los resultados sugirieron que la NAC actúa efectivamente en la prevención de ciertos efectos tóxicos, como la pérdida progresiva e irreversible de la audición provocada por el cisplatino. Sugiriéndose la formación de un compuesto inactivo derivado del enlace de la NAC con la molécula de platino<sup>90</sup>. Estos estudios revelaron también, que la NAC no atraviesa la barrera hematoencefálica, y por lo tanto, resulta aún más atractiva para conferir protección en contra de los efectos

ototóxicos de los tratamientos empleados para atacar tumores a nivel del sistema nervioso central<sup>90</sup>.

Respecto a su poder antioxidante, se reporta que la NAC puede ejercer su efecto directamente o indirectamente estimulando la síntesis de GSH.

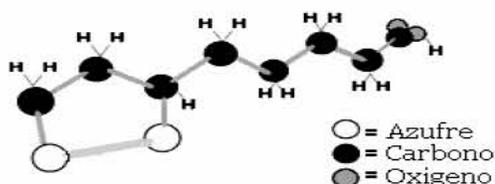
En dos estudios donde se evaluó la administración de la NAC para tratar a pacientes con V.I.H y a ratas intoxicadas con diferentes xenobióticos se observó que los niveles de GSH se incrementaron tanto a nivel citosólico como a nivel mitocondrial<sup>65</sup>. Así mismo, Peña y cols. (2002)<sup>91</sup>, señalan un incremento en el contenido de GSH, estatus redox GSSG/GSH y actividad de la glutatión reductasa, en peces expuestos a pesticidas organofosforados pero tratados con NAC; este efecto antioxidante y proglutación se reflejó también, en una mayor tasa de sobrevivencia.

En pollo de engorda Valdivia y cols. (2001)<sup>92</sup>, sugieren un efecto protector de la NAC en contra de los efectos negativos inducidos por la intoxicación aguda con aflatoxina  $\beta$ 2 sobre parámetros productivos, daño hepático y renal así como alteraciones a nivel bioquímico.

Otros datos experimentales en ratas tratadas con NAC demuestran que el manejo de este antioxidante más deferoxamina, mejora la sobrevivencia significativamente hasta en un 47%<sup>93</sup>. Los datos experimentales demuestran que la NAC más la deferoxamina reduce las consecuencias de choque séptico en ratas, mediante la disminución del estrés oxidativo y la limitación de la infiltración de neutrófilos y disfunción mitocondrial, de tal modo que se mejora la sobrevivencia<sup>93</sup>.

### El ácido lipoico. Aaente reaenerador del alutación

El ácido lipoico ( $C_8H_{14}O_2S_2$ ), referido también, como ácido tioctico y ácido  $\alpha$ -lipoico, es una molécula de ocho carbonos con dos grupos tiol<sup>94</sup>. En el esquema siguiente se muestra su estructura química.

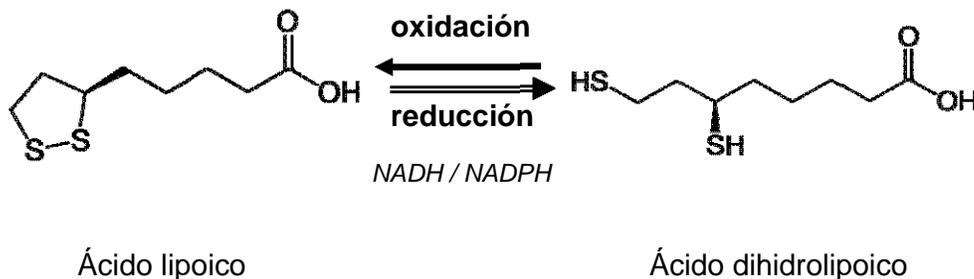


El AL se ha identificado como un poderoso antioxidante presente tanto en células procariontes como en eucariontes, se encuentra de forma natural en la dieta, frutas, vegetales y principalmente en tejidos animales con alta actividad metabólica como el corazón, hígado y riñón<sup>95</sup>. Al ser suplementado en su forma natural o sintética, muestra una mayor capacidad funcional. Debido a que se trata de una molécula soluble tanto en medios acuosos como lipídicos, sus funciones biológicas no están limitadas a un solo compartimento celular, y por esta razón se encuentra bien distribuido en el citosol y membranas, de plantas y animales<sup>96</sup>.

El ácido tioctico atraviesa fácilmente las membranas celulares actuando tanto en medios lipófilos como hidrófilos por lo que puede actuar frente al estrés oxidativo y prevenir el daño celular a muchos niveles<sup>94</sup>. También actúa indirectamente regenerando o reciclando a otros antioxidantes presentes en la sangre<sup>94</sup>.

A pH fisiológico el AL es aniónico y comúnmente se le conoce como lipoato. Exógenamente el AL es absorbido rápidamente a nivel intestinal y transportado a los tejidos donde es tomado por las células y llevado hasta la mitocondria de donde posteriormente es liberado en su forma reducida: el ácido dihidrolipoico (ADHL). Este proceso de reducción se muestra en la Figura 5. Después es fácilmente transportado fuera de la célula y así funcionar efectivamente en el espacio extracelular<sup>95</sup>.

**Figura 5. Reacción de óxido-reducción del ácido lipoico y ácido dihidrolipoico<sup>31</sup>**



El AL puede ser reducido por diferentes sistemas enzimáticos dependiendo del compartimento celular<sup>95</sup>.

Esta reducción se lleva a cabo mediante la acción de enzimas como la dihidrolipoato en presencia de NADH o NADPH a nivel mitocondrial, y, por la acción de la glutatión reductasa o tioredoxina reductasa en un proceso dependiente de NADPH, a nivel de citosol<sup>95</sup>. De hecho, en la reducción enzimática del AL a DHLA, los equivalentes reductores que se requieren; NADH o NADPH; son proporcionados como producto del metabolismo de la glucosa<sup>54</sup>. Por lo tanto, el AL utiliza la fuerza metabólica de la célula para continuamente estar regenerándose a DHLA. La reducción a DHLA ha sido observado en diversas líneas celulares, incluyendo, hepatocitos, eritrocitos, queratinocitos y linfocitos<sup>95</sup>.

### **Funciones del AL**

A nivel hepático el AL participa en numerosas reacciones metabólicas. Por ejemplo, el AL aumenta los niveles de GSH, siendo este probablemente el mecanismo de sus efectos detoxificantes y regeneradores hepáticos más importante<sup>94</sup>. Además de su acción antioxidante, se le utiliza como detoxificante hepático en el envenenamiento por algunas setas, metales pesados y fármacos como el paracetamol<sup>97</sup>.

El AL ha sido conocido por su papel en el metabolismo oxidativo; y como lipoamida, el cofactor esencial en los complejos  $\alpha$ -cetoácido deshidrogenasas de las mitocondrias<sup>98</sup>.

### **Papel del AL en el metabolismo oxidativo**

Se ha demostrado que el AL es requerido para la descarboxilación oxidativa del piruvato a acetyl CoA, el paso crítico que enlaza a la glicólisis con el ciclo del ácido cítrico<sup>95</sup>.

El ácido lipoico es un cofactor esencial de los complejos enzimáticos que catalizan la descarboxilación de los  $\alpha$ -ceto-ácidos, como el piruvato (a acetil coA) y  $\alpha$ -ceto-glutarato (a succinil coA) en el ciclo de Krebs<sup>45</sup>.

El AL juega un rol integral dentro del metabolismo oxidativo al funcionar como cofactor para la piruvato deshidrogenasa y la  $\alpha$ -ceto-glutarato deshidrogenada<sup>95</sup>.

*In vivo*, el ácido  $\alpha$ -lipoico se encuentra unido al grupo a-amino del residuo de lisina de **cinco** distintas proteínas. Como lipoamida funciona como cofactor de complejos multienzimáticos que catalizan la descarboxilación del piruvato, del  $\alpha$ -cetogluturato, y de los  $\alpha$ -ceto ácidos de cadena ramificada<sup>95,98</sup>.

Los complejos que catalizan estas reacciones comparten similitudes estructurales. Todos están compuestos por copias de tres enzimas E1, E2 y E3.

E1.- Piruvato deshidrogenasa

E2.- Dihidrolipoil acil transferasa

E3.- Dihidrolipoamida deshidrogenasa

### **Papel del AL como antioxidante**

Las propiedades antioxidantes del AL han sido demostradas desde 1959; en la actualidad se le considera un antioxidante universal, gracias al gran número de cualidades que posee, entre las que se encuentran: la fácil absorción, la conversión rápida a su estado reducido, la habilidad para funcionar en medios acuosos o lipídicos, la actividad quelante sobre algunos metales, y el papel regenerador en otros antioxidantes actuando finalmente de modo sinérgico<sup>94</sup>.

En la última década, un sinnúmero de reportes han mostrado la eficacia del ácido AL, como poderoso antioxidante, en el secuestro de numerosas especies reactivas como el radical hidroxilo OH\*, hipocloroso HClO\* y oxígeno O\*<sup>95</sup>. En el Cuadro 5, se indican las especies reactivas derivadas del oxígeno del nitrógeno y del cloro que son secuestradas por el AL y el DHLA<sup>95</sup>

**Cuadro 5. Actividad antioxidante del ácido  $\alpha$ -lipoico y del ácido dihidrolipoico**

<b>Oxidante</b>	<b>Secuestrado por AL</b>	<b>Secuestrado por DHLA</b>
Radical hidroxilo	sí	sí
Oxígeno singulete	sí	no
Ión superóxido	no	sí
Radical Peroxilo	no	sí
Hipoclorito	sí	sí
Peróxido de hidrógeno	sí	sí
Radical Oxido nítrico	sí	sí
Peroxinitrito	sí	sí
Quelación de metales	sí	sí

Algunas de sus funciones como modulador antioxidante son:

- 1) Eliminación EROS.
- 2) Regeneración de antioxidantes exógenos y endógenos como las vitaminas E y C, y; GSH.
- 3) Quelación de metales.
- 4) Reparación de proteínas oxidadas.

Estudios recientes indican que tanto el lipoato, como su forma reducida el dihidrolipoato, actúan como potentes antioxidantes. Reportando que ambos, tienen un efecto terapéutico eficaz en condiciones patológicas que involucran generación de especies reactivas<sup>51</sup>. Sin embargo también se indica que el DHLA es dos veces más efectivo que el GSH y la NAC, y cinco veces más efectivo que el AL<sup>95</sup>.

El potencial redox del AL/DHLA es de (-0.32V) comparado con el de la pareja redox GSH/GSSG que es de(-0.24 V) ; esta diferencia establece que el DHLA tiene mayor potencial de reducción dentro de la célula y que por eso puede ofrecer mayor protección del daño oxidativo que por ejemplo, el GSH, un importante protector a nivel intracelular<sup>95</sup>. La ventaja de este principio es que gracias a su potencial redox el DHLA tiene una poderosa acción reductora y por lo tanto puede servir de regenerador de otros antioxidantes fisiológicos de fases acuosas y lipídicas<sup>54</sup>.

### **De su interacción con otros antioxidantes**

Durante la interacción entre un antioxidante y alguna especie reactiva del oxígeno, el antioxidante generalmente es convertido a una forma que ya no resulta funcional. En orden de seguir siendo funcional, el producto oxidado requiere ser reciclado a su forma nativa<sup>95</sup>.

Los atrapadores de ROS especialmente de radicales, son eficientes solo cuando la forma relativamente estable del producto oxidativo puede ser fácilmente regenerado o degradado a través de un conjunto de reacciones cooperativas, donde los diferentes antioxidantes interactúan unos con otros: Por ejemplo: el GSH y la vitamina C, son moléculas que toman parte en la regeneración de antioxidantes oxidados; una vez que la vitamina C atrapa el radical ésta se transforma en un radical ascorbilo, el cual es regenerado por otros antioxidantes, interviniendo el GSH y el NADH para su restablecimiento<sup>63,99</sup>.

También puede regenerar otros antioxidantes de forma indirecta, como es el caso del ascorbato y la vitamina E. La vitamina E es el principal antioxidante que protege a las membranas de la lipoperoxidación. Y se sugiere se restablece a través de la reducción del GSSG por medio del <sup>100,101</sup>. En su forma reducida el AL puede proveer de una protección antioxidante tanto a las células próximas como a las del compartimento extracelular. Por lo que es capaz de afectar a un amplio rango de antioxidantes, incluido el GSH, la vitamina C, el ubiquinol e indirectamente la vitamina E <sup>102,103</sup>. Véase en la Figura 6. la dinámica de reciclamiento entre los antioxidantes corporales a través de la interacción del AL y del DHLA <sup>98</sup>.

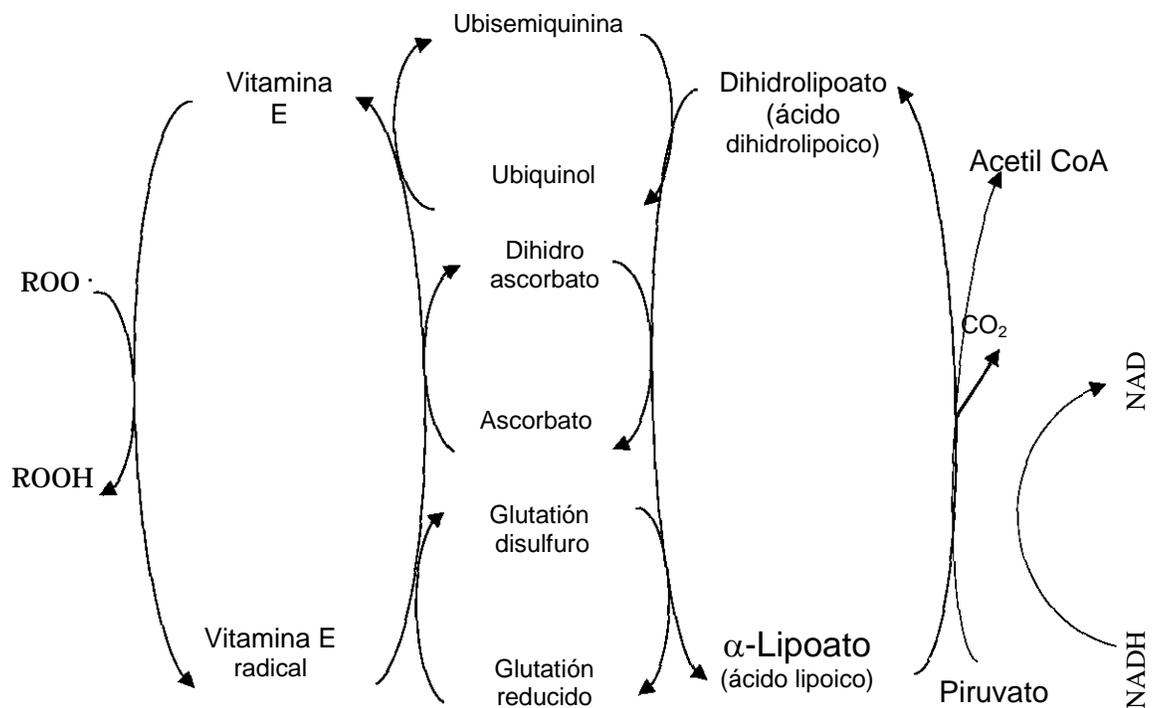


Figura 6.- Vías por las cuales el dihidrolipoato restablece a otros antioxidantes. El lipoato es reducido a dihidrolipoato por el NADH dependiente de la dihidrolipoamida deshidrogenasa (la enzima E3 del complejo  $\alpha$ -cetoácido deshidrogenasa) y también por el NADPH dependiente de la glutatión reductasa <sup>100,101</sup>.

### **Investigaciones que apoyan su eficacia**

En diversos estudios realizados con AL se observó que después de la regeneración del DHLA, éste es capaz de contribuir a la regeneración no enzimática del GSH, vitamina C y vitamina E<sup>99,104</sup>. El DHLA, además puede reciclar al radical ascorbilo, que en calidad de ascorbato puede reciclar al radical de la Vitamina E (VE). También se ha demostrado que el DHLA interactúa con NADH y NADPH de la cadena de transporte de electrones para reciclar la VE<sup>99,100</sup>. Otros estudios han sugerido que el DHLA puede también reciclar a la VE, vía reducción del GSSG a GSH. Sin embargo, el GSH es incapaz de reducir al AL a DHLA<sup>95</sup>.

