



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Medicina Veterinaria y Zootecnia

T E S I S

**Evaluación de marcadores de estrés oxidante e
histológicos con diferentes tratamientos de pico en
pavos (*Meleagris gallopavo*)**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

HERNÁNDEZ SÁNCHEZ ROBERTO CARLOS

ASESORA: Dra. ELEIN HERNÁNDEZ TRUJILLO

COASESOR: Dr. GERMÁN ISAURO GARRIDO FARIÑA

COASESORA: Dra. LAURA DENISE LÓPEZ BARRERA

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



UNAM

CUAUTITLÁN

DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

DE TITULACIÓN

**DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Evaluación de marcadores de estrés oxidante e histológicos con diferentes tratamientos de pico en pavos (Meleagris gallopavo)

Que presenta el pasante: **Roberto Carlos Hernández Sánchez.**

Con número de cuenta: 313266717 para obtener el Título de: **Médico Veterinario Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 07 de diciembre de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Miguel Ángel Cornejo Cortés	
VOCAL	Dr. Juan Omar Hernández Ramírez	
SECRETARIO	Dra. Elein Hernández Trujillo	
1er. SUPLENTE	M.V.Z. Francisco Javier Cervantes Aguilar	
2do. SUPLENTE	M. en C. Nora Rosalía Flores Hutrón	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

MCVB/ntm*

Agradecimientos.

Agradezco a la doctora Elein Hernández Trujillo por la oportunidad de participar en el proyecto del cual se obtuvo la presente tesis, al doctor Germán Isauro Garrido Fariña por todo el apoyo en la realización de las laminillas histológicas y las fotografías, a la doctora Laura Denise Lopez Barrera y al laboratorio 9 de toxicología y genética de la UIM ya que sin ellos no se habría podido llevar a cabo las evaluaciones de estrés oxidante. Agradezco a todos y cada uno por darme su tiempo para las revisiones y demás evaluaciones realizadas en los últimos meses y por su confianza.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán pero sobre todo a los profesores con los que tuve la oportunidad de llevar clases a lo largo de los últimos años, ya que cada uno de ellos me dejó conocimientos que me han ayudado en diferentes ámbitos tanto académicos como profesionales, y, en algunos casos personales inclusive. De igual forma agradezco al comité por la revisión del proyecto CICUAE-FESC C21_08, ya que sin su aprobación no hubiera sido posible la realización de esta investigación, al proyecto PAPIIT con nombre “Estudio de la respuesta antioxidante inducida por nanopartículas de quitosán con glutatión en la osteoartritis, estudio in vitro e in vivo” con clave IN214321 y al proyecto PAPIIT con nombre “Evaluación del uso de enriquecimiento ambiental y microbiota intestinal y su efecto en diferentes densidades animales en pavos de engorda” con clave IA207421.

Pero sobre todo agradezco a los pavos con los cuales llevé a cabo el proyecto, ya que ellos dieron su vida para que se pudieran completar no solo mi trabajo, sino el de mis amigos y compañeros del módulo de aves durante la engorda del año 2021.

Dedicatoria.

Le dedico este trabajo a mi familia, ya que ellos me han ayudado a lo largo de toda mi vida, claro con sus cosas buenas y cosas malas pero siempre han estado allí, sobre todo a mi mamá y a mi padre, porque siempre han visto por el bienestar de todos y han querido ver a todos mis hermanos y mi superarse y de poco en poco lo han logrado. Muchas gracias por todo. También a una persona muy especial para mi, que hoy en día ya no está a mi lado por mi toma de decisiones, gracias por haber estado conmigo cuando nadie creía en mí ni yo mismo, por los años que pasamos juntos, muchas gracias por todo Emily, espero estes de lo mejor tanto tu como tu familia y que a pesar de cómo se dieron las cosas te quiero y tienes un espacio muy especial en mi mente y corazón.

A mis amigos de la carrera, Carlos, Elena, Dhamar, Ari, Bryan, Less, Anita, Edgar, Montse, Val y en menor medida a Frida, y a otros tantos más ya que siempre estuvieron allí de una forma u otra dándome ánimos cuando no veía o no creía que podía lograr algo. A mi mejor amigo y casi hermano Maxi ya que por años me ha ayudado y acompañado en todo y a su familia que siempre han sido sumamente amables conmigo. A mis amigos y compañeros del proyecto, Emiliano, Mari, Jeny, Marlene, Juan, Nancy y Eby, por todos los buenos momentos y recuerdos agradables que tengo de cada uno de ellos durante el proyecto.

ÍNDICE.

1.0 Índice de figuras	1
1.0.1 Índice de tablas	2
1.0.2 Índice de gráficas	3
1.0.3 Glosario de abreviaturas	4
1.1 Resumen	7
1.2 Introducción	8
1.2.1 Anatomía del pico	10
1.2.2 Histología del pico	11
1.2.3 Tratamiento de pico	14
1.2.4 Estrés oxidante	17
1.2.5 Radicales libres	18
1.2.6 Antioxidantes	19
1.2.7 Biomarcadores de estrés oxidante	20
1.2.8 Vitamina C	22
1.2.9 Ácido acetoxibenzoico	24
1.2.10 Ciclooxygenasa y estrés oxidante	24
1.2.11 Importancia de la histopatología para el diagnóstico veterinario	24
1.2.12 Tinción H.E	25
1.2.13 Fisiología de la recuperación de una herida	25
3.0 Hipótesis	30
4.0 Objetivos	30
4.1 Objetivo general	30
4.2 Objetivos particulares	30
5.0 Metodología	31

6.0 Análisis estadístico	42
7.0 Resultados	44
8.0 Discusión	61
9.0 Conclusiones	66
10.0 Referencias	67

1.0 Índice de figuras

Figura 1: Huesos que conforman la valva superior. A) vista lateral, B) Vista ventral. Adaptado de Horts 2016	10
Figura 2: Estructuras superficiales que conforman el pico	11
Figura 3: Histología del pico	12
Figura 4: Localización de receptores en pico Adaptado de Soliman y Madkour 2017	13
Figura 5: Metabolismo del ácido ascórbico	22
Figura 6: Acomodo de los corrales y su tratamiento:A) Tratamiento mecánico con suplemento, B) Tratamiento cuchilla caliente con suplemento, C) Tratamiento mecánico, D) Tratamiento cuchilla caliente.	32
Figura 7: Tijeras para jardinería utilizadas para el tratamiento de pico mecánico, A) tijeras cerradas, B) tijeras abiertas	32
Figura 8: Proceso del tratamiento de pico mecánico. A) Corte transversal del pico. B) Pico inmediatamente después de tratamiento y con sangrado	33
Figura 9: Pavo post tratamiento mecánico de pico	33
Figura 10: Depicadora Lyon super utilizada para el tratamiento con cuchilla caliente A) vista lateral, B) perilla de para el control de temperatura, C) cuchilla al rojo vivo	34
Figura 11: Proceso del tratamiento de pico con cuchilla caliente. A) Apertura del pico y protección de la lengua, B) Posicionamiento de la valva superior sobre la barra de soporte, C) Corte de pico con cuchilla caliente, D) Cauterización del corte con parte caliente de la cuchilla	35
Figura 12: Pavo post tratamiento de pico con cuchilla caliente	36
Figura 13: Esquematación de medición de longitud de pico en pavos a la semana 14 de vida. A) Tratamiento mecánico, B) Tratamiento con cuchilla caliente	37