Estudios originados de las observaciones de diversos investigadores muestran que la administración de ácido  $\alpha$ -lipoico previene los síntomas de la deficiencia por vitamina E y por vitamina C en ratas<sup>46</sup>.

La vitamina E es el principal antioxidante en las membranas biológicas y si bien se encuentra en baja proporción molar en comparación a la producción de radicales lipoperoxilos, su poder antioxidante se puede explicar gracias al “reciclaje” del cual es objeto por parte de otros antioxidantes. Estudios previos indican que 1.65 g de AL/Kg en la dieta, previene los signos asociados a la deficiencia de vitamina E en ratones<sup>105</sup>. Kagan *col.s.* (1992)<sup>100</sup> mantuvo elevadas concentraciones de vitamina E en humanos y encontró que el AL es un efectivo regenerador de la vitamina E por interacción sinérgica con la vitamina C.

Por su parte otros investigadores; estudiaron la regeneración de la vitamina C en mitocondria de hígado de rata, observando que en presencia de NADH y con la adición de AL, se mostró un incremento en los niveles de vitamina C<sup>104</sup>.

Por otro lado se ha observado, que al combinar DHLA más glutatión oxidado se previene la lipoperoxidación por un supuesto reciclamiento de la vitamina E, además que se ha demostrado que el AL causa un aumento intracelular del glutatión<sup>106,107</sup>. En otros estudios ha sido posible también observar el efecto del AL en su papel de regenerador de antioxidantes in vivo. En cerdos de guinea, se observó que en animales deficientes de vitamina C se prevenían los síntomas de escorbuto, al administrar AL en la dieta. En ratas sanas recién nacidas expuestas a un compuesto que disminuye los niveles de vitamina C, se observó que al incluir AL, los niveles de vitamina C se restablecían con respecto a los niveles del grupo

control<sup>108</sup>. El ácido  $\alpha$ -lipoico ha mostrado incrementar los niveles de GSH intracelular *in vitro* y también *in vivo*. El GSH es el principal antioxidante intracelular que actúa como un amortiguador sulfhidrilo, y que protege a los residuos de cisteína de las proteínas del proceso de oxidación<sup>95</sup>.

Han y cols. (1995)<sup>109</sup>, indicaron que el ácido  $\alpha$ -lipoico incrementa el GSH intracelular de linfocitos T de humanos; este efecto se explicó con la hipótesis de que tal incremento es consecuencia del incremento en la síntesis de GSH por una optimización en el uso de cisteína.

Debido a este mecanismo de reciclamiento, la pareja lipoato/dihidrolipoato puede mantener continuamente un estado redox favorable a expensas del metabolismo celular. El DHLA liberado de las células reduce la cisteína extracelular y por lo tanto promueve la incorporación de la cisteína al sistema ASC<sup>43</sup>. La regeneración de GSH por el AL también ha sido evaluada tanto en sujetos sanos como sometidos a estrés oxidativo. Se midieron los niveles de GSH en hígado, riñón y pulmón de ratas sanas antes y después de la administración de AL, encontrando que los niveles de GSH se incrementaban con el AL. En el mismo estudio, pero sometiendo a las ratas a estrés oxidativo, se observó que el AL prevenía la depleción de GSH.

También se ha encontrado que el ejercicio aumenta los niveles de lipooxidación en hígado y músculo esquelético; y que el AL bajo estas circunstancias muestra un efecto protector<sup>54</sup>.

Otros estudios ilustran como la administración de AL previene la lipoperoxidación durante el envejecimiento. En las ratas control adultas se encontró una mayor lipoperoxidación y niveles menores de GSH, vitamina E, vitamina C, actividad de la SOD, catalasa y GPx remarcablemente menores en comparación con las ratas jóvenes del grupo control. La suplementación de ácido DL- $\alpha$ -lipoico en ratas maduras mostró una disminución en los niveles de peróxidos lipídicos y un incremento en el estatus antioxidante. En ratas jóvenes el AL también disminuyó los niveles de lipoperoxidación<sup>51</sup>. Los resultados de este estudio concluyen que la suplementación de ácido lipoico restablece la pérdida mitocondrial de antioxidantes y sugiere que podría ser utilizado como un agente terapéutico efectivo en el tratamiento de aquellos desórdenes asociados con la edad donde los radicales libres son el principal factor involucrado<sup>51</sup>.

Por otra parte, también se encontró un efecto protector del AL en el desarrollo de lipidemias y aterosclerosis. Shih y cols.(1983)<sup>110</sup> estudió el efecto del AL en la aterosclerosis de palomas japonesas, las aves fueron alimentadas con colesterol durante 12 semanas, mientras recibieron AL mediante la implantación de una cápsula a nivel subcutáneo de liberación prolongada. Los resultados indicaron una disminución en el colesterol total y de las  $\beta$ -lipoproteínas en un 40 y 42% respectivamente.

Por su parte, Angelucci (1958)<sup>111</sup> e Ivanov (1974)<sup>112</sup> encontraron que el AL de la dieta no solamente reduce los niveles de colesterol y lipoproteínas sino que también intensifica la respiración celular en corazón, hígado y vasos sanguíneos de conejos.

Ford y cols. (2001)<sup>113</sup> encontraron que dosis de AL de 300mg/kg de peso disminuyen los triglicéridos del cuerpo en ratas diabéticas. Otros autores encontraron que dosis de 7.5 mg/199 g de peso vivo durante 9 días disminuye 45% las concentraciones de triglicéridos<sup>114</sup>.

En pollo de engorda predispuesto a desarrollar SA se ha documentado que el AL genera un incremento en los niveles de GSH total<sup>31</sup>.

La ingesta de antioxidantes por encima de los niveles mínimos requeridos ha mostrado tener efectos benéficos en la respuesta al balance oxidante/antioxidante, razón que justifica y alienta a mantener y continuar investigando a través de la aplicación de antioxidantes en la dieta el alcance en el manejo de cuadros clínicos que cursan con cuadros de estrés oxidativo como es el caso del SA. Y en atención a la importancia que revisten estos dos antioxidantes en beneficio de los niveles de GSH, se ha planteado utilizarlos en diferentes combinaciones para observar su efecto en pollos de engorda con alta predisposición a desarrollar el SA.

### III. JUSTIFICACIÓN

Considerando las cualidades tanto del AL como de NAC dentro del marco del estrés oxidativo; se evaluaron en dietas para pollo de engorda predispuesto a desarrollar síndrome ascítico. Se espera que con este tratamiento se evitarán las pérdidas por mortalidad, decomisos y malos índices de productividad.

Además se considera reducir los costos implícitos en la elección de AL al usarlo en una mezcla con NAC, con lo cual se facilitará la regeneración del GSH mediante la inclusión de AL, así como su síntesis a través de la NAC.

### V. HIPÓTESIS

La suplementación del AL en adición con la NAC en dietas para pollo de engorda, disminuye la incidencia del síndrome ascítico en pollos de engorda criados a 2250 m.s.n.m, por lo que se mejoran los índices de productividad y se favorece un incremento en los niveles de GSH en hepático.

### IV. OJETIVOS

1. Determinar el efecto del AL y la NAC sobre los parámetros productivos en el pollo de engorda.
2. Valorar la acción del AL y NAC sobre la incidencia del síndrome ascítico en el pollo de engorda.
3. Evaluar el efecto de la mezcla sobre indicadores del EO, como lo es el GSH, en el hígado de los pollos estudiados.

## VI. MATERIAL Y MÉTODOS

La realización de este estudio incluyó el desarrollo de dos fases, una de campo y otra de laboratorio.

### FASE DE CAMPO

El presente estudio se desarrolló 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 (UNAM), localizado en Zapotitlán Tláhuac, Distrito Federal, a una altitud de 2250 m.s.n.m., bajo un clima templado subhúmedo, con bajo grado de humedad; (C(wo)(w)). Una temperatura media anual de 16° centígrados y una precipitación pluvial media de 600 a 800 mm. Siendo enero es el mes más frío y mayo el mes más caluroso<sup>115</sup>.

Se utilizó una caseta experimental de ambiente natural que se encaló y desinfectó una semana antes de la recepción del pollito. La caseta contó con piso de cemento, cortinas de lona, y túneles internos para regular la temperatura.

Las cuatro primeras semanas se proporcionó calor a las aves con criadoras de gas. Se usaron comederos tipo tolva y bebederos automáticos de campana durante todo el ciclo productivo.

Los animales de experimentación fueron 1200 pollos mixtos de la línea Ross-508, de un día de edad, cuya procedencia fue una incubadora comercial. Se distribuyeron aleatoriamente para formar cinco tratamientos de seis réplicas cada uno. Para lo cual, se prepararon 30 corrales independientes.

Las dietas basales, se elaboraron en la planta de alimentos del CEIEPA, siguiendo las especificaciones nutrimentales para el pollo de engorda en sus dos etapas, de iniciación y de finalización según las recomendaciones de *Cuca cols. (1996)*<sup>116</sup>. Se aseguró de incluir altos niveles de energía metabolizable durante el ciclo, con el fin de promover un rápido crecimiento y aumentar la probabilidad de desarrollar síndrome ascítico. La composición porcentual y aportes nutricionales de las dietas basales empleadas para la prueba experimental se muestran en los Cuadros 8 y 9.

Los tratamientos incluidos fueron los que se exponen en el Cuadro 6:

**Cuadro 6. Tratamientos incluidos en la prueba experimental**

Tratamiento	Contenido
Tx. 1	Dieta basal (DB) sin AL ni NAC
Tx. 2	DB + 10 mg/kg de AL
Tx. 3	DB+800 mg/kg pv de NAC
Tx. 4	DB+10 mg/kg AL + 200 mg/kg NAC
Tx. 5	DB + 10 mg/kg AL+ 400 mg/kg NAC
Tx. 6	DB + 10 mg/kg AL+ 800 mg/kg NAC

El manejo médico consistió en la inmunización contra la enfermedad de Newcastle e influenza a los 12 días de edad (vía ocular y subcutánea).

Se midieron los siguientes parámetros productivos: Ganancia de peso diaria, consumo de alimento diario, conversión alimenticia, mortalidad general y mortalidad por Síndrome Ascítico. Los pesajes se hicieron semanalmente, y los registros de mortalidad se tomaron diariamente.

## FASE DE LABORATORIO

### DETERMINACIÓN DE GSH

Con la finalidad de hacer las determinaciones de GSH en el laboratorio, semanalmente se tomaron muestras de hígado de un pollo por repetición (ver Cuadro 7). Inmediatamente después del sacrificio, que se realizó según la NOM-OF-1995, se tomaron muestras de hígado y se conservaron en nitrógeno líquido para su transporte hasta el laboratorio donde fueron almacenadas en un REVCO a  $-75^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su procesamiento.

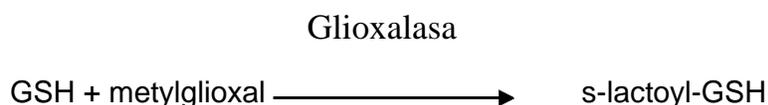
**Cuadro 7. Muestras obtenidas durante la prueba experimental**

Muestras de hígado	Por repetición	Por tratamiento	Por experimento
Semana 1	1	5	30
Semana 2	1	5	30
Semana 3	1	5	30
Semana 4	1	5	30
Semana 5	1	5	30
Semana 6	1	5	30
Semana 7	1	5	30

Las determinaciones analíticas se realizaron en el laboratorio 5 del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.

### **Determinación de GSH. Método de la Glioxalasa I**

El método empleado para determinar GSH fue el citado por Akerboom y cols. (1981)<sup>117</sup>. El fundamento químico se basa en la acción de la glioxalasa I, enzima que cataliza la reacción de condensación entre el metilglioxal y el GSH para formar un producto intermediario a la formación del ácido láctico, y que es detectado a una absorbancia de 240nm. La cantidad de producto formado es proporcional a la cantidad de GSH presente en la muestra. Esta prueba es altamente confiable debido a la gran especificidad que la enzima presenta<sup>118</sup>.



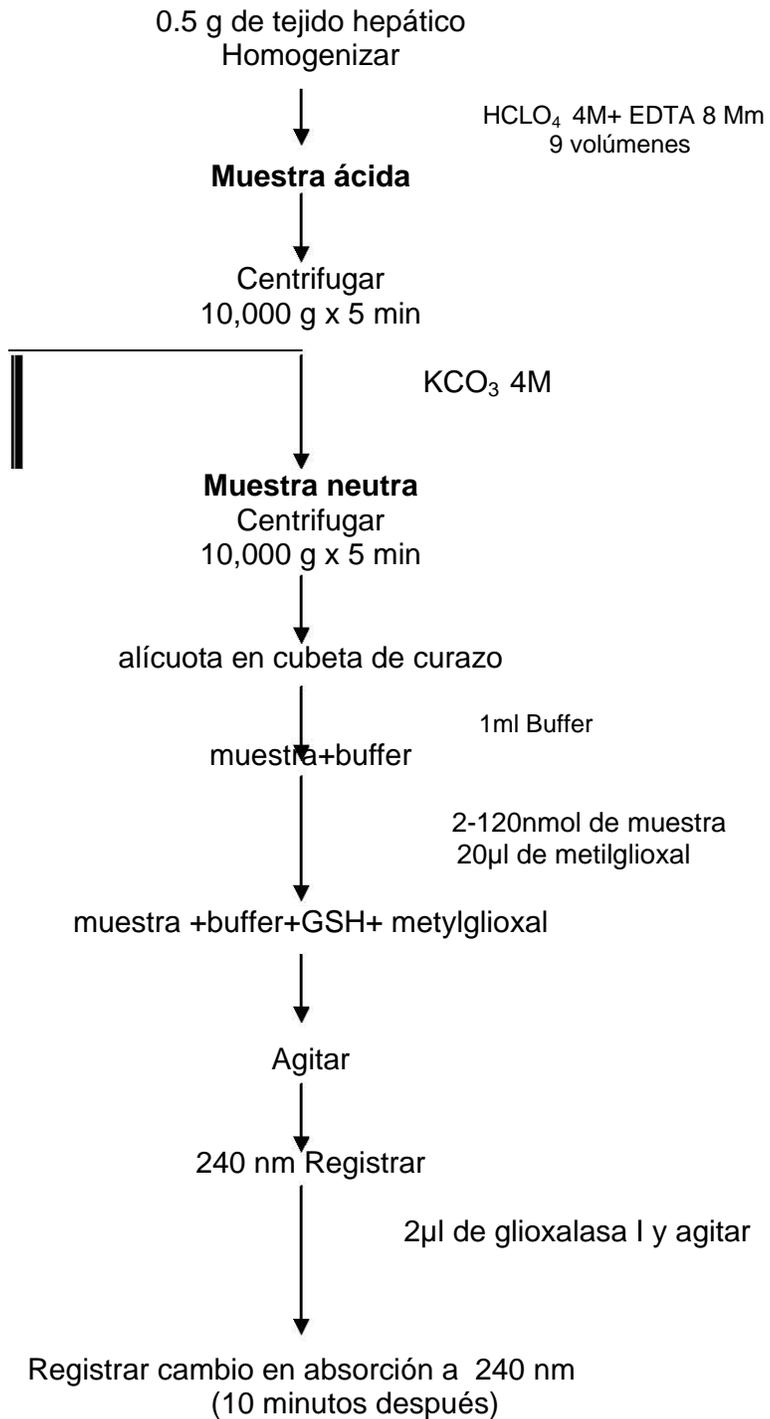
Los reactivos utilizados en la técnica fueron: EDTA 8 mM disuelto en ácido perclórico 4 M ; KCO<sub>3</sub> 4M; buffer de fosfatos 0.15 M a pH 7; metilglioxal 110 mM y glioxalasa I. Disponible comercialmente 1000 unidades/ml.

El desarrollo de la técnica se muestra en el esquema siguiente. Con el fin de evitar la degradación de compuestos inestables, las muestras congeladas, se pesaron (0.5 g aproximadamente), pulverizaron y trataron con ácido rápidamente. Después se homogenizaron en 9 volúmenes de ácido perclórico, y se centrifugaron en frío a 10,000 rpm/5 min.