1.0.1 Índice de tablas

Tabla 1. Especies reactivas de oxígeno (ROS). Adaptado de Mayor 2010 y Carbajal 2019	18
Tabla 2. Biomarcadores de estrés oxidante y pruebas de detección. Adaptada de: Rossi M. et al. 2016	20
Tabla 3. Edad de pavos en semanas y número de muestras recolectadas para realizar laminillas.	43
Tabla 4. Promedio en cm de la longitud de la valva superior e inferior de pavos a las 10 semanas de engorda	44
Tabla 5. Descripciones microscópicas e imágenes de tratamientos de pico a las 5, 7, y 14 semanas	46
Tabla 6. Promedio de relación μmol de GSH/mg de proteína en plasma en muestras Basal, Día 0, Día 1, Día 7, Día 68 de pavos bajo tratamientos de pico caliente y mecánico	55
Tabla 7: Promedio de la relación nmol de MDA/mg de proteína en plasma en muestra Basal, Día 0, Día 1, Día 7, Día 68 de pavos bajo tratamientos de pico caliente y mecánico	57

1.0.2 Índice de gráficas

Gráfica 1. Longitud de valva superior de los pavos a las 14 semanas de vida	45
Gráfica 2. Longitud de valva inferior de los pavos a la semana 14 de vida	45
Gráfica 3: Concentración de μmol GSH/mg de proteína de los grupos A y C	58
Gráfica 4: Concentración de μmol de GSH/mg de proteína de los grupos B y D	58
Gráfica 5: Concentración de μmol de GSH/mg proteína por tratamiento a lo largo del tiempo	59
Gráfica 6: Concentración de nmol MDA/mg de proteína de los grupos A y C	59
Gráfica 7: Concentración de nmol MDA/mg de proteína de los grupos B y D	60
Gráfica 8: Concentración de nmol de MDA/mg proteína por tratamiento a lo largo del tiempo	60

1.0.3 Glosario de abreviaturas

Adenosin trifosfato	ATP
Radicales libres	RL
Especies reactivas de oxígeno	ERO
Anión superóxido	O ²⁻
Peróxido de hidrógeno	H ₂ O ₂
Hidroxilo	OH
Radical alcoxilo	RO ⁺
Radical peroxilo	ROO ⁺
Oxígeno singulete	1O ₂
Ácido hipocloroso	HOCL
Ozono	O ₃
Peróxido orgánico	ROOH
Ácido hipobromoso	HOBr
Factor de crecimiento epidérmico	EGF
Factor de crecimiento del endotelio vascular	VEGF
Factor de crecimiento derivado de plaquetas	PDGF
Factor de crecimiento neuronal	NGF
Factor transformador de crecimiento β	TGF-β
Superoxidasa dismutasa	SOD
Catalasa glutatión peroxidasa	GPx
Glutatión reductasa	GRx
Glutatión	GSH
Malondialdehido	MDA

Glutación oxidado	GSSG
Electron Spin Resonance	ESR
Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico	TBARs
4-Hidroxinonenal	HNE
Hidroperoxidación Lípidica-Hexanoil-Lys aducto	HEL
8-Hidroxi-2deoxiguanosina	8-OHdG
Ácido ascórbico	AA
Total Antioxidant Status	TAS
Trolox Equivalent Antioxidant Capacity	TEAC
Ferric Reducing Antioxidant Power	FRAP
Asymmetric Dimethylarginine	ADMA
Anión ascorbilo	AA ⁻
Radical ascorbilo	AA ^{*-}
Anión dehidroascorbato	DHA-
ácido dehidroascórbico	ADA
transportadores de sodio dependientes de vitamina C	SVCTs
transportadores de glucosa	GLUT
lipoproteína de baja densidad	LDL
proteína quinasa activada por mitógenos	p ³⁵ MAP-kinasa
Antiinflamatorios no esteroideos	AINES

Hematoxilina	H
Eosina	E
Complejo glicoproteico de membrana IX	GPiB/IX
Factor de Von Willebrand	FvW
Receptores activados por proteasas	PAR
Activador tisular	tAP
Activador del plasminogeno, la uroquinasa	u-PA
Factor activador de plasminogeno	IAP
Factor de crecimiento de fibroblastos	FGF
Matriz extracelular	MEC
Factor de crecimiento de queratinocitos	KGF

1.1 Resumen

En México la meleagricultura es la tercera actividad avícola comercial de importancia después de la producción de pollo de engorda y gallina ponedora; ya que en el año 2019 se alcanzó una producción a nivel nacional de 11,815 toneladas. (Santos y Segura, 2020). La línea de pavos más común utilizada en México es Nicholas 700, considerada un ave pesada especializada en carne (Concepción, 2021), teniendo como característica principal color blanco, aunque se pueden encontrar en tonos bronceados y negros con doble pechuga (Valarezo *et al*, 2016).

El tratamiento de pico, conocido comúnmente como despique, es el corte de un cuarto del pico, pudiendo ser aplicado en la valva superior e inferior o solo superior (Sarasara, 2019). Los tratamientos de pico utilizados comúnmente en producciones pequeñas y medianas son el tratamiento mecánico; el cual se realiza con tijeras afiladas, y tratamiento con cuchilla mecánica caliente; en el cual se utiliza una despicadora que calienta una navaja mecanizada y se corta el pico al bajar está (AVMA, 2017).

El presente proyecto utilizaron 80 pavos línea Nicholas 700 a los cuales se les dividió en grupos de 20 animales y se les aplicaron los siguientes tratamientos: A) suplemento y cuchilla mecánica, B) suplemento y cuchilla caliente, C) cuchilla mecánica y D) cuchilla caliente. El suplemento con ácido ascórbico (vitamina c) y ácido acetoxibenzoico, fue suministrado en el agua siguiendo indicaciones del fabricante durante 4 días previos al tratamiento de pico retirándose 18 horas antes del tratamiento, se tomaron muestras de sangre basales, el día del tratamiento (0) y 1, 7 y 68 días post tratamiento, además de muestras de picos para análisis histopatológico y la medición de longitud de las valvas de los pavos a las 14 semanas de vida. De igual manera, se evaluaron los daños a nivel tisular mediante mediciones de biomarcadores de estrés oxidante (GSH y MDA).

En general, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos mecánico y con cuchilla caliente, a nivel histológico entre 5, 7 y 14 semanas de vida, encontramos diferencias entre el proceso de cicatrización según el tratamiento y entre la longitud final de la valva superior a las 14 semanas; además de encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de marcadores de estrés oxidante entre tratamientos de pico y con y sin suplemento vitamínico y a lo largo del día previo (basal), día del tratamiento (día cero), 1, 7 y 68 días después del tratamiento.

1.2 Introducción

El pavo doméstico (*Meleagris gallopavo*) tiene sus orígenes en Norteamérica, en lo que hoy es México, EUA y Canadá; donde era considerado un alimento para los pueblos americanos originarios. El pavo domesticado fue introducido en España en 1498, procedente de México, en donde se les llamó “gallos de las indias” (Concepción, 2021).

Hoy en día hay una tendencia en la producción de pavos con gran peso; sin embargo, esto está acompañado de problemas de patas y acumulación de grasa (Concepción, 2021). Además, para la producción industrial de pavos requiere de cruzamientos o “híbridos comerciales” especializados en la producción de carne, con tasas de crecimiento aceleradas, precocidad, ancho y profundidad del tronco (Concepción, 2021). Estas líneas especializadas son el producto de cruces de dos o más líneas con el objetivo de alcanzar características productivas superiores al promedio de las líneas originales (Concepción, 2021). Estas líneas tienden a tener plumaje de color blanco y se les denomina “pavos de doble pechuga” y son clasificados como pesados, medianos y ligeros (Concepción, 2021).

En México, la meleagricultura (actividad zootécnica relacionada con la crianza de pavos) es la tercera actividad avícola comercial de importancia después de la producción de pollo de engorda y gallinas ponedoras. En el año 2019, se produjeron a nivel nacional 11,815 toneladas de pavo, lo que representó un aumento del 10% con respecto al año anterior. Sin embargo, esta producción solo alcanza para el 10% del consumo nacional, siendo completada con importaciones de Estados Unidos (Santos y Segura, 2020).

En el año 2020, la producción nacional de pavo llegó a 17,083 mil toneladas, siendo los principales estados productores Yucatán (28.8%), Puebla (15.6%), Estado de México (12.6%) y Veracruz (7.9%) (COMECARNE, 2021).

En México el consumo per cápita de pavo y derivados es de 0.8 Kg, mientras que si se incluyen exportaciones se llega a 1.43 kg anual (CEDRSSA, 2019), teniendo como excepción el estado de Yucatán, donde el consumo alcanza 5 kg per cápita (Santos y Segura, 2020).

A nivel mundial Avigen Turkeys se encarga de la distribución de la línea genética Nicholas, considerada como una línea pesada especializada en la producción de carne (Concepción, 2021). Esta es la línea más común utilizada en México, ocupando un 42.2% de la población nacional en sistemas intensivos. Tiene plumaje color blanco, pero se encuentra en variante bronceada y negra de doble pechuga (Valarezo *et al*, 2016).

Características del pavo

El pavo presenta cabeza con piel desnuda de color rojo pálido con variaciones azules recubierta con verrugas y canículas de diversos tamaños de color rojo de intensidad variable, sobre la frente presentan un apéndice o moco que varía de longitud según el estado de exitación del pavo y que tiene mayor desarrollo en machos. En la parte superior del pecho presentan un penacho o plumón de hasta 15 cm de largo en el macho, mientras que el plumaje va de tonos negros a marrones en aves de traspatio a colores más claros o blancos en líneas comerciales (Cantaro, 2010).

En estado silvestre los pavos presentan conductas gregarias y forman grupos con jerarquías bien establecidas, donde los machos forman grupos en torno a machos dominantes, los cuales son más agresivos con machos que no pertenecen a la parvada. Además, la agresividad es variable según el tamaño del grupo, ya que en grupos pequeños donde es más fácil el reconocimiento de congéneres se presentan con más frecuencia comportamientos agresivos que en grupos de mayor tamaño. Se puede distinguir a los machos dominantes ya que estos presentan mayor tamaño en el apéndice y mayor grosor y color en la zona de la cabeza y cuello, que sirve como atrayente sexual (González, 2020).

Por el contrario, en pavos de sistemas de producción la falta de estímulos maternos o “imprinting” produce aturdimiento o retraso en los comportamientos, debido a la falta de referencia o imitación, siendo animales que presentan una adaptación más lenta a estímulos y al medio en general, además presentan mayor sensibilidad a sonidos y luz. Debido a esto, necesitan de fuentes de luz cercanas a los comederos y lugares cercados con fuentes de calor, en algunos casos presentan retraso o inhibición en el consumo de alimentos, por tanto tanto se requiere del uso de comederos de colores llamativos o que reflejen luz para llamar su atención (Cantaro, 2010).

No obstante, los pavos en sistemas de producción generan jerarquías y se relacionan de forma similar a los pavos en estado silvestre, todo esto condicionado por las condiciones de alojamiento del galpón, densidad animal, número de comederos, horas luz, ruidos externos, personal, entre otras. Tomando esto en cuenta encontramos una alta incidencia de aves heridas y/o muertes por agresión, ya que no presentan con espacio para evitar a los agresores dominantes, además, la falta de estímulos provoca conductas de socialización como el picoteo amistoso y el picoteo agresivo no se puedan diferenciar, llevando al picoteo de plumas y piel, generando lesiones leves a canibalismo entre miembros de la parvada, estos comportamientos agresivos también están relacionados con estresores externos propios de las instalaciones como son temperatura, humedad, restricción de

alimento, densidad animal, déficit de nutrientes en la dieta, restricción de agua y alimento entre otros (González, 2020).

1.2.1 Anatomía del pico

El cráneo de las aves se presenta una fusión de los huesos de la cara para dar lugar a la formación del pico, donde el pico superior es formado por los huesos premaxilar, maxilar y nasal, mientras que la valva inferior se encuentra formada por cinco huesecillos fusionados para formar la mandíbula. Además, presentan un solo cóndilo occipital y el hueso cuadrado, que conecta la mandíbula con el cráneo (Ramírez *et. al.*, 2019).

El pico toma el lugar y función de los dientes, permitiendo una unión fuerte entre las valvas. En el caso de la valva superior, al estar unida con el cráneo no tiene un amplio rango de movimiento, mientras que la valva inferior presenta movilidad libre en relación con el cráneo. Debido a sus movimientos opuestos, las valvas son capaces de producir un agarre similar al de pinzas y su forma se debe a la adaptación de los hábitos de alimentación de las mismas (Horst, 2016).

En las aves de corral, el pico es parecido a una pirámide con la base dirigida a los ojos, mientras que los huesos faciales forman placas finas y delicadas, las cuales forman la base ósea para la mandíbula rostral y rodean la cavidad nasal. Rostralmente se encuentra la mandíbula rostral formada por los huesos premaxilares y maxilares, están inervados por el nervio óptico. El hueso maxilar se une con el premaxilar antes de llegar a la porción terminal de la valva superior y en la porción ventral cuenta con hueso palatino, que forma el paladar duro (Horst, 2016).

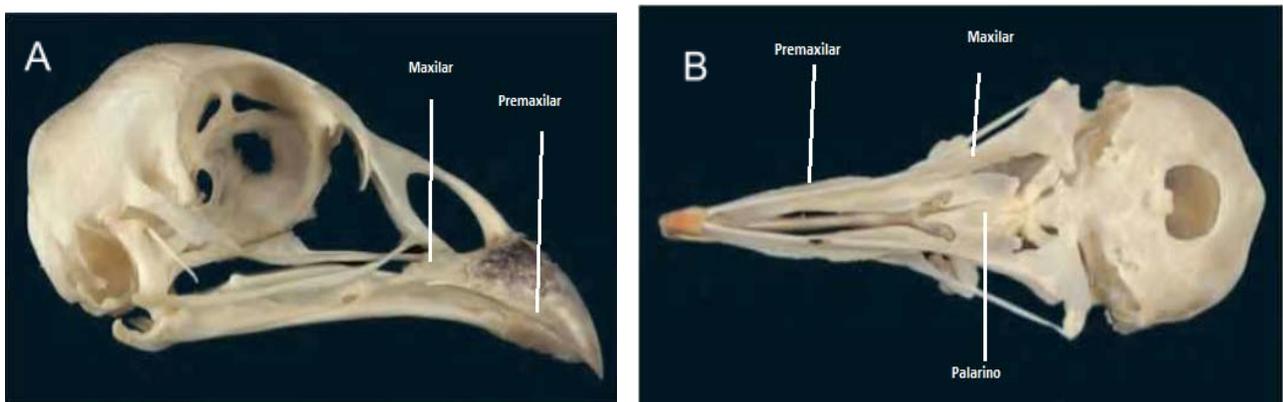


Figura 1: Huesos que conforman la valva superior. A) vista lateral, B) Vista ventral.
Adaptado de Horts 2016

Los componentes externos del pico son: la ranfoteca, una porción endurecida de queratina que recubre la parte superficial de las mandíbulas rostrales que terminan

en el tomium. El rictus es la porción carnosa que se encuentra en la porción caudal del pico. La tercera región del rostro del ave es la cavidad nasal, que sirve para tomar como referencia al momento de realizar el corte de pico, pero esta última no forma parte del pico (Kuenzel, 2007).