Una vez obtenido el extracto perclórico se procedió a neutralizar la muestra con KCO<sub>3</sub>, nuevamente se centrifugó a 10,000 rpm/ 5 min y se tomó del sobrenadante 40 µl de muestra para la determinación del compuesto.

La muestra se añadió al buffer de fosfatos y posteriormente 20 µl de metilglioxal. Se hicieron registros de las absorbancias entre un reactivo y otro; en un espectrofotómetro Beckman DEU-650 programado a 240 nm. Finalmente se añadieron 2 µl de glioxalasa I. Y nuevamente se tomó el registro de la absorbancia hasta que la reacción consumió el total del GSH.

## ESQUEMATIZACIÓN DEL MÉTODO DE LA GLIOXALASA I



## **Análisis Estadístico**

A los datos de consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia, mortalidad general y mortalidad por SA se analizaron con un modelo estadístico completamente al azar de mediciones repetidas a través del tiempo (parcelas divididas), con el programa estadístico MENU<sup>119</sup>.

Dado que las variables de mortalidad general y mortalidad por síndrome ascítico no tienen una distribución de tipo normal, antes de ser sometidas a la prueba correspondiente, se transformaron a la forma raíz cuadrada arcoseno. El programa estadístico utilizado fue el SSPS software versión 10.0<sup>120</sup>.

Conforme al diseño experimental completamente al azar, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) considerando la prueba de Tukey en los casos donde existió diferencias significativas ( $P < 0.05$ ); y la prueba de Duncan donde las diferencias numéricas lo justificaron.

Para los resultados de GSH, se realizaron pruebas similares a las anteriores. El programa estadístico utilizado fue el SSPS software, versión 10.0.

Los datos de todas las variables estadísticas se expresan como  $\text{media} \pm \text{error estándar}$ ; considerando, para la significancia un nivel de probabilidad menor a 0.05. Las gráficas se construyeron con el paquete estadístico SIGMA-PLOT versión 11.0<sup>121</sup>.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### **Fase de Campo**

En este estudio se probaron dietas enriquecidas con dos antioxidantes en diferentes combinaciones, con la idea de observar el efecto generado sobre el comportamiento productivo de pollos de engorda con alta predisposición a desarrollar SA; así como también, para valorar el efecto sobre los niveles de GSH, un importante indicador de EO.

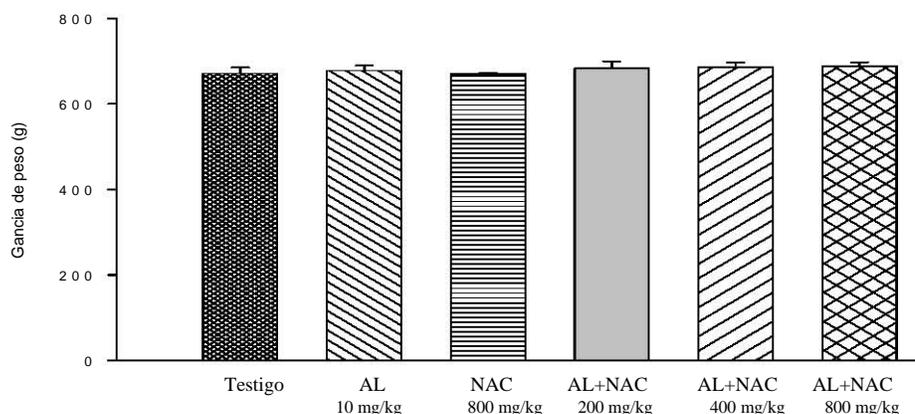
Al considerar las observaciones de otros estudios previos en cuanto a los factores relacionados con el desarrollo de esta enfermedad, se decidió incluir, en el experimento, como ya se mencionó, dietas con alta densidad energética; (3100 Kcal en la etapa de iniciación y 3200 Kcal para la etapa de finalización), a una línea de pollos genéticamente diseñada para la engorda, y añadir en la crianza el factor físico ambiental de una altura sobre el nivel del mar, suficientemente elevada; esto es 2250 m.s.n.m.

### **Parámetros Productivos**

A continuación se indican los resultados obtenidos de la prueba biológica, en los parámetros productivos para las diferentes etapas; iniciación (0-21 días), finalización (22-49 días) y ciclo completo (0-49 días).

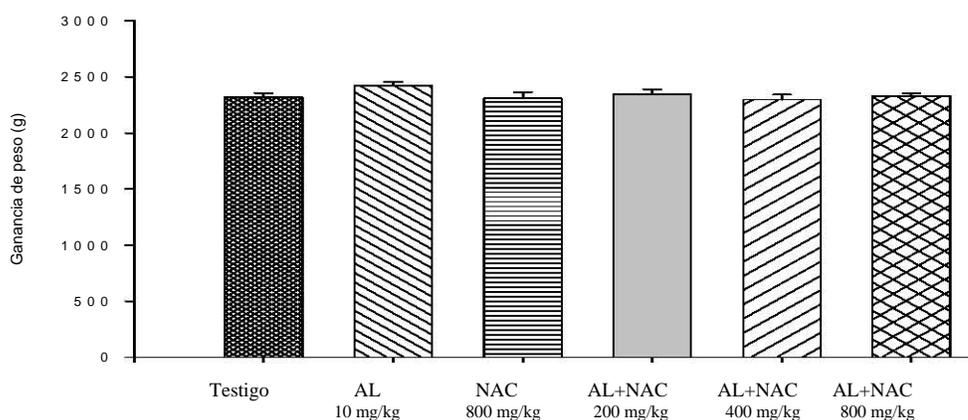
### **Ganancia de peso**

Tal como se aprecia en la Figura 7, para la etapa de iniciación la variable de ganancia de peso se observó con valores similares entre los distintos tratamientos. Las combinaciones de antioxidantes, y los tratamientos que los incluyeron individualmente no generaron ganancias de peso mayores con respecto al tratamiento testigo, situación que sin bien no sugiere un efecto benéfico directamente; al menos permite inferir que no provocó un efecto en detrimento del desarrollo de los animales.



**Figura 7. GDP en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Etapa de iniciación**

Posteriormente, al observar el comportamiento de la misma variable, pero esta vez en la etapa de finalización (ver Figura 8), se pudo observar que los tratamientos con las diferentes combinaciones de AL y NAC junto con el tratamiento que incluyó únicamente NAC y el tratamiento testigo, tuvieron valores muy similares entre sí, en tanto que, el tratamiento que incluyó solamente al AL, indicó una mayor ganancia de peso con respecto al resto de los tratamientos, destacando una diferencia de al menos 100 g de peso por pollo.

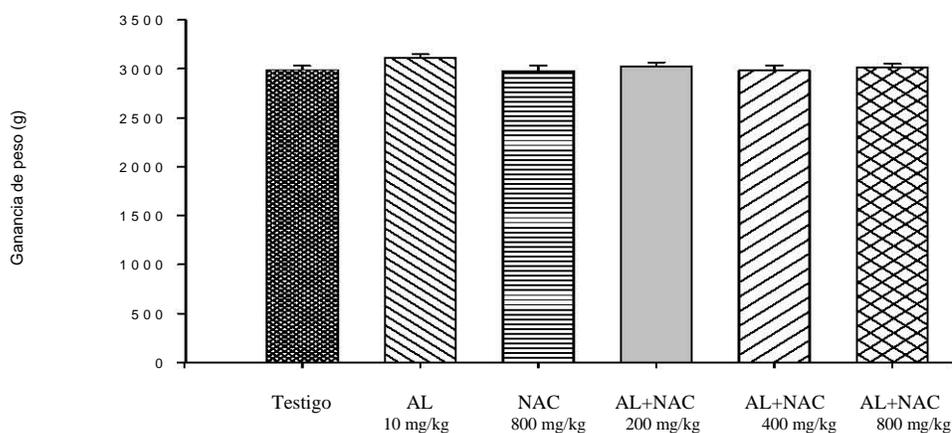


**Figura 8. GDP en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Etapa de finalización**

Respecto a esta tendencia numérica, es importante mencionar que aunque no existió diferencia con significado estadístico; en términos de volumen y

productividad considerar este incremento de peso extra, representa una mayor ganancia económica, ya sea por la cantidad de gramos obtenidos al final del ciclo; o bien, por que existe la posibilidad de concluir el ciclo de producción antes de los 49 días.

En la Figura 9 que incluye al ciclo completo, esta diferencia se aprecia más claramente:



**Figura 9. GDP en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Ciclo completo**

Con respecto al tratamiento testigo la diferencia es de 122.4 g más., de manera que numéricamente la diferencia resulta notoria. Ahora bien, al comparar estos resultados con los de otros autores como los de Serret y cols.(2002)<sup>31</sup> que indican los efectos de la suplementación del AL en la dieta para pollos de engorda predispuestos también a desarrollar SA, se tiene que, la dosis de 10 ppm de AL no genera diferencia en ganancia de peso con respecto al grupo testigo ni a los tratamientos que incluyeron 20 y 40 ppm; desde el punto de vista estadístico, esto es un punto de coincidencia para el tratamiento que en este trabajo incluyó solo AL a razón de 10ppm. Sin embargo, no resultan comparables las tendencias numéricas apreciadas para los diferentes trabajos experimentales en el sentido de que con la misma dosis de AL Serret y cols. (2002)<sup>31</sup> reportaron mayor ganancia de peso en el tratamiento testigo (2367 g) que en el tratamiento con AL (2262 g). Situación que ocurrió pero de manera inversa en el presente trabajo: tratamiento testigo (2989.6 g) y tratamiento con AL (3099 g). Cabe añadir que las dietas empleadas por Serret no fueron hipercalóricas lo que nos confirma un desafío mayor en nuestra prueba experimental y al mismo tiempo indica una posibilidad

de acción antioxidante efectiva por parte del AL incluido en raciones altas en energía.

En este contexto, siendo que el AL puede actuar como un antioxidante, y a su vez como un promotor del crecimiento, tendría la capacidad de generar o promover la ganancia de peso y mejorar la eficiencia alimenticia más allá de los estándares establecidos. Las dosis altas de AL (40 ppm) empleadas en el trabajo desarrollado por Serret y cols. (2002)<sup>31</sup> indicaron un efecto benéfico a nivel de ganancia de peso (sin diferencia estadística) y conversión alimenticia; datos que coincidieron y se corroboraron en las pruebas que bajo condiciones sumamente similares, realizó Ramírez y cols. (2003)<sup>6</sup>. Estos resultados respaldan la idea funcional del promotor del crecimiento, y orientan la idea general de que con los datos obtenidos en nuestro estudio la dosis de 10ppm de AL, no es suficiente en su totalidad, para lograr un efecto “adicional” sobre la ganancia de peso que se aprecie desde el punto de vista estadístico; y que por lo tanto, la dosis mínima requerida para poder observar un efecto en términos de esta variable aparenta ser de 40 ppm. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, desde el punto de vista matemático y financiero, esta diferencia numérica en términos reales sugiere reconsiderar la dosificación y la posibilidad que esta representa.

Por otro lado, es posible sugerir que bajo las condiciones creadas y seleccionadas para generar en los pollos en experimentación, las diferentes formas de estrés, la dosis de AL (10 ppm) posiblemente permitió superar estos desafíos, mientras que el potencial genético se expresó dentro de rangos de producción esperados y normales.

En cuanto a los tratamientos que incluyeron AL y NAC en sus diferentes combinaciones, cabe precisar que fueron planteados también, con la idea de obtener resultados similares a los obtenidos con 40 ppm por lo tanto se esperaba que alguna de las combinaciones mejoraran la ganancia de peso y la conversión alimenticia en la tendencia en la que ya se habían observado en estudios previos (Ramírez, 2003<sup>6</sup>; Serret, 2002<sup>31</sup>); sin embargo, lo que se observó es que ninguna de las combinaciones de NAC mejoró estos parámetros.

Con relación a estos hallazgos, puede citarse entre los estudios de Valdivia y cols. (2001)<sup>92</sup>, una prueba donde el objetivo era asegurarse de que la NAC no resultara tóxica para las aves, y por lo tanto no hubiera disminución en el consumo de alimento, ni efectos negativos sobre la ganancia de peso y otros

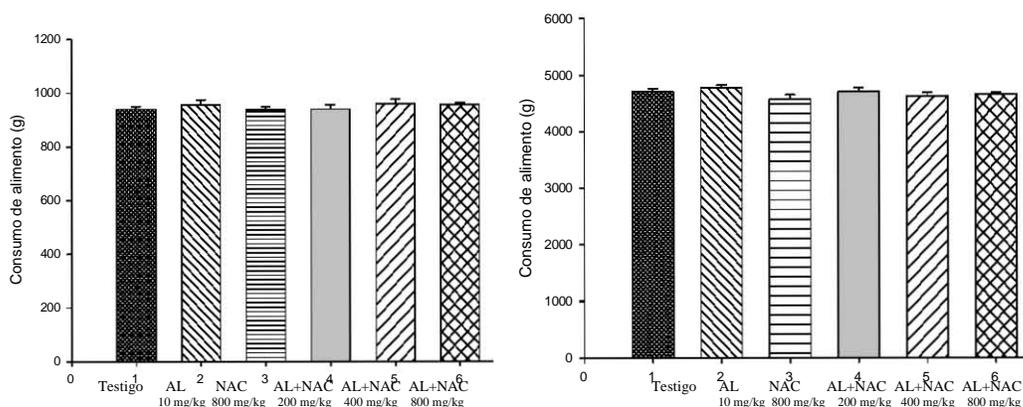
parámetros relacionados. Las dosis empleadas fueron de 400 y 800 mg/kg de peso vivo, incluidas en el alimento durante siete días. Los datos reportados para peso, ganancia de peso e índice de conversión alimenticia fueron muy similares entre los tratamientos tratados y el tratamiento testigo, los cuales no indicaron diferencias estadísticas. Situación que coincide con los resultados de este trabajo para las dosis de 400 y 800 mg/kg pv al no reflejar entre las diferentes variables efectos de toxicidad.

Adicionalmente, Valdivia y cols. (2001)<sup>92</sup> alimentaron a pollos con aflatoxinas; con NAC (800 mg/kg pv), y; con la mezcla de los dos; encontrando que la disminución en la ganancia de peso de los pollos alimentados solo con aflatoxinas, se compensaba con la adición de NAC. Sin embargo la dieta que incluía solo NAC no mostró diferencias con respecto a la dieta testigo.

Esto sugiere que la NAC, ni en sus dosis máximas reportadas, actúa por sí sola como un promotor de crecimiento; pero que si puede en cambio, atenuar los efectos generados por factores negativos que pudieran reflejarse sobre parámetros productivos, situación que se piensa pudo haber ocurrido en este trabajo.

### Consumo de alimento

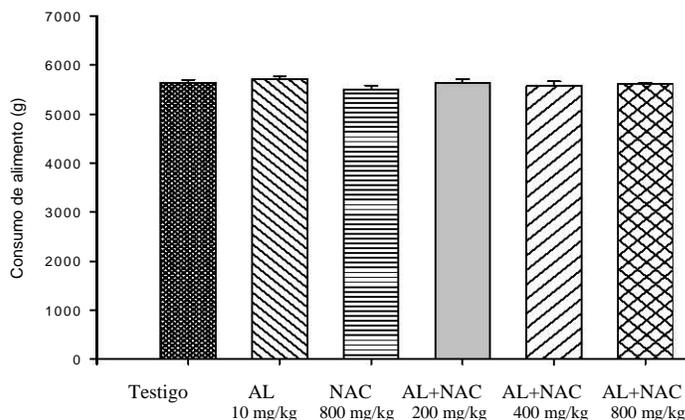
Respecto a la variable de consumo de alimento se apreció un comportamiento uniforme tanto en la etapa de iniciación como en la de finalización (ver Figuras 10 y 11).



Figuras 10 y 11. CDA en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Etapas de iniciación y finalización

Entre las observaciones que indicaron diferencias numéricas, destacó las del tratamiento que incluyó únicamente NAC a razón de 800 mg/kg, al parecer los pollos consumieron menor cantidad de alimento, probablemente debido a una mayor proporción de hembras que de machos. No obstante, el resultado se puede relacionar con la ganancia de peso para el mismo tratamiento, que en virtud de ser la más baja de los tratamientos, pudiera relacionarse positivamente en relación con el 100% de viabilidad o el 0% de mortalidad debida al SA.