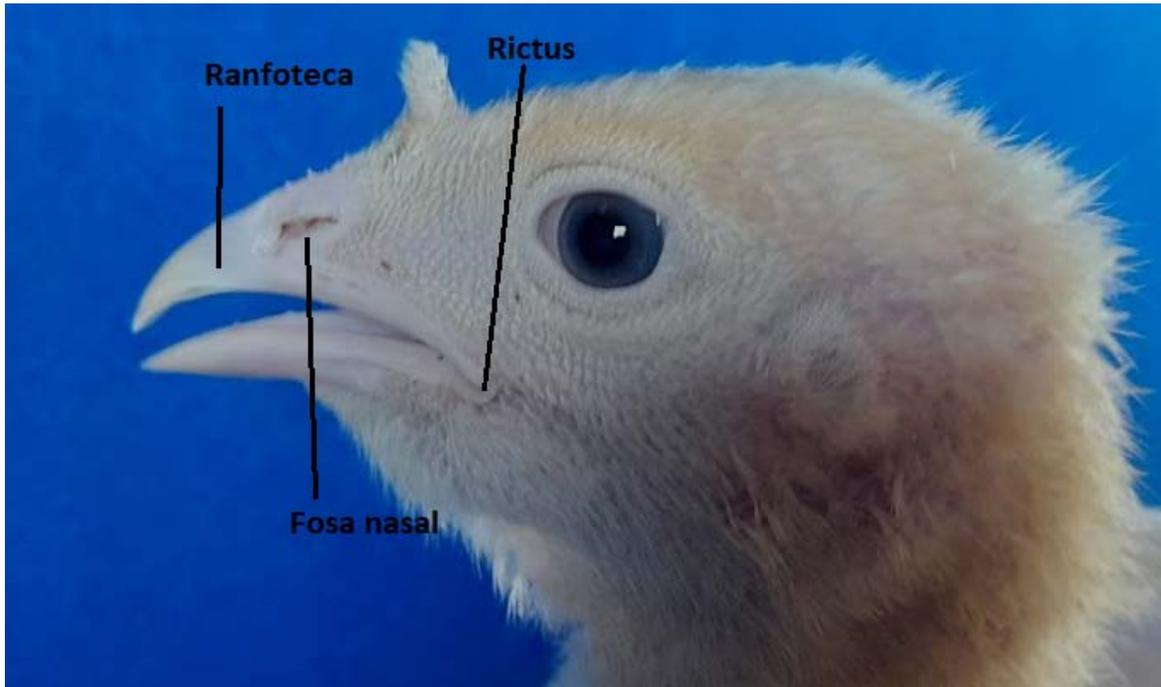


Figura 2: Estructuras superficiales que conforman el pico

1.2.2 Histología del pico

Histológicamente el pico posee elementos similares a la piel, un epitelio plano estratificado queratinizado. El pico de las aves está conformado por: epidermis, dermis, tejido conectivo y en el estrato más profundo encontramos hueso. La epidermis está constituida por un epitelio plano estratificado queratinizado que cuenta con diferentes poblaciones celulares, dentro de las más importantes tenemos: queratinocitos, melanocitos y células de Langerhans, mientras que las células de Merkel, en las aves, no se localizan en la epidermis, sino en la dermis (González, 2014).

Los queratinocitos son la población celular más abundante de la epidermis, formando parte de los estratos basal, intermedio y córneo. Las únicas células que tienen actividad mitótica y reemplazan las células superficiales perdidas son las que se encuentran en el estrato basal. Las células que van ocupando estratos más

superficiales sufren procesos de diferenciación: queratinización y lipogénesis. Esta capacidad de los queratinocitos de las aves para sintetizar y acumular lípidos, además de queratina, les ha dado el nombre de seboqueratinocitos (González, 2014).

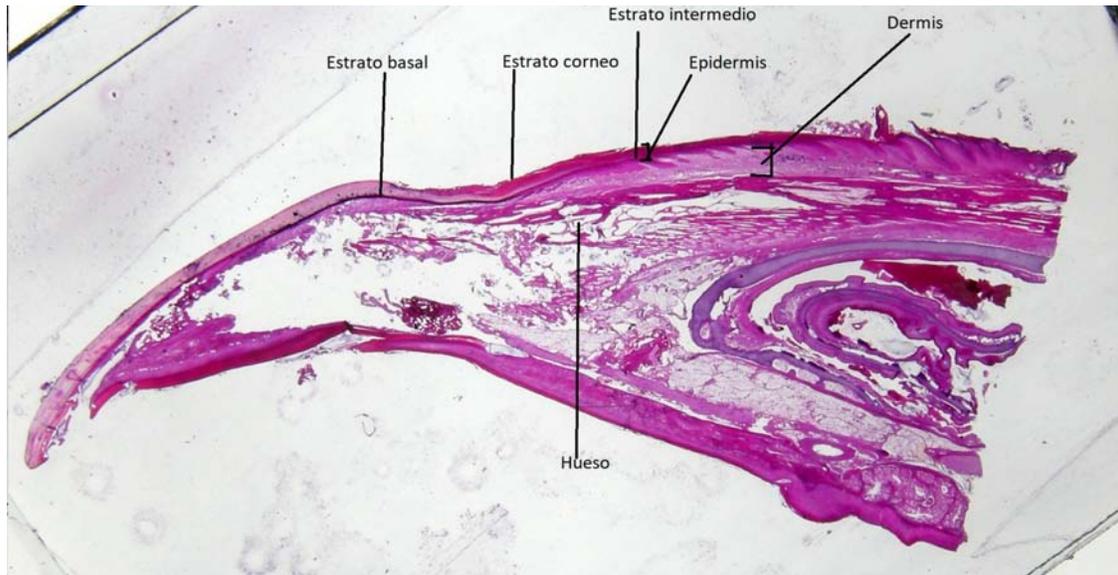


Figura 3: Histología del pico.

Durante el proceso de queratinización los queratinocitos sintetizan y concentran filamentos de queratina, esto comienza con la apoptosis celular a partir del estrato intermedio y finalizando en el estrato córneo; donde las células poseen mayor cantidad de queratina. Durante la parte final la queratinización, la cornificación, se depositan en la cara interna de la membrana celular proteínas con elevadas concentraciones de queratina asociada a otras proteínas, esta parte del proceso involucra la apoptosis del queratinocito, además de la pérdida de organelos y el núcleo. Durante este estado la célula se denomina queratinocito y forma parte del estrato córneo, compuesto de células muertas queratinizadas (González, 2014).

El proceso de cornificación tiene diferentes tipos de empaquetamiento de las proteínas, lo cual causa que pueda ser blando, como en la epidermis; o duro, como en caso de garras, pico y plumas y escamas, en donde junto al proceso de cornificación se da la acumulación de depósitos de calcio o una concentración mayor de proteínas en la membrana celular (González, 2014).

Otra área histológica del pico es la dermis de la valva superior en la que se encuentran capas de células, tejido óseo, además de mecanoreceptores

(corpúsculos de Herbsty Grandry), vasos sanguíneos, vainas perineuronales y terminales neuronales libres (nocioceptores de dolor y receptores de temperatura). Por último, en la capa más profunda de esta región se encuentra el hueso premaxilar (Kuenzel, 2007), mismo que está fusionado en su porción anterior desde el desarrollo embriológico, y estando unido con el hueso nasal por la línea media; además el premaxilar forma gran parte del margen rostral en aves y se extiende posteriormente rodeando las narinas y separando ambos huesos nasales hasta el nivel del lagrimal. (Chiappe, 1992)

Receptores del pico

- Los corpúsculos de Herbsty Grandry: se encuentran en la zona de la dermis de la piel del pico, están inervados por neuronas aferentes del trigémino y dan al ave y pueden alcanzar densidades de hasta 150 por milímetro cuadrado, se encargan de mandar señales táctiles, esto quiere decir que son mecanorreceptores, perciben fuerza mecánica ejercida (Schneider *et al* 2014).
- Las células de Merkel: en aves se encargan de la sensaciones táctiles no se encuentran en la epidermis, sino que se encuentran en la hipodermis, teniendo acomodo lineal con terminaciones nerviosas rodeadas por células lamelares (Soliman y Madkour, 2017).
- Los corpúsculos de Ruffini: en aves tienen función de termorrecepción y de estiramiento, se pueden encontrar en la piel, base de la pluma, cápsula sinovial y pico; son descritos como una modificación del final un nervio donde el axón está rodeado de una cápsula de colágeno (Soliman y Madkour, 2017).

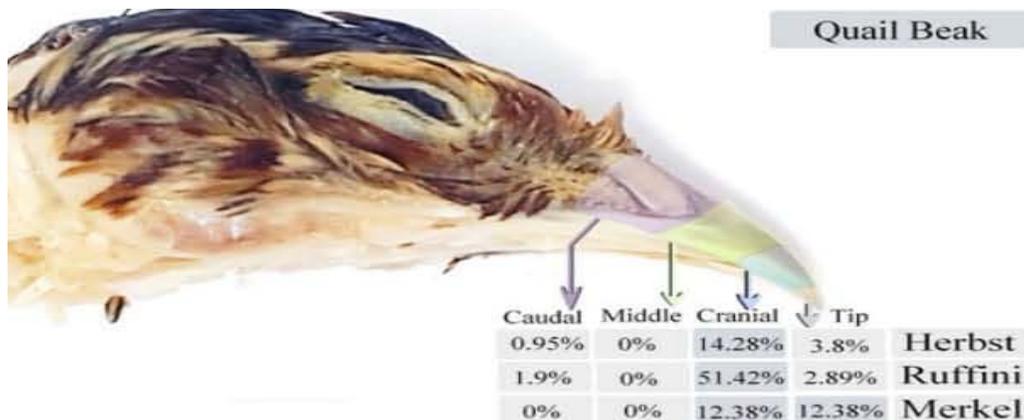


Figura 4: Localización de receptores en pico Adaptado de Soliman y Madkour 2017

1.2.3 Tratamiento de pico

El tratamiento de pico, también conocido como despique, es el corte de aproximadamente un cuarto del pico, que puede ser aplicado en la valva superior, inferior o ambas (Sarasara, 2019). Generalmente, se toman como referencia las fosas nasales (Pescador, 2018). Cabe aclarar que el nombre correcto, según la Nomina Anatomica Avium en su segunda edición del año 1993, de la zona que corresponde a donde se realiza el tratamiento de pico se llama *rostrum maxilare*, además, el tratamiento también afecta a la zona del *tonium maxilare* (Baumel, 1993) ; no obstante, el nombre con el que se le conoce comúnmente a esta zona en clínica y/o sistemas de producción es valva o pico.

El corte de pico es una práctica generalmente realizada en producciones avícolas de Estados Unidos y América Latina y se realiza con el fin de disminuir el desperdicio de alimento, prevenir el canibalismo en parvadas, evitar pérdida de plumas por picaje o pica y disminuir la incidencia de prolapsos cloacales por picaje. Estos comportamientos negativos o no deseados que pueden causar altas tasas de lesiones, angustia y muerte en las parvadas que cuentan con densidades elevadas de aves por metro cuadrado (Sarasara, 2019). Lo cual tiene implicaciones negativas para el bienestar de las aves y la eficiencia productiva de las unidades pecuarias.

Técnicas de tratamiento de pico

En el presente trabajo se describirán solamente las técnicas de tratamiento de cuchilla mecánica y caliente al ser las más empleadas en pequeñas a medianas producciones avícolas comerciales. El tratamiento de pico mediante laser infrarojo es considerado el estándar de oro pero sólo se puede realizar en aves recién nacidas y requiere un equipo especial que se encuentra en las granjas incubadoras. Debido a esto el acceso a este tipo de tecnología puede verse limitado para productores que no cuentan con un sistema totalmente integrado o tecnificado de producción.

Técnica de tratamiento de pico mecánica: se caracteriza por el uso de una navaja o tijeras de poda para cortar las valvas. Esta técnica limita el daño producido a la zona donde se realiza el corte, pero esto no garantiza ser el método más preciso. Los pavos que son despicaados usando tijeras tienen relativamente poco daño en el tejido detrás de la línea de corte y el sangrado tiende a detenerse a las 24 horas post despique. Es posible observar recuperación de los tejidos lesionados post tratamientos, ya que pasados 21 días post despique en pollitos se describe un incremento en la longitud del pico con aumento en el tejido óseo del pico, mientras

que en la dermis se observa un aumento en la vascularización pero no hay desarrollo de nuevas fibras nerviosas (AVMA, 2017).

Técnica de tratamiento de pico con cuchilla caliente: se caracteriza por utilizar un equipo específico conocido como despicatora, el cual consta de una cuchilla calentada y mecanizada para su ejecución. Este método causa daño en los tejidos aledaños a la línea de corte, el daño realizado en la zona depende de la temperatura de la cuchilla al momento del corte y el tiempo que se mantenga en contacto la valva con la cuchilla. Existe una recuperación en la zona de tejidos lesionado ya que a los 21 días post despique en pollitos se observa irrigación normal, ausencia de fibras nerviosas adyacentes a la línea de corte, pero a diferencia del método anterior, no hay crecimiento del pico (AVMA, 2017).

Efectos secundarios al tratamiento de pico

En cuanto a los efectos secundarios al despique se reportan los siguientes:

- Dolor: existe evidencia que indica la presencia de neuromas (es el resultado de una regeneración fallida de nervios que han sido seccionados parcial o totalmente, formando un nódulo, este puede ser o no doloroso, dependiendo si hay presencia de fibras sensitivas (Fernández *et al*, 2004) al realizar el despique con cuchilla caliente, la cauterización en aves de postura adultas ha mostrado daños 2 a 3 mm de distancia la línea de corte, debido a la temperatura de la navaja. Diez días post despique se observó que las terminaciones nerviosas de las gallinas comenzaban a crecer con nudos en la porción final del nervio, mientras que a los 15 días los neuromas eran claramente visibles. Se observa que las fibras nerviosas continúan con su desarrollo pero sin capacidad de inervar estructuras de la dermis debido al tejido cicatricial; causando que las fibras nerviosas crezcan sobre sí mismas y generando fibras nerviosas entrelazadas en los tejidos adyacentes. Los neuromas observados en aves son similares a los que se pueden encontrar en humanos con miembros amputados que experimentan dolor fantasma crónico (AVMA, 2017).
- Cambios del comportamiento: las aves que han sido despicadas con tijeras tienden a pasar más tiempo realizando comportamientos pasivos, como son descansar, estar de pie, además de comportamientos de defensa como mantener la cabeza bajo las alas, comportamiento relacionado con dolor. En muchos casos estos comportamientos desaparecen a las 3 semanas post despique, pero algunos pueden persistir por meses. Se ha encontrado una relación con comportamientos normales en ocasiones donde se deja

una porción de la valva sin cortar, esto es debido a que las aves tienen mayor sensibilidad en la porción restante de la valva. Mientras que aves despícadadas a edad temprana tienden a tener comportamientos iguales a los de aves que no fueron despícadadas (AVMA, 2017). Otros cambios conductuales son el acicalarse y por consecuencia la calidad del plumaje. Estudios comparativos en parvadas encontraron que las diferencias en calidad del plumaje entre animales despícadados y con pico completo se deben a la reducción en picaje y no a mayor tiempo de acicalamiento. Además, se ha reportado que si el despique se realiza a las 16 semanas de vida en comparación con aves despícadadas a 5 semanas, el tiempo que pasan acicalándose se ve disminuido y no regresa a los tiempos registrados en aves con pico completo (Kuenzel, 2007).

- Cambio en el consumo de alimento y agua: se ha reportado que el despique a edad temprana reduce el consumo de alimento y ganancia de peso durante las primeras 2 a 3 semanas posteriores al despique, llegando a parámetros normales a la edad de madurez sexual. Una causa sugerida de esta variación es que el ave requiere más precisión para realizarlos, ya que esta actividad se compone de 5 partes: atracción y reconocimiento del alimento, orientación de la cabeza del ave hacia el alimento, rápida apertura del pico cerca del alimento, movimientos de mandíbula para pasar el alimento del extremo anterior al fondo del pico y deglución. Mientras que para el consumo de agua se recomienda utilizar bebederos que no requieran del uso de fuerza por parte del ave para su consumo, siendo mejor la implementación de bebederos tipo plason o de copa las primeras 24-48 horas post despique (Kuenzel, 2007).