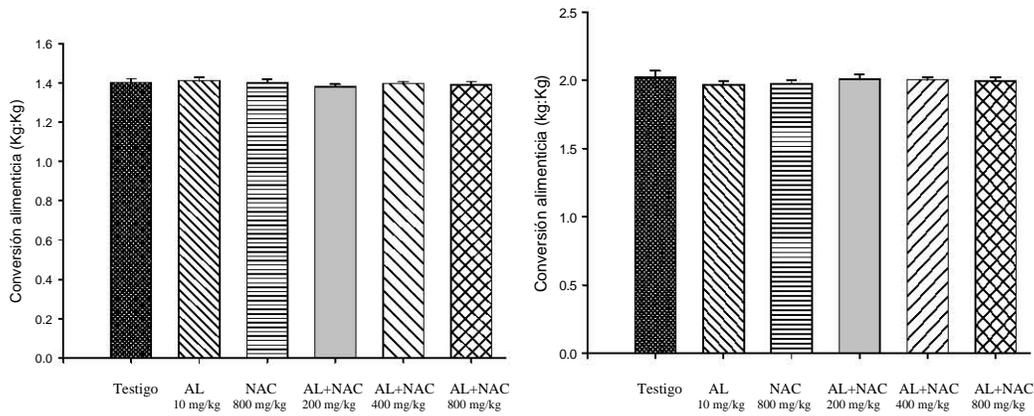
En general la Figura 12, que muestra el ciclo completo para esta variable, no indica mayores diferencias a las mencionadas anteriormente:



**Figura 12. CDA en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Ciclo completo**

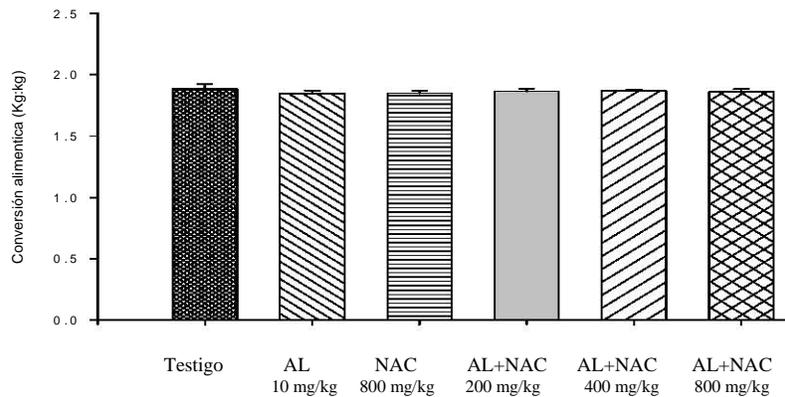
### **Conversión alimenticia**

Los datos observados para esta variable resultaron dentro de los rangos mencionados para la estirpe genética. En ninguna de las tres etapas se indicó un valor fuera del promedio general. Se indican a continuación las Figuras 13 y 14 respectivamente:



**Figuras 13 y 14. CA en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Etapas de iniciación y finalización**

En general y a diferencia de otros estudios con AL ya citados, la CA indicó valores uniformes. No se apreció el efecto de los antioxidantes como promotor de crecimiento en el sentido de beneficiar a esta variable. Véase Figura 15 relativa al ciclo completo:

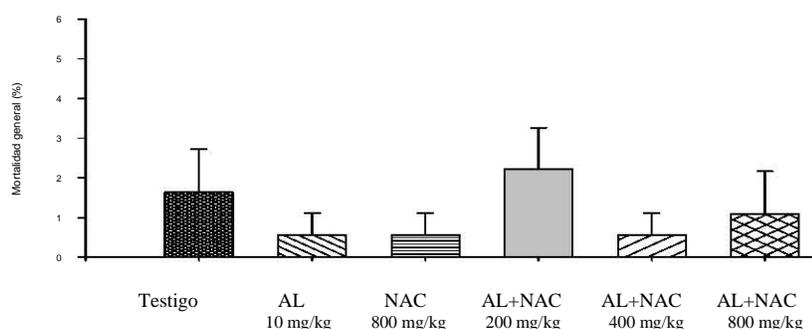


**Figura 15. CA en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Ciclo completo**

## Mortalidad General

Los datos observados para esta variable, indicaron diferencias aunque no de tipo estadístico notorias desde el punto de vista numérico.

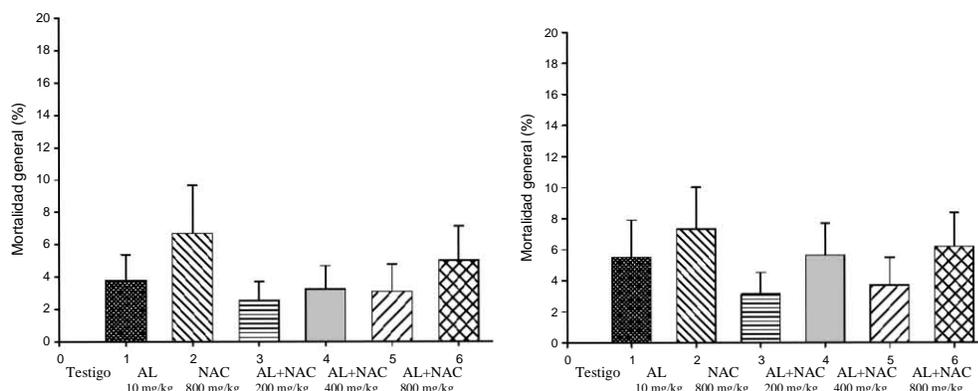
En la etapa de iniciación (ver Figura 16) se pudo apreciar mayores porcentajes de MtGral en los tratamientos testigo (1.6%) y el que incluyó la combinación de 200mg/kg de NAC con 10 mg/kg de AL (2.2%). Seguidos por el tratamiento que incluyó la combinación de los antioxidantes en la dosis mayor de NAC (800mg/kg) y 10 mg/kg de AL (1.08%), que resultó ser mayor al resto de los tratamientos que al ser iguales entre ellos resultaron ser también las cifras más bajas. Éstos son: el tratamiento con AL (0.5%), el tratamiento con NAC (0.5%) y el tratamiento con la combinación de 400 mg/kg de NAC y 10 mg/kg de AL (0.5%).



**Figura 16. Mt Gral. en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Etapa de iniciación**

Al parecer los mayores porcentajes de mortalidad se obtuvieron en los tratamientos que no incluyeron antioxidantes y el que incluyó la combinación en la dosis más baja. Cabe señalar que en general la mortalidad se debió a problemas de saco vitelino y onfalitis en los primeros días de edad de los pollos; así como a situaciones de asfixia por confinamiento.

Respecto a las etapas de finalización y también de ciclo completo (ver Figuras 17 y 18), se observó un aumento en los porcentajes de MtGral para todos los tratamientos, siendo ahora el tratamiento con AL el que indicó el mayor porcentaje de mortalidad (6.7%), seguido por el tratamiento que incluyó la combinación de AL con NAC en su dosis máxima (5.02%). El resto de los tratamientos se observaron en niveles parecidos a excepción del Tx.4 que incluyó las dosis menor de NAC en combinación con AL, y del Tx.1 que duplicó también el porcentaje de mortalidad.



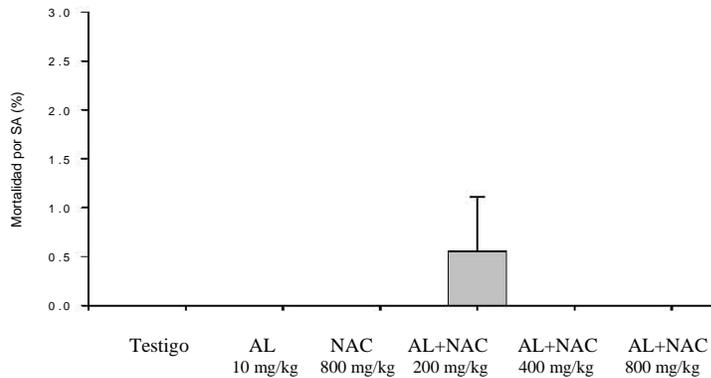
**Figuras 17 y 18. Mt Gral en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Etapas de finalización y ciclo completo**

Respecto a esta variable y a la comparación con lo obtenido en otros trabajos de investigación como el de Serret y cols. (2002)<sup>31</sup> se encontró que estos datos no coinciden con los que el autor reporta para el tratamiento con 10 ppm de AL, donde se aprecia una disminución de la mortalidad con respecto al tratamiento testigo con diferencia estadística. Por otro lado, los datos que Ramírez y cols. (2003)<sup>6</sup> exponen en su trabajo experimental no muestran para esta variable, diferencias significativas.

### **Mortalidad por SA**

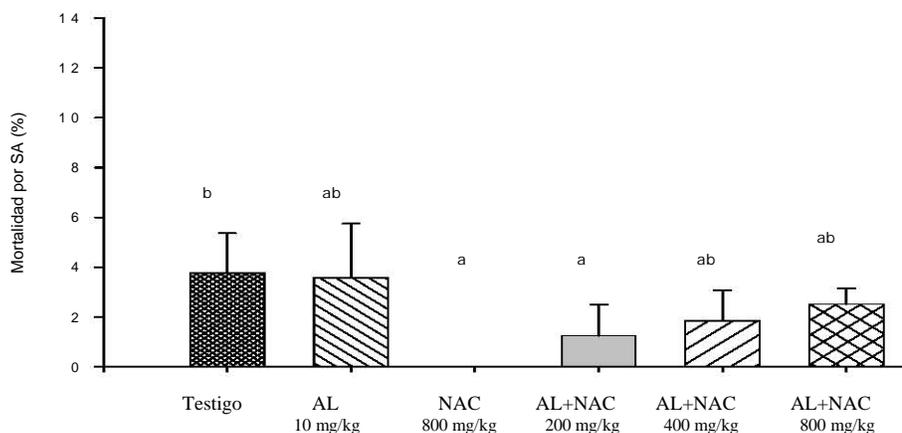
Para la etapa de iniciación (Figura 19), la mortalidad debida al síndrome ascítico solo se observó en el tratamiento que incluyó la dosis menor de NAC (200 mg/Kg) en combinación con AL (10 mg/Kg).

Cabe destacar en que en esta etapa el síndrome ascítico es menos común que se manifieste. Como se indicó en la revisión, a partir de la tercera semana de edad es notable el aumento en la incidencia debida al SA, manifestando mayores niveles a partir de la quinta semana de edad.



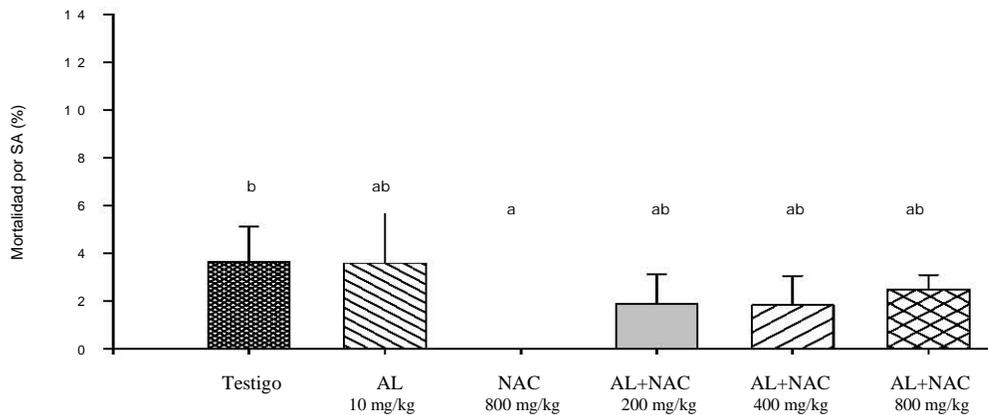
**Figura 19. Mt SA en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Etapa de iniciación**

Tal como se aprecia en la Figura 20, los casos de SA en la etapa de finalización se hicieron presentes en mayor proporción en los tratamientos testigo (3.8%), y curiosamente en el que incluyó solamente AL (3.6%) estos valores fueron muy parecidos entre ellos, pero resultaron mayores al tratamiento que incluyó la combinación de NAC (800 mg/Kg) con AL (10mg/Kg) (2.52%). En tanto que los tratamientos con la dosis menor y media de NAC en combinación con el AL indicaron valores medios y a su vez mayores al único tratamiento que indicó un 0% de mortalidad debida a este síndrome. Esta variable resultó tener diferencias de tipo estadístico para la prueba de Duncan ( $P < 0.05$ ) donde el tratamiento con 800 mg/kg de NAC resultó menor y diferente estadísticamente respecto al tratamiento control, y al resto de los tratamientos que al ser similares entre ellos, resultaron mayores al Tx.3 pero menores al Tx.1.



**Figura 20. Mt SA en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Etapa de Finalización**

En cuanto a la MtSA en el ciclo completo (Figura 21), se registraron los porcentajes mayores en los tratamientos testigo y con AL (3.77 y 3.58%), seguidos por el Tx.6 que incluyó la dosis más alta de NAC (2.52%), que a su vez, resultó ser mayor a los tratamientos 5 y 4 que incluyeron las dosis media y baja de NAC (1.86 y 1.80%) y que al ser similares entre ellos, se distinguieron por tener valores mas bajos. Sin embargo, el T3 que incluyó solo la dosis de NAC a razón de 800 mg/Kg, destacó en el sentido de que la mortalidad registrada debida al SA fue nula, de hecho ante la prueba de comparaciones múltiples de Duncan, si resultó ser estadísticamente diferente con respecto al tratamiento testigo ( $p < 0.05$ ), y ante el resto de los tratamientos.



**Figura 21. MtSA en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Ciclo completo**

En cuanto a la discusión referente a éste parámetro, se encontró, que a diferencia de los datos obtenidos por Serret y cols. (2002)<sup>31</sup>, en el tratamiento que incluyó solo AL, no se obtuvieron valores menores de mortalidad con respecto al tratamiento testigo, sino en cambio, muy similares a este. El resto de los tratamientos permanecieron con valores bajos, destacando que el tratamiento que solo incluyó NAC no tuvo mortalidad registrada debida a este síndrome; y que los registros menores inmediatos correspondieron a la combinación de la dosis baja de NAC con AL. Datos que tal vez se pudieran explicar con el aumento en los valores de GSH, con la mejora del estatus redox de las parejas antioxidantes, o con la disminución del EO por efecto directo de los antioxidantes incluidos en la dieta.

## Fase de laboratorio

### Niveles de GSH como indicador de EO

Los resultados obtenidos durante las siete semanas de experimentación, permitieron analizar los datos cada semana haciendo comparación entre tratamientos; así como también; observar a cada tratamiento a lo largo de las siete semanas.

De modo que, tal como se indica en los resultados expuestos, las diferencias observadas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) se apreciaron en la primera, segunda y séptima semanas. En este orden, se observó que:

### GSH. Semana 1

En la semana 1, se observó (ver Figura 22) una diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) para los tratamientos testigo (Tx.1) y el que incluyó solo AL (Tx.2), los valores fueron de 3.33 y 3.39  $\mu\text{mol}/\text{g}$  respectivamente; y como se observa resultaron ser similares entre ellos, y mayores al los niveles de GSH del resto de los tratamientos; el tratamiento con NAC (Tx.3) cuyo valor promedio se observó en 2.99  $\mu\text{mol}/\text{g}$ ; el tratamiento con la dosis mayor de NAC (Tx.6) con 2.69  $\mu\text{mol}/\text{g}$  y los tratamientos con la dosis menor y media de NAC (Tx.4) y (Tx.5) cuyos valores resultaron diferentes entre ellos, y menores al resto de los tratamientos 2.47  $\mu\text{mol}/\text{g}$ ; 1.90  $\mu\text{mol}/\text{g}$ .