En general, los efectos adversos del tratamiento de pico se mantienen del día 1 a 10 post despique. Se ha observado que los efectos negativos se ven mitigados en casos donde el despique se lleva a cabo a edad temprana de vida en comparación con animales despícadados a edad avanzada (AVMA, 2017).

1.2.4 Estrés oxidante

Los procesos metabólicos en los seres vivos son una relación de reacciones químicas sincronizadas entre sí y reguladas por la célula, con la finalidad de mantener la homeostasis; la actividad metabólica celular requiere de oxidación de compuestos, como la glucosa y ácidos grasos, a nivel mitocondrial liberan electrones, transportados a moléculas de oxígeno por medio de la cadena

respiratoria, generando con esto la producción de Adenosin Trifosfato (ATP) por medio de la fosforilación oxidativa, pero, cuando las moléculas de oxígeno no se reducen de forma completa forman moléculas conocidas como Radicales libres de oxígeno (RL), que actúan como agentes oxidantes (Martínez, 2010).

El estrés oxidante puede ser definido como el desequilibrio de los sistemas antioxidantes de un individuo se ven sobrepasados por las concentraciones de RL y/o hay una respuesta antioxidante disminuida, esto está relacionado con enfermedad, envejecimiento y daño celular (Mayor, 2010).

El proceso de estrés oxidante puede ser dividido en tres etapas tomando en cuenta los daños estructurales y funcionales causados a las células por la presencia de especies reactivas de oxígeno (ERO):

- Adaptación, periodo en que la célula reacciona a la sobreproducción de ERO y se lleva a cabo la activación de los sistemas antioxidantes para protegerse del daño de forma parcial o total (Guzmán y Pacheco, 2021).
- Agudo: a causa de una respuesta leve del estrés oxidante se presentan cambios menores en la función y estructura celular, este proceso es mediado por las ERO anión superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Guzmán y Pacheco, 2021).
- Crónico: se debe a la presencia de modificaciones provocadas por las biomoléculas celulares, que ocasionan la liberación de una segunda generación de productos de oxidación, moléculas que aumentan el daño a células y tejidos, llevando a apoptosis y daños irreversibles, este proceso es mediado por el radical hidroxilo (OH) (Guzmán y Pacheco, 2021).

Bienestar animal y su relación con el estrés oxidante

Seyle define por primera vez la expresión de estrés en el año 1926 como una respuesta al estímulo o agente que produce reacciones de estrés, también denominado estresor, hasta ese momento el concepto de estrés era utilizado en ingeniería para los efectos de una fuerza contra una resistencia; a partir del siglo XX se le relaciona al estrés con un elemento causal de malestar y que está relacionado con enfermedades (Barrio, *et. al.*, 2006). Mientras que según el *Código Terrestre* el bienestar animal es el estado físico y mental de un animal en relación con las condiciones en las que vive y muere (OMSA, 2022).

Al ser el bienestar animal un tema multidisciplinario en el que se engloban temas científicos, éticos, económicos, culturales, sociales, religiosos y políticos (OMSA, 2022), siendo ese el caso y tomando en cuenta que el tratamiento de pisco es una

práctica que implica manejo estresante para el ave y que requiere de un tiempo de recuperación (Rodríguez, 2022), se requiere de métodos para cuantificar los daños ocasionados por este tratamiento y las implicaciones durante el proceso de recuperación.

1.2.5 Radicales libres

Se le llama RL a moléculas que presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, causando una configuración inestable (Mayor 2010). Mientras que se denominan ERO a moléculas que contienen oxígeno, pero tienen diferente reactividad química (Carbajal, 2019). Son metabolitos de oxígeno que tienen capacidad oxidante que varía entre ellos. Los ERO incluyen especies oxidantes y no oxidantes y son producidos en diferentes sistemas celulares localizados en la membrana celular, el citoplasma, el retículo endoplasmático y la mitocondria (Carbajal, 2019).

Dentro de las fuentes más importantes para la creación de RL tenemos a la mitocondria, los peroxisomas, leucocitos polimorfonucleares (activados por la acción de interleucinas durante procesos inflamatorios) y la enzima xantina deshidrogenasa, presente en endotelios (Mayor, 2010).

Tabla 1: Especies reactivas de oxígeno (ERO). Adaptado de Mayor 2010 y Carbajal 2019

ERO	
Radicales	Superoxido (O^{2-}) Hidroxilo (OH) Radical Alcoxilo (RO^+) Radical Peroxilo (ROO^+)
No Radicales	Peróxido de Hidrógeno (H_2O_2) Oxígeno Singulete o molecular ($1O_2$) Ácido Hipocloroso (HOCL) Ozono (O_3) Peróxido Orgánico (ROOH) Ácido Hipobromoso (HOBr)

Estudios recientes han encontrado que los ERO no solo tienen función de oxidación, sino también de mensajeros celulares. Además, varios factores de crecimiento celular se han relacionado con la producción de ROS para fines de transmisión de señales, dentro de los cuales destacan: el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factor de

crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento neuronal (NGF), factor transformador de crecimiento β (TGF- β) (Gómez, 2007).

La activación de las rutas de señalización de las ROS requiere de la activación de receptores de proteínas sensibles a radicales libres. Una vez recibidas, comienza la transcripción de genes en blanco. Se conocen tres mecanismos por los cuales los radicales libres regulan funciones proteicas: por la oxidación de cisteína en la unión de un factor de transcripción de DNA, la oxidación de cisteína en el centro catalítico de una proteína y la inactivación de inhibidores que retienen al factor de transposición (Gómez, 2007).

1.2.6 Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias químicas que impiden o retrasan la oxidación de moléculas, principalmente ácidos grasos tanto en alimentos como en organismos. Otra función de los antioxidantes es ayudar al uso de oxígeno por las mitocondrias, reduciendo los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno (Zamora, 2007).

Los sistemas antioxidantes pueden ser clasificados de dos maneras:

Sistema enzimático: también conocido como endógeno, es el sistema que corresponde a enzimas tales como superoxidasa dismutasa (SOD), catalasa, glutatión peroxidasa (GPx), tioredoxina reductasa y glutatión reductasa (GRx) (Zamora, 2007).

Sistema no enzimático: también conocido como exógeno, es un sistema paralelo al enzimático, determinado por compuestos llamados depuradores de radicales libres, que logran retrasar la producción de los mismos, dentro de estos encontramos el glutatión (GSH), ácido lipoico, bilirrubina, ubiquinonas, bioflavonoides, vitamina E, vitamina C, vitamina A y carotenoides, y minerales como selenio, cobre, zinc y magnesio (Zamora, 2007).

1.2.7 Biomarcadores de estrés oxidante

Son enzimas específicas, factores o productos derivados del daño oxidante, pueden ser medidos y valorados para tomarse en cuenta como indicadores de estrés fisiológico en procesos patológicos o de respuesta a tratamientos con fármacos (González, 2019). Algunos de los biomarcadores de estrés oxidante más usados son:

- Malondialdehido (MDA): es un cetoaldehido biomarcador de la peroxidación lipídica producido por la descomposición de lípidos insaturados, derivados del metabolismo del ácido araquidónico presente en la membrana celular. Daño tisular puede causar el aumento en MDA y al reaccionar con residuos de la lisina pueden ocasionar mecanismos inmunológicos relacionados con enfermedades cardiovasculares (González, 2019).
- Glutación (GSH): es parte de los sistemas antioxidantes no enzimáticos o endógenos, se forma al interior de la célula y se exporta a través de la membrana hacia el espacio extravascular, tienen una vida media de segundos a minutos y la concentración de GSH en plasma están correlacionadas con la GSH presente en tejidos, por lo que la concentración de GSH reducido y glutación oxidado (GSSG), el ratio GSH/GSSG se consideran indicadores de estrés oxidante en el organismo (González, 2019).

Tabla 2: Biomarcadores de estrés oxidante y pruebas de detección. Adaptada de: Rossi *et. al.*, 2016

Tipo de medición	Marcador	Prueba de detección
Medición directa	ERO	Electron Spin Resonance (ESR) Espectofotometria Fluorescencia (2,7Diclorofluorescencia) Cotometria de flujo-espectofotometria.
	ERN	Ion Electrode Method
Medición Indirecta	Malondialdehido (MDA)	Colorimetrico, fluorometric, ELISA, HPLC
	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs)	Colorimetrico, fluorimetrico.
	4-Hidroxinonenal (HNE)	GC-MS, HPLC
	F ₂ isoprostanos (8-osi-PGF ₂)	Colorimétrico, fluorométrico, ELISA.
	Hidroperoxidación Lipídica-Hexanoil-Lys aducto (HEL)	ELISA, HPLC.
Lipoproteína de baja densidad oxidada.	HPLC, ELISA.	

	<p>Carbonilo</p> <p>3-Nitrotirosina</p> <p>Tiolproteína</p> <p>8-Hidroxi-2deoxiguanosina (8-OHdG)</p> <p>Ruptura del ADN</p>	<p>Colorimétrico, ELISA</p> <p>GC-MS. HPLC, ELISA</p> <p>Colorimétrico, ELISA</p> <p>HPLC, LC, MC, ELISA</p> <p>Ensayo Cometa, citometría de flujo</p>
Antioxidantes	<p>(Antioxidantes enzimáticos) Superóxido, dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa, glutatión reductasa, GHS xantina oxidasa.</p> <p>(Antioxidantes no enzimáticos) Glutatión</p> <p>Ácido ascórbico (AA), α tocoferol, β caroteno, licopeno</p> <p>Zn, Se, Mn, Cu, Fe</p>	<p>Colorimétrico, ELISA</p> <p>Colorimétrico, fluorométrico, HPLC</p> <p>Fotometría de llama</p>
Capacidad Antioxidante	<p>Total Antioxidant Status (TAS)</p> <p>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)</p> <p>Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)</p> <p>Asymmetric Dimethylarginine (ADMA)</p>	<p>Colorimétrico</p> <p>Colorimétrico</p> <p>Colorimétrico</p> <p>Colorimétrico</p>

1.2.8 Vitamina C

El ácido ascórbico (AA) o vitamina C es el principal antioxidante no enzimático hidrosoluble que se puede encontrar en el plasma sanguíneo, principalmente en la forma de anión ascorbilo (AA^-), en menor cantidad como radical ascorbilo ($AA^{\cdot-}$) y como anión dehidroascorbato (DHA⁻), las dos últimas moléculas son generadas por dos oxidaciones consecutivas reversibles del anión ascorbato (Villagran, 2019).

La vitamina C aparece con la capacidad de síntesis de ácido ascórbico en vertebrados terrestres al final de la era paleozoica, debido al aumento del oxígeno atmosférico, causando intoxicación de organismos que no tuvieron la capacidad de desarrollar un sistema antioxidante (Castillo, 2019).

Metabolismo de Vitamina C

La vitamina C es sintetizada en el hígado a partir de moléculas de glucosa por medio de la enzima L-gluconolactona oxidasa, llegando a sangre por difusión facilitada de manera oxidada y formando ácido dehidroascórbico (ADA) (Miranda, 2011).

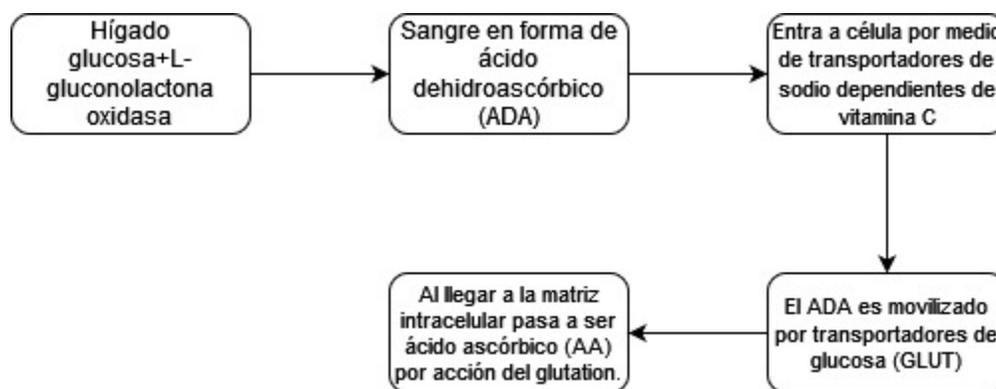


Figura 5: Metabolismo del ácido ascórbico.

Al llegar a la célula es introducida por los transportadores de sodio dependientes de vitamina C (SVCTs por sus siglas en inglés); el ácido dehidroascórbico (ADA) es transportado por transportadores de glucosa (GLUT), debido a su semejanza estructural, una vez que esta alcanza la matriz intracelular pasa a su forma reducida ácido ascórbico (AA^-) por medio del glutatión, ya que si no se da este

proceso se formarían compuestos de ácido diketogluconico y pasarían al metabolismo del oxalato (Castillo, 2019).

La capacidad de absorción y reciclaje de ADA por las células se debe a que se busca mantener la reserva total de ascorbato del organismo para realizar acciones antioxidantes. La vida media del ácido ascórbico (AA) es de 16 a 20 días. La concentración de vitamina está relacionada con la absorción intestinal y la reabsorción a nivel de los túbulos renales (Miranda, 2011).

En altas concentraciones plasmáticas de vitamina C y de metales de transición, por ingesta o hemorragia, se puede facilitar la producción de radicales libres, en el uso de compuestos vitamínicos con hierro (Fe) la vitamina C tiene tendencia a presentar un efecto prooxidante (Miranda, 2011).

Función de la vitamina C

Neutraliza moléculas de oxígeno molecular, captura radicales hidroxilo (OH) y ayuda a la regeneración de la forma oxidada de vitamina E (Mayor, 2010).

Reduce otras ROS como el anión superóxido (O_2^-), compuestos como el radical α -tocoferoxil, sustancia derivada de la interacción de RL con α -tocoferol y lipoproteína de baja densidad (LDL), causando su regresión a α -tocoferol por medio de la acción del ascorbato, regresando sus capacidades antioxidantes. Experimentalmente, se ha encontrado que dosis elevadas de vitamina C provocan apoptosis de células tumorales gástricas mediada por proteína quinasa activada por mitógenos (p^{36} MAP-kinasa) (Castillo, 2019).

Participa como cofactor de las oxidasas, interviniendo en la formación de colágeno ya que incrementa la transposición, traducción y estabilidad de ARNm del procolágeno, manteniendo al hierro metálico en estado reducido, esto causa la estimulación de las oxidadas; además, participa en la síntesis de carnitina y norepinefrina (Miranda, 2011).

En pruebas con aves la suplementación con vitamina C en agua ha demostrado reducción sobre la mortalidad, reducción en situaciones de estrés por calor y se le considera una buena práctica de manejo (Vela, 2020).

1.2.9 Ácido acetoxibenzoico

El ácido acetoxibenzoico, también conocido como ácido acetilsalicílico, pertenece al grupo de medicamentos conocido como antiinflamatorios no esteroideos (AINES); cuyo efecto es la inhibición de las prostaglandinas, mediadores de fiebre, dolor e inflamación, además de inhibir las ciclooxigenasas de forma no selectiva (Bonetto, 2020).

1.2.10 Ciclooxigenasa y estrés oxidante

Se han reportado efectos de la ciclooxigenasa y estrés oxidante durante periodos de hipoxia causados por ejercicio o exposición a cambios de altitud con o sin actividad física. Mediante el estudio de tejido muscular tanto de origen animal como humano se han encontrado indicios de lipoperoxidación, peroxidación de proteínas y daño oxidativo al ADN (Fernández, 2009).