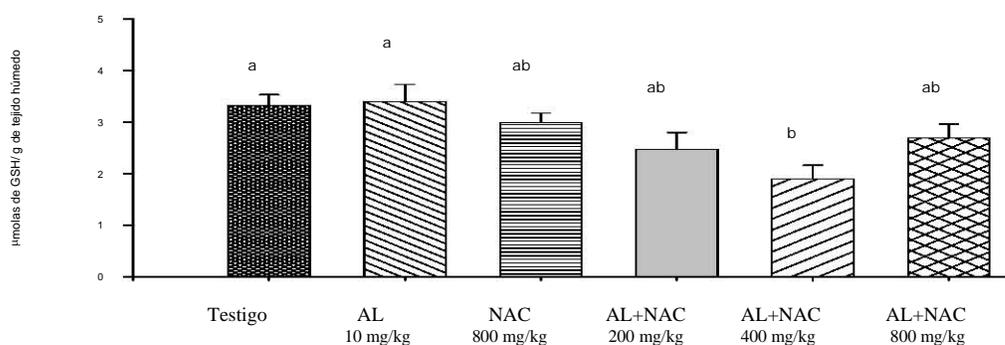


Figura 22. Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Semana 1

Estas diferencias que no fueron las esperadas, para los tratamientos con mayor cantidad de antioxidantes en la dieta, pudieran explicarse por la posibilidad de haber existido en la muestra seleccionada, mayor proporción de hembras que

machos. Puesto que la población de pollos fue mixta, y la selección para toma de muestra completamente aleatoria, pudiera haber esta posibilidad.

### GSH. Semana 2

En la semana 2, que se indica en la Figura 23, también se observó diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) en los Tx.5 y Tx.6 (3.83 y 3.77  $\mu\text{mol/g}$ ) con mayores niveles de GSH, al compararlos con los Tx.3, Tx.2 y Tx.4 (3.57, 3.25, 3.15  $\mu\text{mol/g}$ ) que al ser similares entre ellos resultaron tener mayores niveles que el Tx.1 (2.79  $\mu\text{mol/g}$ ).

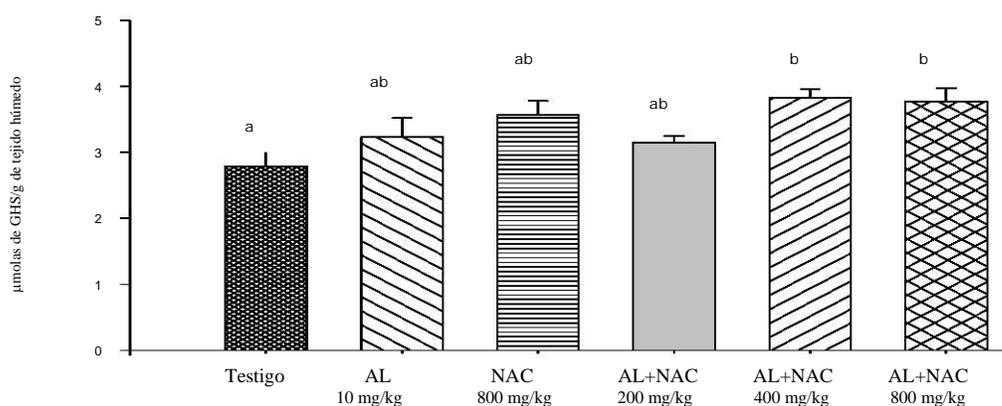


Figura 23. Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Semana 2

Estos resultados indican que por ejemplo los tratamientos que manejan las mayores dosis de NAC en combinación con el AL (Tx.5 y Tx.6) tienen valores de GSH muy similares entre ellos; lo que sugiere para fines prácticos, el uso del Tx.5 que lleva la dosis media de NAC, y que genera en este caso los mismos resultados.

### GSH. Semana 3

En la semana 3 (ver Figura 24) no se observaron diferencias entre los tratamientos ( $P > 0.05$ ). Sin embargo la tendencia numérica señaló valores ligeramente mayores de GSH en los Tx.4, Tx.2 y Tx.5 (3.49, 3.12 y 3.05  $\mu\text{mol/g}$ ). En el mismo orden decreciente se observó que los Tx.3, Tx.1 y Tx.6 tuvieron valores menores (2.99, 2.87 y 2.81  $\mu\text{mol/g}$ ).

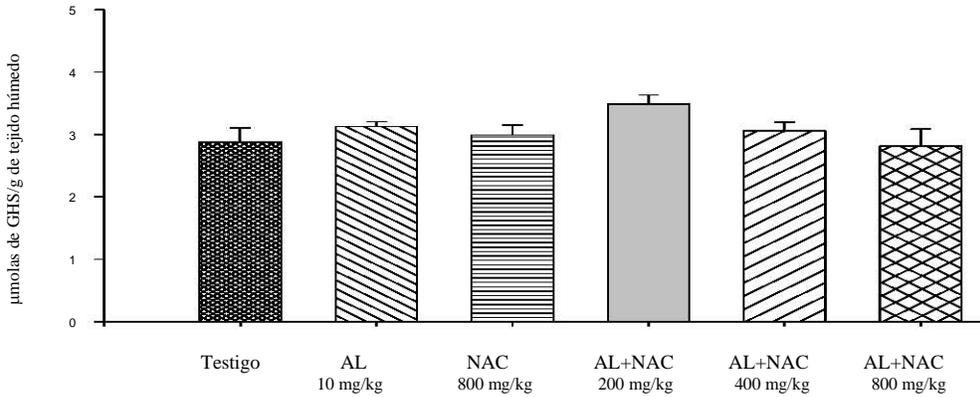


Figura 24. Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Semana 3

### GSH. Semana 4

Para la semana 4 que se indica en la Figura 25, no se registraron valores cuya diferencia fuera estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ). Numéricamente el Tx.2 (3.59 μmolas/g) mostró tener niveles mayores de GSH respecto al Tx.5, Tx.3 y Tx.4 (3.02, 2.95, 2.85 μmolas/g), mientras que los Tx.6 y Tx.1 mostraron niveles muy similares entre ellos y ligeramente menores (2.45 y 2.39 μmolas/g).

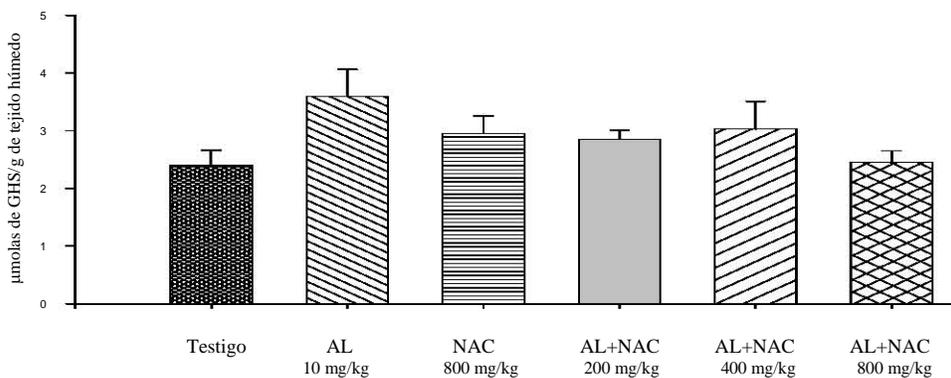


Figura 25. Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Semana 4

### GSH. Semana 5

En la semana 5 (ver Figura 26) no se encontraron diferencias entre tratamientos ( $P > 0.05$ ). Los valores promedio de los tratamientos mostraron un valor máximo para el Tx.5 (4.5 μmolas/g) donde los datos tuvieron una alta dispersión. Numéricamente los Tx.4, Tx.6 y Tx.3 mostraron niveles de GSH aparentemente

menores, (3.49, 3.34 y 3.34  $\mu\text{molas/g}$ ) y mayores ligeramente a los Tx.2 y Tx.1 (2.96 y 2.91  $\mu\text{molas/g}$ ).

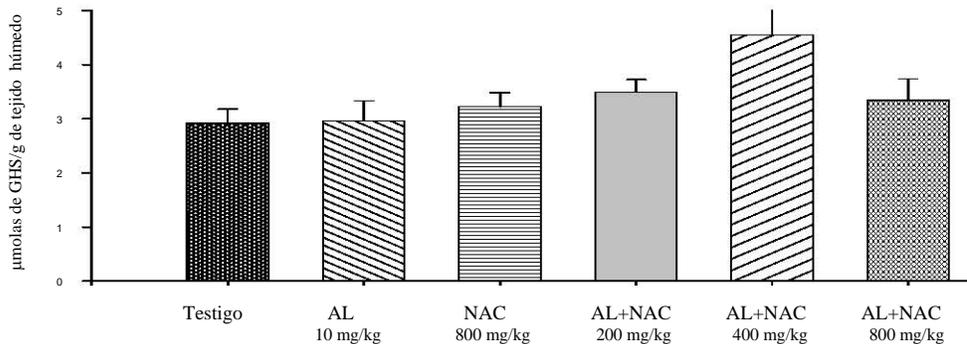


Figura 26. Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Semana 5

### GSH. Semana 6

En la Figura 27 se indican los valores de GSH observados para la semana 6; los resultados fueron similares entre ellos ( $P > 0.05$ ). Siendo los Tx.1, Tx.2 y Tx.4 los de valores semejantes (2.59, 3.09 y 3.22  $\mu\text{molas/g}$ ); mientras que los Tx.6, Tx.5 y Tx.3 coincidieron con valores cercanos entre ellos (3.46, 3.49 y 3.53  $\mu\text{molas/g}$ ).

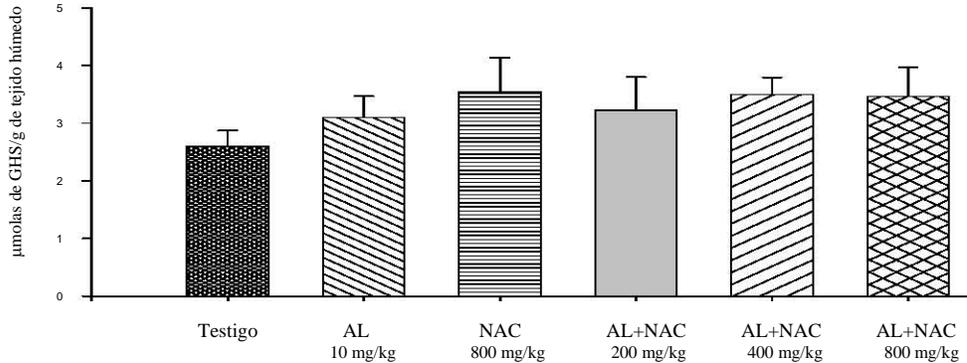
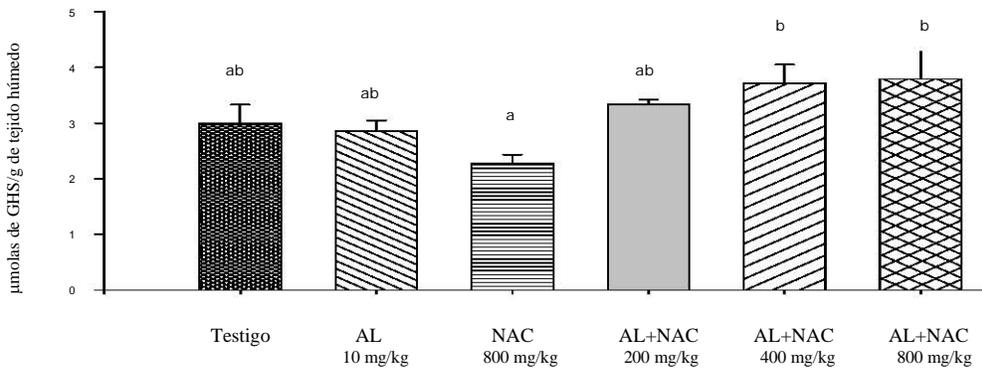


Figura 27. Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Semana 6

### GSH. Semana 7

En la semana 7 (ver Figura 28) se observó diferencia con significado estadístico entre tratamientos ( $P < 0.05$ ), donde el Tx.3 (2.27  $\mu\text{molas/g}$ ) resultó con los valores menores con respecto al resto de los tratamientos. Los Tx.2, Tx.1 y Tx.4 indicaron valores similares entre ellos (2.85, 2.99 y 3.33  $\mu\text{molas/g}$ ) pero menores a los Tx.5 y Tx.6 (3.71 y 3.79  $\mu\text{molas/g}$ ) que mostraron los valores máximos.



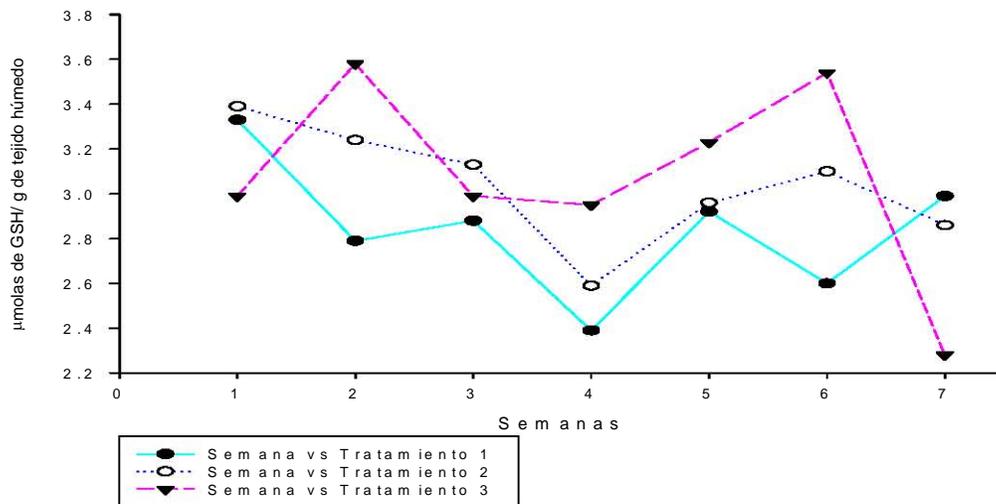
**Figura 28. Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Semana 7**

Con relación a estos resultados, se aprecia que el incremento en los valores de GSH en los tratamientos con dosis media y alta de NAC en combinación con el AL con respecto al tratamiento testigo y al resto fue muy similar al observado en la segunda semana, por lo que se puede decir que la tendencia se conservó en el final de la crianza, lo que sugiere que si bien no hubo reflejo directo sobre parámetros productivos como la ganancia de peso y la conversión alimenticia, si existe la coincidencia en cuanto a los valores de mortalidad por SA para estos tratamientos, cuyos porcentajes resultan entre los más bajos de los registrados en este experimento.

### **Niveles de GSH hepático a través del tiempo**

Las gráficas anteriores indicaron las diferencias en los niveles de GSH entre los distintos tratamientos. Ahora en este apartado nos enfocaremos en describir los valores de GSH por tratamiento pero a través del tiempo.

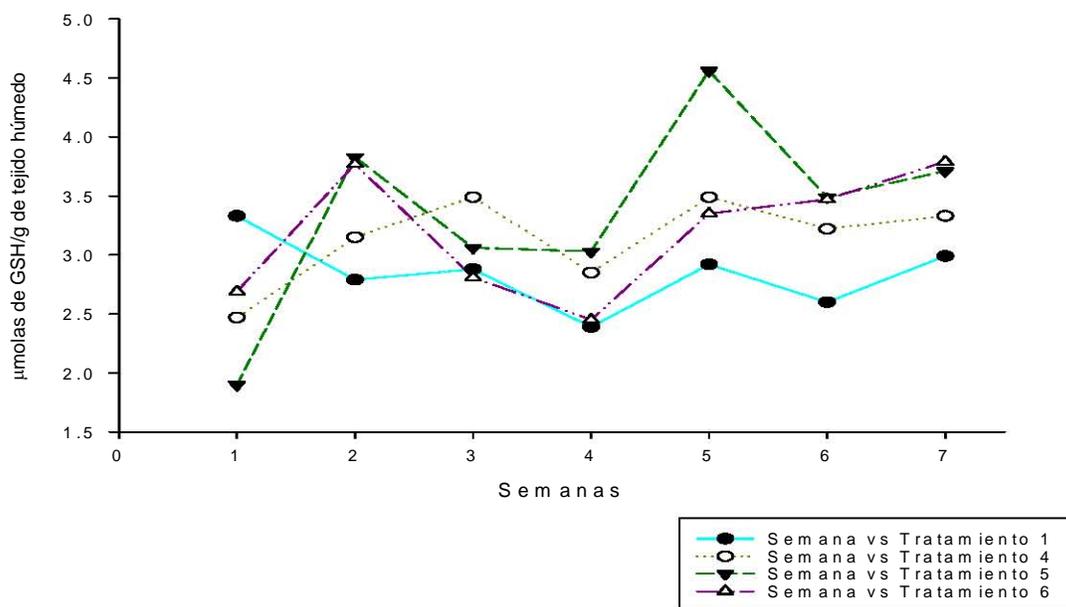
Para efectos de lograr una visión más clara se presenta a continuación la Figura 29, donde se comparan los primeros tres tratamientos, el testigo, y los tratamientos que incluyen por separado a cada antioxidante, el de AL y el de NAC.



**Figura 29. Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Comparación entre tratamientos 1, 2 y 3**

Como se puede apreciar los niveles de GSH en el grupo testigo son menores comparativamente con los niveles del tratamiento que incluyó solo AL (Tx.2), al parecer el tratamiento con NAC (Tx.3) indica que hay por lo menos hasta la sexta semana niveles más elevados de GSH con respecto al resto de los tratamientos. En general para este tratamiento se observa que los niveles de GSH tienden a incrementarse con el tiempo. Lo que no resulta así, para los tratamientos testigo y Tx.2 que indican valores de GSH muy cercanos entre ellos y con fluctuaciones parecidas.

En la segunda gráfica (ver Figura 30) se muestra al resto de los tratamientos que incluyeron la mezcla de antioxidantes en sus diferentes combinaciones, más el tratamiento testigo, que para efectos de comparación se indica en el mismo color que se indicó en la gráfica anterior.



**Figura 30. Valores de GSH hepático en pollos de engorda alimentados con AL y NAC. Comparación entre tratamientos 1, 4, 5 y 6**

En este caso lo que se puede apreciar es que al comparar el tratamiento testigo contra los tres tratamientos que incluyen las combinaciones de los dos antioxidantes a diferentes dosis, es que hay un incremento en los niveles de GSH mayor que en el tratamiento testigo. Mientras que los tratamientos que incluyen la combinación de 200mg/kg y 800 mg/kg de NAC con 10 mg/Kg de AL se comportan de manera parecida a través de las siete semanas; el tratamiento con la dosis media, 400 mg/Kg de NAC parece tener un efecto positivo sobre el incremento de los niveles de GSH al menos las primeras cinco semanas.

Cabe señalar que no se encontraron diferencias ( $P > 0.05$ ); a excepción del tratamiento con dosis media de NAC (Tx.5), que indicó diferencias entre la semana 5 y la semana 1; sin embargo; este resultado debe tomarse con reserva, puesto que la variabilidad para el Tx.5 como se aprecia en la tabla de resultados y se observa en la figura correspondiente, fue muy elevada.

En general, se puede decir que la intención de este análisis era poder apreciar si es que lo había, un aumento en los niveles de GSH a través del tiempo, en respuesta de un consumo constante de antioxidantes clave en la dieta. A pesar de que no hubo evidencia estadística que apoye lo anterior, se observó, que en los T.4, Tx5. y Tx.6 que incluyen las diferentes combinaciones de NAC y AL, tuvieron mayores niveles de GSH en las últimas semanas con respecto a la primer semana. Sin embargo, conviene reforzar estos datos con un mayor número de réplicas en experimentos posteriores.

Al comparar los resultados obtenidos en este trabajo con los trabajos de otros autores se encontró que:

Serret y cols. (2002)<sup>31</sup> determinó valores de glutatión total (GSHT) en el hígado de pollos tratados con AL; y lo que se apreció en primer orden, fueron niveles menores de GSHT con respecto a los niveles de GSH que se reportaron en este trabajo; y aunque no es lo mismo GSH que GSHT; la comparación deriva del supuesto de que del GSHT hallado a nivel celular, el GSH representa el 99%, mientras que el porcentaje restante corresponde, al glutatión oxidado más la porción de glutatión unido a proteínas<sup>76</sup>; por lo tanto se esperarían valores similares. Sin embargo, hay que señalar que se trata de técnicas distintas, así como de líneas genéticas diferentes de pollo, y condiciones de crianza que no fueron en su totalidad iguales ya que por ejemplo, el contenido calórico de las dietas empleadas fue mayor; y el clima en el medio ambiente fue mucho menos frío al esperado.

Un punto de coincidencia con el trabajo de Serret y cols. (2002)<sup>31</sup> es que los valores de GSHT así como los de GSH en este trabajo, aumentaron con las dietas que tuvieron mayor cantidad de antioxidantes. Notando que en ambos experimentos existieron uno o más factores que representaron un desafío de por medio.

Con relación a este punto, Valdivia y cols. (2001)<sup>92</sup>, mostraron en la prueba donde manejaron dietas con aflatoxinas, con NAC, y con la combinación de ambas; que no había un aumento en los niveles de GSH para la dieta que únicamente incluyó NAC en comparación a la dieta testigo. Estos datos se apoyan por los de Boebel y cols. (1983)<sup>122</sup>, quienes sugieren que un aporte de cisteína en la dieta que exceda los niveles requeridos para el máximo crecimiento del pollo de engorda está fuera de valor para incrementar los niveles de GSH, y que por lo tanto no aporta

ninguna ventaja metabólica con respecto a las funciones protectoras, de transporte, coenzimáticas o de síntesis de proteínas, a menos que exista una condición adversa. Y al respecto, los resultados de este trabajo para el Tx.3 donde se incluyó únicamente a la NAC en la misma dosis empleada por Valdivia y cols. (2001)<sup>92</sup>; pero en condiciones donde hay alta predisposición a desarrollar SA; indicaron al menos para cinco semanas, valores de GSH ligeramente mayores a los valores registrados para el grupo testigo. Ahora, el hecho de que la mortalidad en este tratamiento fue nula, sugiere que la NAC además de inducir la síntesis de GSH que se aprecia numéricamente en valores más grandes; pudo haber contrarrestado “por si sola” el medio oxidante presente en el cuadro de SA. En este caso además, los factores desafiantes como la altura y las dietas hipercalóricas, si estuvieron presentes; a diferencia de la prueba de Valdivia y cols.(2001)<sup>92</sup> donde la dieta, incluía solo NAC pero no aflatoxinas.

En cuanto al hecho de que los tratamientos con las combinaciones de NAC y AL si mostraron un aumento estadístico en los niveles de GSH con respecto al resto de los tratamientos ( $P < 0.05$ ); sugiere la posibilidad de un efecto en la combinación de estos antioxidantes, que reflejó por un lado, menores porcentajes de mortalidad y por el otro; incremento en los niveles de GSH.

Cabe recordar, que la NAC como se mencionó en la parte inicial de este trabajo, se incluyó en la combinación, con la justificación de que actuaría como precursor de la síntesis de GSH; mientras que el AL lo haría regenerando al GSH y a otros antioxidantes; sin embargo, no es posible saber a que nivel actuaron; si ejerciendo su acción antioxidante “per se”, de manera que el AL pudo haber sido utilizado para secuestrar o reducir a especies reactivas directamente, mientras que la mayor proporción de la NAC se destinaría para la síntesis GSH.

Por otro lado, tampoco es posible saber, si efectivamente la NAC y el AL provocaron un cambio en el balance redox del glutatión, favoreciendo al glutatión reducido, en vez de causar una síntesis directa sobre este tripéptido. Por lo que se sugieren pruebas donde se incluyan tanto al GSH como al GSHT y GSSG.

En contraste, y a reserva de encontrar más trabajos que confirmen lo descrito; los trabajos de Cotgreave, *et al* (1997)<sup>123</sup>, reportan que el uso de NAC *in vivo* no ejerció el efecto antioxidante esperado, debido presumiblemente a una baja

solubilidad en los lípidos presentes en la célula y en consecuencia a una pobre distribución tisular. Este punto se explica al observar que el grupo carboxilo de la NAC, está negativamente cargado a pH fisiológico, lo que limita su habilidad para cruzar las membranas celulares<sup>124</sup>.

Entre la variedad de agentes desarrollados recientemente con propiedades farmacocinéticas mejoradas, se encuentra el  $\gamma$ -glutamil-cisteinil-etil ester (AD4) que tiene a diferencia de la NAC, el grupo carboxilo neutralizado, por lo tanto, es más lipofílico y puede atravesar las membranas más fácilmente. Se ha demostrado que el AD4 es eficaz en atravesar la barrera hematoencefálica y restablecer rápidamente los niveles de GSH. La esterificación carboxilo hace que este dipéptido sea más lipofílico, lo que permite una notable actividad biológica así como excelente distribución tisular<sup>124</sup>.

Finalmente, vale la pena mencionar, que los valores de GSH reportados en este trabajo experimental, se encuentran dentro del rango de referencia citado en la literatura internacional, donde los valores se ubican entre 2.2-4.2  $\mu\text{mol/g}$ ; niveles que además; resultaron mucho menores a los reportados en otras especies de mamíferos, como las ratas (5.5-7.2  $\mu\text{mol/g}$ ) y los conejos (7.4-8  $\mu\text{mol/g}$ )<sup>31,61,125,126</sup>. Estas diferencias observadas, resultan ser, entre un 25 a un 50 % menores a los valores reportados en las especies indicadas. En este respecto Enkvetchakul y cols. (año)<sup>127</sup> explica que, dado que los pollos han sido ampliamente seleccionados para un rápido crecimiento, los niveles bajos de GSH responden por un lado, a un incremento en la demanda para ser empleado durante el crecimiento corporal y la síntesis de plumas; y por el otro; a la gran actividad que la hormona tiroidea presenta, para estimular un adecuado eflujo sinusoidal a nivel hepático<sup>127</sup>.

Dado los resultados alentadores que se encontraron en este trabajo; en cuanto al incremento en los niveles de GSH a nivel hepático, junto con los niveles de mortalidad que resultaron ser bajos o nulos para ciertos tratamientos, se sugieren estudios posteriores que incluyan un mayor número de réplicas.

## IX. CONCLUSIÓN

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas se puede inferir:

- Existió una tendencia numérica para la variable de ganancia de peso a aumentar en 122 g para el tratamiento que incluyó solo AL a razón de 10 mg/kg de alimento; sin embargo no hubo diferencia estadística.
- Es probable que la inclusión de los antioxidantes de manera individual y en sus diferentes combinaciones favorezca un ambiente donde se disminuye el estado de estrés oxidativo provocado experimentalmente en este trabajo, y por lo tanto los efectos negativos se controlaron permitiendo que el pollo expresara su potencial genético dentro de los índices esperados.
- Las diferentes dosis de NAC empleadas en combinación con el AL, no indicaron efectos de toxicidad reflejados con disminución en el consumo de alimento, ganancia de peso ni mortalidad general.
- La combinación de NAC con AL, en sus dosis media y alta; favorecen el aumento de los niveles de GSH.
- Se sugiere que la combinación de antioxidantes más conveniente es la del Tx.5 (400mg/kg) pues además de incrementar los niveles de GSH, también coincide con bajos niveles de mortalidad debidos al Síndrome Ascítico.
- Para estudios posteriores se sugieren mayor número de animales y de réplicas.

## XI . LITERATURA CITADA

- (1) Unión Nacional de Avicultores de México. **Compendio de Indicadores Económicos del Sector Avícola**, 2006. Unión Nacional de Avicultores de México. Dirección de Estudios Económicos, México, D.F.
- (2) Reddy PR. **Situación actual y desarrollos futuros en la mejora y potencial genético de reproductoras pesadas**. Temas selectos de actualidad para la Industria Avícola. México (D.F), México; Midia relaciones SA de CV.1995 ;73-90.
- (3) Leeson S. **The future of broiler production**. 18th Annual Alltech Symposium. México (DF): 2002, 1-10.
- (4) Shelly CL. **Regulation of hepatic glutathione synthesis: Current concepts and controversies**. FASB J 1999; 13:1169-1183.
- (5) López CC, Charles NL, Camacho FD, Arce MJ and Peñalba GC.: **Effect of controlling feed consumption as related to pellet or mash diets on the incidence of ascites syndrome**. Poult Sci 1997 Suppl:1-76.
- (6) Ramírez FMG. **Efecto del ácido lipoico en indicadores productivos y del estrés oxidativo en el pollo de engorda** (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2003.
- (7) Maxwell MH. **Ascites in broiler**. In: Wiseman JW editors. Recent developments in poultry nutrition 2. Nottingham: University Press, 1999: 179-193.
- (8) López CC, Arce MJ, Ávila GE y López PC; **Investigaciones sobre el síndrome ascítico en pollos de engorda**, FMVZ-UNAM e INIFAP, Ciencias Veterinarias 1991; 5:13-48.
- (9) López CC *et al.* **Síndrome Ascítico**. In: Sistema de Universidad Abierta editores. Sistema de producción Animal I; vol II; México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2005.
- (10) Hulan HW, Nash D, Corner AH, Proudfoot FG. **Some aspects of the composition of avian ascites fluid**. Poult Sci 1984; 63: 1357-1363.
- (11) Wideman RF, Walter GB. **Current understanding of the Ascitis syndrome and future research directions**. Department of Poultry Science. University of Arkansas, 1993:1-20.
- (12) Arce MJ. **Consideraciones para reducir el Síndrome Ascítico en pollos de engorda**. Memorias de la IV Ronda Latinoamericana de biotecnología; 1994; México (D.F.): México 1994: 1-20.
- (13) Julian JR, **The cardiovascular disease**. In Frank Jordan Press. *Poultry Diseases*. 5th edition, 2001.

- (14) Paasch ML.: **Desarrollo de algunas investigaciones sobre el síndrome ascítico en México.**: Ciencia Veterinaria 1991; 5:1-11.
- (15) Comunicación escrita del Dr. Enrique Piña, mayo 2007.
- (16) López CC, Arce MJ, Pro MA, Ávila GE, Vázquez PC, Wideman FA y Odom WR.: **Manual del productor para el control de Síndrome ascítico III.** México, México (DF): U.S. Feed Grains Council, México 1994; 1-54.
- (17) Lister S. **Broiler ascites: a veterinary viewpoint**; World's Poul Sci J 1997; 53: 65-67.
- (18) Olander, HJ; Burton, RR and Alder, HP. **The pathophysiology of chronic hypoxia in chickens.** Avian Dis 1967; 11: 609-620.
- (19) Burton, RR and Smith, AH. **Effect of chronic hypoxia on the pulmonary arterial blood pressure of the chicken.** Am J Physiol 1967; 214:1438-1442.
- (20) Vidyadaran MK. **Quantitative observations on the pulmonary anatomy of the domestic fowl and other ground dwelling birds.**(Ph. D. Thesis). *Malaysia (Kuala Lumpur) Malaysia. University pertanian*, 1986. Cita de cita<sup>20</sup>.
- (21) Vidyadaran MK; King AS and Kassim H.: **Deficient anatomical capacity for oxygen uptake of the developing lung of the female domestic fowl when compared with the red jungle fowl.** Schweiz, Arch. Tierheilk 1987; 19:225-237. Cita de cita<sup>20</sup>.
- (22) Baez MF; Gordillo MR; y López CC.: **Evaluación de análisis clínicos del Síndrome Ascítico e pollos de engorda seriados a diferentes alturas sobre el nivel del mar.** Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México, 1984. México (DF): UNAM, FMVZ;1984, 279.
- (23) Iqbal M; Wideman RF Jr; Cawthon D; Bottje GM, **Lung mitochondrial dysfunction in pulmonary hypertension syndrome. I. Site-specific defects in the electron transport chain.** Poult Sci 2001; 80 (4): 485-495.
- (24) Montserrat JM, Hernández L, Nacher M, Barbé F. **Nuevos aspectos patogénicos en el síndrome de apneas e hipoapneas durante el sueño (SAHS).** Arch Bronconeumol 2004; 40:27-34.
- (25) García RF. **El síndrome de apneas del sueño como causa y consecuencia de insuficiencia cardíaca congestiva.** Med Cli 2001; 116 (8): 312-314.
- (26) Mitchell MA; Ascites syndrome: a physiological and biochemical perspective. World's Poul Sci J 1997; 53:61-64.
- (27) Julian JR. **Ascites in Poultry.** *Avian Pathology* 1993; 22:419-454.

- (28) Available from URL: <http://fmvz.uat.edu.mx> ,Universidad Autónoma de Tamaulipas FMVZ "Norberto Treviño Zapata". Enfermedades más comunes de las aves. Síndrome ascítico.
- (29) Demaurex N and Petheö GL. **Electron and proton transport by NADPH oxidases.**: Phil Tras R Soc B 2005; 360:2315-2325.
- (30) Bottje GW, Enkvetchakul-B. **Potential role of antioxidants and lipid peroxidation in ascites syndrome.** AFIA.1994<sup>ojo</sup>.
- (31) Serret MG.: **Efecto del ácido lipoico sobre algunos indicadores del estrés oxidativo en pollos de engorda** (tesis de maestría). México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 2002.
- (32) Comporti M, Benedetti A. **Biology disease: Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury.** Lab Inv.1985; 53:599-623.
- (33) Halliwell B and Gutteridge JM. **Free Radicals in Biology and Medicine.** 3<sup>rd</sup> edition. Oxford: Clarendon Press, 2002.
- (34) Zentella de Piña M; Corona GS y Saldaña BY. **Toxicidad del oxígeno: Papel de los Radicales libres en la peroxidación de los lípidos.** Bol Educ Bioq 1994; 13 (3):87-93.
- (35) Zentella de Piña M y Saldaña BY. **Papel fisiológico de los radicales libres.** Bol Educ Bioq 1996; 15 (4):152-161.
- (36) Biasi F, Chiarpotto E, Lafranco 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.
- (37) Wittwer FG, Contreras PA y Chihuailaf RH. **Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal.** Vet Mex 2002; 33(3): 265-282.
- (38) Aruoma OI. **Free Radicals and antioxidants strategies in sports.** J Nut Biochem 1994; 5: 370-381.
- (39) Halliwell B and Gutteridge JM. **Free Radicals in Biology and Medicine.** 2<sup>nd</sup>. edition; Oxford: Clarendon Press, 1989.
- (40) Fernández V; Díaz DC; Espinoza JA; Angulo P. **Estrés Oxidativo.** Laboratorio de farmacología, toxicología y terapéutica veterinaria, FMV-UNMSM.
- (41) Villar-Patiño G, Díaz-Cruz A, Ávila E, Guinzberg R, Pablos J, Piña E. **Effects of dietary supplementation with vitamin C or vitamin E on cardiac lipid peroxidation and growth performance in broilers at risk of developing ascites syndrome.** Ame J of Vet Res 2002; 63:673-676.
- (42) Valle Krimilda. **Evaluación de diferentes dosis de piroxicam (antinflamatorios no esferoidales) sobre la respuesta inflamatoria y grado de lipoperoxidación en hígado, corazón y pulmón así como su efecto en parámetros productivos en pollo de engorda predispuesto al**

- síndrome ascítico.** (tesis de maestría). México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 2001.
- (43) Sen CK. **Redox signaling and emerging therapeutic potential of tiol antioxidants.** *Biochem Pharm* 1988; 55: 1747-1758.
- (44) Tikson DG. **Radicales libres en biología y medicina: una breve revisión.** *Gaceta de veterinaria, Universidad Centro occidental "Lisandro Alvarado"* 1996; 1 (2):44-57.
- (45) Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. **Free radicals, antioxidants, and human disease: where we are now?.** *J Lab Clin Med* 1992; 119 (6): 598-620.
- (46) De Wollin S, Jones JH.  **$\alpha$ -lipoic acid and cardiovascular disease. Recent advances in nutritional sciences.** *J Nutr* 2003; 13: 3327-3330.
- (47) Han D, Tritscher HJ, Packer L. Alpha-lipoic and increases intracellular glutathione in a human T-lymphocyte Jurkat cell line. *Biochem Biophys Res* 1995; 45:872-874. Cita de cita <sup>46</sup>.
- (48) Chen JJ and Yu BP. **Alterations in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products.:** *Free Rad Biol Med* 1994; 17: 411-418.
- (49) Jiménez HM; Ortega CME; Cobos PM; Herrera HJ; Díaz CA y Ferrusquia GR. **Estrés Oxidativo y el uso de antioxidantes en animales.** *Interciencia* 2005; 30 (12): 728-734.
- (50) Ozawa T. **Genetic and Functional changes in mitochondria associated with aging.** *Physiol Rev* 1997; 77: 425-464.
- (51) Wei YH; Kao SH; Lee HC. **Simultaneous increase of mitochondrial DNA deletions and lipid peroxidation in human aging.:** *Ann NY Acad Sci* 1996; 786: 24-43.
- (52) Palaniyappan A; Ramamathan K and Panneerselvam Ch. **Effect of DL- $\alpha$ -lipoic acid on status of lipid peroxidation and antioxidants in mitochondria of aged rats.:** *Jour of Nut Biochem* 2001; 12: 2-6.
- (53) Sen CK; L Packer and O Hanninen. **Exercise and Oxygen Toxicity.** Amsterdam: Elsevier Press;1994; p 536<sup>?</sup>.
- (54) Sen CK. **Oxidants and antioxidants in exercise.** *J Appl Physiol* 1995; 79:675-686.
- (55) Khanna S, Mustafa A, Laksonen DE, Gul M, Sashwait R, Chandan KS;  **$\alpha$ -lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise.** *J. Appl Physiol* 1999; 86 (4):1191-1196.
- (56) Roederer M; Staal TFJ; Raju AP, Ela WS; Herzenberg AL and Hersenberg SL. **Cytokine-stimulated human immunodeficiency virus replication is inhibited by N-acetyl-L-cysteine.** *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:4884-4888.

- (57) Fukami G; Hashimoto K; Koike K; Okamura N; Shimizu E and Iyo M. **Effect of antioxidant N-acetyl-L-cysteine on behavioral changes and neurotoxicity in rats after administration of methamphetamine.** Brain Res 2004;1016:90-95.
- (58) Arrieta AM, Díaz CA, Ávila GE, Perrusquia GR y Piña GE. **Estado oxidativo hepático y comportamiento productivo en pollos de engorda, alimentados con dos fuentes de selenio niveles altos de vitamina E y C.** Vet Mex 2002; 31(2): 113-119.
- (59) Iqbal M; Cawthon D; Beers K; Wideman RFJr and Bottje GW. **Antioxidant Enzyme Activities and Mitochondrial fatty Acids in Pulmonary Hypertension Syndrme (PHS) in Broilers.** Poult Sci 2002; 81:252-260.
- (60) Cawthon D; McNew R; Beers KW and Bottje WG. **Evidence of mitochondrial dysfunction in broilers with pulmonary hypertension syndrome (Ascites): effect of t-butyl hydroperoxide on hepatic mitochondrial function, glutathione and related thiols.** Poult Sci 1999; 78(1):114-24.
- (61) Tang Z; Iqbal M; Cawthon D and Bottje G. **Heart and breast muscle mitochondrial dysfunction in pulmonary hypertension syndrome in broilers (*Gallus Domesticus*).** Comp Biochem Physiol A Mol Integr physiol 2002; 132:527-540.
- (62) Enkvetchakul B, Bottje W, Anthony N, Moore R, Huff W. **Compromised antioxidant status associated with ascites broiler.** Poult Sci 1993, 72:2272-2280.
- (63) Bottje GW, Enkvetchakul B, Moore WR, McNew R. **Effect of  $\alpha$ -tocopherol on antioxidants, lipid peroxidation and the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers.** Poult Sci 1995; 74:1356-1369.
- (64) Frei, B. **Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action.** Am J Med 1997 (3A): 5-13.
- (65) Mates JM. **Effect of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology.** Toxicol 2000; 153: 83-104.
- (66) Drogue W. **Cysteine and glutathione deficiency in AIDS patients: a rationale for the treatment with N-acetyl-cysteine.** Pharmacology 1993; 46:61-65.
- (67) Wu G, Fang Y, Yang S, Lupton JR, Turner ND. **Glutathione metabolism and its implications for health.** J Nutr 2004; 134:489-492.
- (68) Barja de Quiroga G. **Radicales libres y Antioxidantes.** Universidad Complutense de Madrid, 2006.
- (69) Rodríguez R, Ruiz B, Sánchez S. **Los carotenoides en la salud.** Boletín de Educación Bioquímica. UNAM 1998; 17:115-121.

- (70) Puthongsiripom U, Schideler SE, Sell JL, Beck MM. **Effects of vitamin E, and C supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress.** *Poult Sci* 2001; 80: 1190-1200.
- (71) Cherian G; Wolfe FW; Sim JS. **Dietary oils with added tocopherol: effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids and oxidative stability.** *Poult Sci* 1996; 75: 423-431.
- (72) Maxwell MH; Robertson GW. 2000. **Cardiovascular Disease in Poultry. Epidemiology-Current trend and correlates.** Pages 1-10 In *Pro XXI Worlds Poultry Congress.* WPSA. Montreal, Canada.
- (73) Meister A; Owen WG. **Origin and turnover of mitochondrial glutathione.** *Proc Natl Acad Sci* 1985; 2:4668-4672.
- (74) Enkvetchakul B, Bottje W. **Influence of Diethyl maleate and cysteine on tissue glutathione and growth in broiler chickens.** *Poult Sci* 1995; 74:864-873.
- (75) De Leve LD, Kaplowits N. **Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity.** *Pharmacol Ther* 1992; 52:287-305.
- (76) Tateishi N, Higash T, Naruse A, Nakashima K, Sshiozaki H, Sakomoto Y. **Rat liver glutathione: Possible role as a reservoir of cysteine.** *J Nutr* 1997, 107:51-60.
- (77) Kaplowitz N, Aw TY, Aokhtens M. **The regulation of hepatic glutathione.** *Annu Rev Pharmacol* 1985; 25: 715-744.
- (78) Guoyao Wu; Yung Zhong FY. **Glutathione metabolism and its implication for health. Recent advances in Nutritional Sciences,** *The Jour of Nutr* 2004; Mar :1343.
- (79) Martínez SM; Barrado DA, Zubillaga M. **Conceptos actuales del metabolismo del glutati6n. Utilizaci6n de los is6topos estables para la evaluaci6n de su homeostasis.** *Acta Bioqu6m Cl6n Latinoam* 2006; 40 (1): 5-54.
- (80) Luperchio S; Tamir S; Tannenabum S. **No induced oxidative stress and glutathione metabolism in rodent and human cells.** *Free Rad Biol and Med* 1996; 21(4): 513-519.
- (81) Shelly CL. **Regulation of hepatic glutathione synthesis: Current concepts and controversies.** *FASB J* 1999; 13:1169-1183.
- (82) Byoxytec inventors. **Colorimetric determination of reduce and oxidized glutathione.** *Oxis research US patent* 5,543,298. 2003,08.
- (83) Rusell J, Spickett CM, Relinski J, Smith E, Mc Murray J, Abullah IB. **Alteration of erythrocyte glutathione redox balance by N-acetyl-cysteine, captopril and exogenous glutathione.** *FEBS Letteres* 1994; 347:215-220.

- (84) Allegra L, Diano P, Maverio E, Rampini C. **Revisión de las propiedades antioxidantes de N-acetyl-cisteína y su relevancia clínica en el tratamiento de la bronquitis crónica.** *Experta Med* 1992;169-181.
- (85) Marín JM, Ramírez P, Piñero A, Chávez-Cartaya R, Parrilla P. **Investigación experimental aplicada a la clínica: isquemia-reperusión hepática.** *Cir Esp* 2000; 67:281-291.
- (86) Sturman JA, Gaull Go, Raiha CR. **Absence of cystathionasa in human fetal liver: is cysteine essential?.** *Science* 1970; 169:74-75.
- (87) Chung KT, Funk AM, Baker HD. **L-2-Oxothiazoladine-4 carboxilato as a cysteine precursor: Efficacy for growth and hepatic glutathione synthesis in chicks and rats.** *J Nut* 1990; 120:158-165.
- (88) Available from: González Montaner L J, González Montaner P J. **EBOC: Enfermedad Broncopulmonar crónica obstructiva.** <http://www.dic.org.ar/eboc/index.php>.
- (89) Goro F, Kenji H, kaori K, Naioe O, Eiji S, Masaomi I. **Effect of antioxidant N-acetyl-L-cysteine on behavioral changes and neurotoxicity in rats after administration of methamphetamine.** *Brain Res* 2004; 1016: 90-95.
- (90) Carvalho M; Remiao F; Milhazes N; Borges F, fernandes E; Carvalho F, Bastos ML. **Prevent toxicity of N-methyl-a-methyldopamine to freshly isolated rat hepatocytes is prevented by ascorbic acid and N-acetyl-cysteine.** *Toxicol* 2004; 200:193-203.
- (91) Dickey TD; Luldoon LL; Kraemer DF; Neuwelet EA. **Protection against cisplatin-induced ototoxicity by N-acetyl-cysteine in a rat model.** *Hearing research* 2004; 193:25-30.
- (92) Peña LS, Ferrando MD, Peña JB. **N-acetylcysetine extend fish survival to dichlorvos- induced oxidative stress through increasing hepatic glutathione content.** *CSIC*, 2002.
- (93) Valdivia AG; Daminán FJ; Quezada T; Ortiz R; Martínez C; Llamas J, Rodríguez ML; Yamamoto L; Jaramilo F; Loarca-Piña MG, Reyes JL. **Eficacy of N-acetyl-cysteine to reduce the effects of aflatoxin B1 intoxication in broilers chickens.** *Poul Sci* 2001; 80:727-734.
- (94) Ritter C. **Treatment with N-cetyl-cisteyne plus deferoxamine protects rats against oxidative stress and improves survival in sepsis.** *Crit Care Med* 2004; 32 (2): 342-349.
- (95) Hill AS; Werner JA; Rogers QR; Nell SLO; Christopher MM. **Lipoic acid is 10 times more toxic in cats than reports in humans, dogs or rats.** *J Anim Physiol a anim Nutr* 2004; 88:150-156.
- (96) Wolling DS; Jones JH.  **$\alpha$ -lipoic acid and cardiovascular disease.** *J Nutr* 2003; 133: 3327-3330.

- (97) Wada H; Shintani D; Ohlrogge J. **Why do mitochondria synthesize fatty acids?. Evidence for involvement in lipoic acid production.** Proc Natl Acad Sci 1997; 94: 1591-1596.
- (98) Thorne R. **Alpha-lipoic Acid. [Monograph].** Alt Med Rev 1998; 3(4):308-311. Available from: URL://[www.chiro.org/nutrition/Alpha\\_lipoic\\_acid.shtml](http://www.chiro.org/nutrition/Alpha_lipoic_acid.shtml)
- (99) Packer L; Witt EH; Tritschler HJ. **Alpha-lipoic acid as biological antioxidant.** Free Rad Biol Med 1995; (19) 227-260.
- (100) Beiwenga G; Haenen M; Bast A. **The pharmacology of the antioxidant lipoic acid.** Gen Pharmac 1997; 29: 315-331.
- (101) Kagan VE, Shuedora A, Serbinova E, Khans S, Swanson C, Powell R, Packer L. **Dihydrolipoic acid a universal antioxidant both in the aqueous phase. Reduction of peroxyl, ascorbyl and chromoxyl radicals.** Biochem Pharmacol 1992; 49:1637-1649.
- (102) 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:[www.avsunxur.aeiveos.com/confs/oxconf96/abs29.html](http://www.avsunxur.aeiveos.com/confs/oxconf96/abs29.html).
- (103) Packer L, Roy S, Sen CK. **A lipoic acid: A metabolic antioxidant and potential redox modulator of transcription.** In: Sies H editor. Advances in pharmacology vol 38. San Diego: Academic Press; 1997:70-101.
- (104) Challem J. **Alpha-lipoic acid: Quite possible the "universal" antioxidant.** The nutrition reporter 1996 July. (2 screens). Available from URL: <http://www.Nutritionreporter.com/Alpha-Lipoic.html>.
- (105) Xu LJ; Traber MG; Kobuchi H; Matsugo S; Tritschler HJ; Packer L.  **$\alpha$ -Lipoic acid dependent regeneration of ascorbic acid from dehydroascorbic acid in rat liver mitochondria.** J Bioenerg Biomembr 1996; 28: 77-85.
- (106) Podda M; Tritschler HJ; Ulrich H; Packer L. **Alpha lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency.** Biochem Biophys Res Commun 1994; 204: 98-104.
- (107) Bast A; Haenen GRM. **Interplay between lipoic acid and glutathione in the protection against microsomal lipid peroxidation.** Biochem Biophys Acta 1988; 963: 558-561.
- (108) Peinado JS; Akerboom T. **Hepatic lipoate uptake.** Arch Biochem Biophys 1989; 273: 389-395.
- (109) Maitra I; Serbinova E; Tritschler HJ; Packer L.  **$\alpha$  lipoic prevents burthione sulfoximine-induced cataract formation in new born rats.** Free Radical Biol. Med 1995; 18: 823-829.
- (110) Shih JC. **Atherosclerosis in Japanese quail and the effect of lipoic acid.** Fed Proc 1983; 42(8): 2494-2497.

- (111) Angelucci L; Mascitelli-Coriandoli E. **Anticholesterol activity of  $\alpha$ -lipoic acid.** Nature 1958; 181: 911-912.
- (112) Ivanov VN. **Effect of lipoic acid on tissue respiration in rabbits with experimental atherosclerosis.** Cor Vasa 1974; 16: 141-150.
- (113) Ford I; Cotter MA; Camern NE; Greaves M. **The effects of treatment with  $\alpha$ -lipoic acid or evening primrose oil on vascular haemostatic and lipid risk factors, blood flow, and peripheral nerve conduction in the streptozotocin-diabetic rat.** Metabolism 2001; 50: 868-875.
- (114) Segermann J; Hotze A; Ulrich H; Rao GS. **Effect of  $\alpha$ -lipoic acid on the peripheral conversion of thyroxine to triiodothyronin and on serum lipid-protein-and glucose levels.** Arzneim-Forsch 1991; 41: 1294-1298.
- (115) García E. **Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen.** 2da ed. México (DF): Instituto de geografía; Universidad Nacional Autónoma de México, 1973.
- (116) Cuca GM; Ávila GE; Pro MA. **Alimentación de las aves.** Universidad Autónoma de Chapingo, México, 8va edición; 1996.
- (117) Akerboom T.P.M and Sies, H. **Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples.** Meth Enzymol 1981; 77:373-382.
- (118) Racker E. **The mechanism of action of glyoxalase.** J Biol Chem 1951; 190:685-695.
- (119) Olivares SE. **MENU. Paquete de diseños experimentales** (computer program) versión 2.5. Monterrey (N.L.): Facultad de Agronomía UANL. 1994.
- (120) INSO corporation. **SPSS** version 10.0. Applications guide. Chicago (Ill): SPSS Inc.; 1999.
- (121) SYSTAT software (computer program) **Sigma plot** . Version 9.0. Inc. San José (California) : USA. 2004.
- (122) Boebel KP and DH Baker. **Blood and liver concentrations of sulfur-containing amino acids in chicks fed deficient, adequate or excess levels of dietary cysteine.** Proc Soc Exp Biol Med 1983; 172: 498-501. Cita de cita<sup>92</sup>.
- (123) Grinberg L, Fibach E, Amer J, Atlas D. **N-acetylcysteine amide, novel cell-permeating thiol, restores cellular glutathione and protects human red blood cells from oxidative stress.** Free Rad Biol Med 2005; 38: 136-145.
- (124) Cotgreave IA. **N-acetyl-cysteine: pharmacological considerations and experimental and clinical applications.** Adv Pharmacol 1997; 38: 205-227. Cita de cita<sup>123</sup>.

- (125) Beers WK, Glahn PR, Bottje GW. **Aflatoxin and glutathione in domestic fowl (*Gallus domesticus*) II. Effects on hepatic blood flow.** *Com Biochem Physiol* 1992; 101C: 463-467. Cita de cita <sup>73</sup>.
- (126) Nejad HH and Bottje GW. **Glutathione oxidation occurs during homogenization in perchloric acid of rabbit but not rat or chicken liver.** *Med Sci Res.* 19:369-370. Cita de cita <sup>73</sup>.
- (127) Enkvetchakul B. **Antioxidants, Lipid Peroxides, and Pathophysiology of Male Broiler Chickens with Ascites.** (Ph.D. thesis). Arkansas (Fayetteville) Ar: University of Arkansas.1994. Cita de cita <sup>73</sup>.

**Cuadro 8. Composición porcentual y aportes nutricionales de las dietas experimentales empleadas para pollo de engorda (kg) en las etapas de iniciación y finalización**

INGREDIENTES	INICIACIÓN	FINALIZACIÓN
SORGO	522.28	559.8
PASTA DE SOYA	382.75	341.02
ACEITE DE VEGETAL	50.56	59.52
CaCO <sub>3</sub>	13.67	13.086
ORTOFOSFATO	18.73	11.62
SAL	4.19	3.7
DL METIONINA	2.85	2.12
MINERALES *	1	1
VITAMINAS *	1	1
CLORURO DE COLINA 60%	1	0.8
L-LISINA HCl	0.983	0.002
COCCIDIOSTATO	0.5	0.5
BACITRACINA	0.3	0.5
ANTIOXIDANTE	0.15	0.1
AVELUT POLVO 15	0	5.4

\* Vitaminas y minerales por kg: Vitamina A (4,000 MUI), Vitamina D3 (1,1000 MUI), Vitamina E (4,000 MUI), Vitamina K (0.9g), Vitamina B1 (0.5g), Vitamina B2 (2.0 gr), Vitamina B6 (0.5g), Vitamina B12 (4.0mg), Ácido Fólico (0.2g), Biotina (20.0 mg), Ácido pantoténico (6.0 g), Niacina (0.9g), Hierro (110g), Zinc (50g), Manganeso (110g), Cobre (12g), Yodo (0.30g), Selenio (100mg), Cobalto (0.20g), Antioxidante (10.0g).

**Cuadro 9. Análisis de nutrientes calculado de las dietas experimentales para las etapas de iniciación y finalización**

NUTRIENTE	INICIACIÓN	FINALIZACIÓN
EM Kcal/Kg	3100	3200
Proteína Cruda %	22	20
Calcio Total %	1	1
Fos.disponible %	0.5	0.35
Lisina %	1.2	1
Metionina+Cistina %	0.9	0.8
Metionina	0.565	0.496
Treonina %	0.849	0.745
Triptofano %	0.3	0.1267
Sodio (%)	0.182	0.162
Cloro (%)	0.343	0.293
Arginina (¿)	1.436	---
Colina mg/kg	1924	----

**Cuadro10. Resumen de Parámetros Productivos en pollos alimentados con ácido lipoico y N-acetil-cisteína**  
*Etapas de Iniciación, Finalización y Ciclo Completo*

Ganancia de peso	INICIACIÓN		FINALIZACIÓN		CICLO COMPLETO	
	(0-21 días)		(22-49 días)		(0-49 días)	
Tratamiento 1	671.2 <sup>a</sup> ±	13.81	2318.2±	36.45	2989.6 <sup>a</sup> ±	41.51
Tratamiento 2	678.0 <sup>a</sup> ±	11.28	2421.4 <sup>a</sup> ±	35.83	3099.4 <sup>a</sup> ±	43.89
Tratamiento 3	670.0 <sup>a</sup> ±	2.7	2307 <sup>a</sup> ±	56.85	2977 <sup>a</sup> ±	56.15
Tratamiento 4	682.6 <sup>a</sup> ±	16.92	2343 <sup>a</sup> ±	47.33	3025.2 <sup>a</sup> ±	41.34
Tratamiento 5	686.6 <sup>a</sup> ±	10.07	2297.4 <sup>a</sup> ±	44	2984.2 <sup>a</sup> ±	51.95
Tratamiento 6	687.8 <sup>a</sup> ±	9.31	2329 <sup>a</sup> ±	25.3	3017 <sup>a</sup> ±	34.07
<b>Consumo de alimento</b>						
Tratamiento 1	939.8 <sup>a</sup> ±	10.23	4697 <sup>a</sup> ±	57.93	5636.6 <sup>a</sup> ±	62.88
Tratamiento 2	956 <sup>a</sup> ±	18.44	4766 <sup>a</sup> ±	51.27	5722.2 <sup>a</sup> ±	53.02
Tratamiento 3	938.8 <sup>a</sup> ±	10.22	4562.4 <sup>a</sup> ±	85.01	5501.2 <sup>a</sup> ±	82.44
Tratamiento 4	940.4 <sup>a</sup> ±	15.14	4699.2 <sup>a</sup> ±	77.18	5639.6 <sup>a</sup> ±	82.37
Tratamiento 5	958.6 <sup>a</sup> ±	16.89	4618.4 <sup>a</sup> ±	79.3	5576.8 <sup>a</sup> ±	95.3
Tratamiento 6	955 <sup>a</sup> ±	16.23	4655.6 <sup>a</sup> ±	35.38	5610.4 <sup>a</sup> ±	30.18
<b>Conversión alimenticia</b>						
Tratamiento 1	1.4 <sup>a</sup> ±	0.08	2.03 <sup>a</sup> ±	0.04	1.88 <sup>a</sup> ±	0.03
Tratamiento 2	1.41 <sup>a</sup> ±	0.08	1.968 <sup>a</sup> ±	0.02	1.84 <sup>a</sup> ±	0.02
Tratamiento 3	1.4 <sup>a</sup> ±	0.067	1.98 <sup>a</sup> ±	0.02	1.84 <sup>a</sup> ±	0.018
Tratamiento 4	1.37 <sup>a</sup> ±	0.04	2 <sup>a</sup> ±	0.034	1.86 <sup>a</sup> ±	0.02
Tratamiento 5	1.39 <sup>a</sup> ±	0.03	2.01 <sup>a</sup> ±	0.019	1.87 <sup>a</sup> ±	0.01
Tratamiento 6	1.39 <sup>a</sup> ±	0.06	2 <sup>a</sup> ±	0.027	1.86 <sup>a</sup> ±	0.02
<b>Mortalidad general</b>						
Tratamiento 1	1.6 <sup>a</sup> ±	2.17	3.8 <sup>a</sup> ±	3.18	5.41 <sup>a</sup> ±	4.8
Tratamiento 2	0.555 <sup>a</sup> ±	1.11	6.7 <sup>a</sup> ±	5.97	7.26 <sup>a</sup> ±	5.4
Tratamiento 3	0.555 <sup>a</sup> ±	1.11	2.52 <sup>a</sup> ±	2.34	3.075 <sup>a</sup> ±	2.8
Tratamiento 4	2.22 <sup>a</sup> ±	2.08	3.23 <sup>a</sup> ±	2.89	5.448 <sup>a</sup> ±	4.1
Tratamiento 5	0.555 <sup>a</sup> ±	1.11	3.088 <sup>a</sup> ±	3.22	3.64 <sup>a</sup> ±	3.6
Tratamiento 6	1.08 <sup>a</sup> ±	2.16	5.02 <sup>a</sup> ±	4.23	6.1 <sup>a</sup> ±	4.4
<b>Mortalidad por SA</b>						
Tratamiento 1	0 <sup>a</sup>	0	3.8 <sup>b</sup> ±	3.18	3.77 <sup>b</sup> ±	3
Tratamiento 2	0 <sup>a</sup>	0	3.6 <sup>ab</sup> ±	4.32	3.58 <sup>ab</sup> ±	4.3
Tratamiento 3	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0	0 <sup>a</sup>	0
Tratamiento 4	0.556 <sup>a</sup> ±	0.97	1.25 <sup>a</sup> ±	2.5	1.806 <sup>ab</sup> ±	2.5
Tratamiento 5	0 <sup>a</sup>	0	1.857 <sup>ab</sup> ±	2.44	1.86 <sup>ab</sup> ±	2.4
Tratamiento 6	0 <sup>a</sup>	0	2.52 <sup>ab</sup> ±	1.26	2.52 <sup>ab</sup> ±	4.2



**Cuadro 11. Resumen de los niveles de glutatión reducido (GSH) en dietas enriquecidas con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Comparación entre tratamientos para cada semana**

	Semana 1 ± EE		Semana 2 ± EE		Semana 3 ± EE		Semana 4 ± EE		Semana 5 ± EE		Semana 6 ± EE		Semana 7 ± EE	
Tratamiento 1	3.33 <sup>a</sup>	0.2	2.79 <sup>a</sup>	0.22	2.88 <sup>a</sup>	0.22	2.39 <sup>a</sup>	0.26	2.92 <sup>a</sup>	0.26	2.60 <sup>a</sup>	0.27	2.99 <sup>ab</sup>	0.34
Tratamiento 2	3.39 <sup>a</sup>	0.33	3.24 <sup>ab</sup>	0.28	3.13 <sup>a</sup>	0.007	3.59 <sup>a</sup>	0.46	2.96 <sup>a</sup>	0.36	3.10 <sup>a</sup>	0.36	2.86 <sup>ab</sup>	0.19
Tratamiento 3	2.99 <sup>ab</sup>	0.18	3.58 <sup>ab</sup>	0.2	2.99 <sup>a</sup>	0.15	2.95 <sup>a</sup>	0.3	3.23 <sup>a</sup>	0.25	3.54 <sup>a</sup>	0.59	2.28 <sup>a</sup>	0.15
Tratamiento 4	2.47 <sup>ab</sup>	0.32	3.15 <sup>ab</sup>	0.009	3.49 <sup>a</sup>	0.14	2.85 <sup>a</sup>	0.15	3.49 <sup>a</sup>	0.23	3.22 <sup>a</sup>	0.57	3.33 <sup>ab</sup>	0.009
Tratamiento 5	1.9 <sup>b</sup>	0.25	3.83 <sup>b</sup>	0.13	3.06 <sup>a</sup>	0.14	3.03 <sup>a</sup>	0.48	4.56 <sup>a</sup>	1.1	3.49 <sup>a</sup>	0.29	3.71 <sup>b</sup>	0.33
Tratamiento 6	2.69 <sup>ab</sup>	0.26	3.77 <sup>b</sup>	0.19	2.81 <sup>a</sup>	0.27	2.45 <sup>a</sup>	0.19	3.35 <sup>a</sup>	0.39	3.47 <sup>a</sup>	0.5	3.79 <sup>b</sup>	0.54

**Cuadro 12. Resumen de los niveles de glutatión reducido (GSH) en dietas enriquecidas con ácido lipoico y N-acetil-cisteína. Comparación entre semanas para cada tratamiento**

Semana/Txs	Tx.1± EE		Tx.2± EE		Tx.3± EE		Tx.4± EE		Tx.5± EE		Tx.6± EE	
Semana 1	3.33 <sup>a</sup>	0.2	3.39 <sup>a</sup>	0.33	2.99 <sup>a</sup>	0.18	2.47 <sup>a</sup>	0.32	1.9 <sup>a</sup>	0.25	2.69 <sup>a</sup>	0.26
Semana 2	2.79 <sup>a</sup>	0.22	3.24 <sup>a</sup>	0.28	3.58 <sup>a</sup>	0.2	3.15 <sup>a</sup>	0.009	3.83 <sup>ab</sup>	0.13	3.77 <sup>a</sup>	0.19
Semana 3	2.88 <sup>a</sup>	0.22	3.13 <sup>a</sup>	0.01	2.99 <sup>a</sup>	0.15	3.49 <sup>a</sup>	0.14	3.06 <sup>ab</sup>	0.14	2.81 <sup>a</sup>	0.27
Semana 4	2.39 <sup>a</sup>	0.26	3.59 <sup>a</sup>	0.46	2.95 <sup>a</sup>	0.3	2.85 <sup>a</sup>	0.15	3.03 <sup>ab</sup>	0.48	2.45 <sup>a</sup>	0.19
Semana 5	2.92 <sup>a</sup>	0.26	2.96 <sup>a</sup>	0.36	3.23 <sup>a</sup>	0.25	3.49 <sup>a</sup>	0.23	4.56 <sup>b</sup>	1.1	3.35 <sup>a</sup>	0.39
Semana 6	2.60 <sup>a</sup>	0.27	3.10 <sup>a</sup>	0.36	3.54 <sup>a</sup>	0.59	3.22 <sup>a</sup>	0.57	3.49 <sup>ab</sup>	0.29	3.47 <sup>a</sup>	0.5
Semana 7	2.99 <sup>a</sup>	0.34	2.86 <sup>a</sup>	0.19	2.28 <sup>a</sup>	0.15	3.33 <sup>a</sup>	0.009	3.71 <sup>ab</sup>	0.33	3.79 <sup>a</sup>	0.54