1.2.11 Importancia de la histopatología para el diagnóstico veterinario

El estudio de la histología es la ciencia que se encarga del estudio de los tejidos, pero su estudio conlleva conocimiento de otras ramas de la medicina como la citología, bioquímica, genética y patología. Su estudio se remonta al ciclo V a.C. con las primeras descripciones de la formación de los líquidos corporales y humores. El desarrollo del microscopio hizo posibles avances importantes y en la actualidad es una ciencia necesaria para conocer el funcionamiento de los organismos, lo que la hace una parte importante de las diferentes carreras del área de ciencias de la salud (Duarte, 2015).

Mientras que la introducción del estudio microscópico de los daños causados en órganos por procesos patológicos fue introducido por Virchow, Koch, Rokitansky y observaciones de enfermedades como la fiebre purpúrea por Semelewis y la peste por Defoe en el siglo XIX sentaron las bases para encontrar correlación entre las lesiones y la presentación clínica de las enfermedades presentadas por los pacientes (Giraldo, 2011).

Dichos estudios dieron origen a la patología quirúrgica, que se define como el estudio de órganos o partes de órganos de un individuo vivo, tomados durante una

intervención quirúrgica para su observación al microscopio y realizar un diagnóstico histopatológico (Giraldo, 2011).

Por tanto, la histopatología se puede definir como el estudio de la respuesta de las células y tejidos en respuesta a una lesión a nivel microscópico (Zachary, 2017). Aunado a esto, hoy en día el uso de tinciones como la de hematoxilina-eosina se han convertido en un pilar del diagnóstico anatomopatológico (Giraldo, 2011).

1.2.12 Tinción H.E

Los diferentes procesos de tinción de cortes histológicos ayudan a estudiar y conocer características físicas y celulares de los diversos tejidos que conforman un organismo. Se efectúan mezclando sustancias conocidas como colorantes, los cuales se pueden clasificar como ácidos, básicos o neutros. En tejidos, los componentes que retienen o que tienen afinidad por colorantes básicos se les denomina basófilos, mientras que los que se llama acidófilos a los que presentan afinidad por colorantes ácidos (Morón, 1997).

Los colorantes básicos más importantes son la hematoxilina, el azul de metileno y el azul de toluidina, estos reaccionan con nucleoproteínas y ácidos glucosaminoglicanos. Mientras que, en los colorantes ácidos tenemos a la eosina, el orange G y la fucsina, tienen afinidad por componentes básicos como las proteínas citoplasmáticas (Morón, 1997).

1.2.13 Fisiología de la recuperación de una herida

El proceso de recuperación de una herida normalmente pasa por cuatro fases: hemostasis, inflamación, proliferación celular y remodelación del tejido (maduración y contracción). Estas fases ocurren en secuencia pero pueden llevarse a cabo en diferentes intervalos de tiempo, e inclusive, pueden existir zonas en diferentes fases de recuperación en una misma herida (Zachary, 2017).

Hemostasis.

Hemostasis: cumple dos funciones principales; mantener la sangre en estado líquido fluyendo en los vasos sanguíneos y suprimir la salida del espacio intravascular de sangre en un vaso lesionado. Esto se da mediante la formación de una red de fibrina que proporciona la base para que se lleve a cabo el proceso

de recuperación, cuando ya no es necesaria la red de fibrina el sistema la elimina mediante un proceso conocido como fibrinólisis (Grimaldo, 2017).

La hemostasis puede ser dividida en dos etapas: hemostasis primaria y hemostasis secundaria (Grimaldo, 2017).

Hemostasis primaria

La hemostasis primaria comienza cuando se daña un vaso sanguíneo y comienza a formarse el tapón plaquetario, esto ocurre como una solución en caso de que el daño ocasionado al vaso sanguíneo exponga el colágeno subendotelial, causando la activación plaquetaria (Flores *et. al.* 2014).

Durante el proceso de hemostasis primaria se llevan a cabo una serie de pasos para llevar a cabo la formación del tapón plaquetario, los cuales son: adhesión, activación y secreción y agregación. El proceso de adhesión comienza cuando las plaquetas se unen al subendotelio expuesto a sangre, esto permite la unión de las plaquetas con colágeno subendotelial, mediante el complejo glicoproteico de membrana IX (GPIB/IX) y el factor de Von Willebrand (FvW). Tras el proceso de activación, las plaquetas modifican su estructura y adquieren forma esférica con pseudópodos, a la vez que se lleva a cabo la activación, las plaquetas comienzan con la secreción de sustancias activas, las cuales llevan a cabo funciones de formación del tapón plaquetario y reparación tisular, como son la epinefrina, trombina, colágeno, el tromboxano A₂, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor V y fibrinógeno. Además, estas sustancias producen quimiotaxis plaquetaria y el crecimiento del coágulo, a lo cual se le conoce como agregación plaquetaria (Flores *et. al.*, 2014).

En este estadio el coágulo está conformado por plaquetas degranuladas y poca cantidad de fibrina, aunque la membrana de las plaquetas activas tiene la capacidad de acelerar la generación de fibrina proveyendo de fosfolípidos útiles para la conformación de un coágulo final, siendo el fosfolípido principal el factor de agregación plaquetario 3 (Flores *et. al.*, 2014).

Hemostasis secundaria

La hemostasis secundaria es parte del sistema de coagulación y se puede dividir en tres etapas: iniciación, comienza con la exposición del plasma al factor tisular (FT, tromboplasmina o Factor III), encontrado en las membranas celulares, que combinado con el factor VIIa activan al factor X y XI, que a su vez pueden activar

al factor V, causando la generación de factores Xa y Va, que produce pequeñas cantidades de trombina, importante para la etapa siguiente; la amplificación, siendo un activador plaquetario a través de la vía de receptores activados por proteasas (PAR), causando la formación de una membrana procoagulante, de plaquetas activas que liberan factor V, Xa, XI y VIII, además de fosfolípidos para la fase final, la fase de propagación, donde el factor Xa inicia la formación del factor protrombinasa, que está constituido por el factor Va, Xa y calcio, la cual convierte la protrombina en trombina, subsecuentemente la formación de fibrina y la formación del coágulo (Flores *et. a.*,/ 2014).

Fibrinolisis

La fibrinólisis se da cuando el vaso sanguíneo ha sido reparado y es requerida la remoción del coágulo de fibrina para normalizar el flujo sanguíneo y permitir la irrigación de los tejidos aledaños a la herida inicial y se encarga de evitar la propagación del coágulo más allá del lugar de la lesión. Este sistema es regulado por activadores e inhibidores (Nápoles y Nápoles, 2012).

La molécula principal encargada de este proceso es el simogeno plasminogeno, el cual se convierte en una enzima llamada plasmina, que tiene la capacidad de eliminar la fibrina, el fibrinógeno y otros factores de la coagulación (Nápoles y Nápoles, 2012).

El activador principal es el activador tisular (tAP) y el activador del plasminogeno, la uroquinasa (u-PA), mientras que los inhibidores del sistema son el factor activador de plasminógeno (IAP) e inhibidores de la plasmina, la $\alpha 2$ antiplasmina y $\alpha 2$ macrogoluna (Nápoles y Nápoles, 2012).

Inflamación

El proceso de inflamación es una cascada de cambios tisulares y celulares en un organismo vivo, estos cambios causan acumulación de fluidos, electrolitos y proteínas plasmáticas, junto con leucocitos, en tejidos extravasculares, observados clínicamente con signos como enrojecimiento, calor, inflamación, dolor y pérdida de la función en el tejido afectado (Zachary, 2017).

La inflamación es un proceso que los organismos realizan con el fin de diluir, aislar y eliminar la causa de heridas tisulares, así como la reparación del tejido. Usualmente este proceso se lleva a cabo de forma ordenada mediante sustancias quimiotaxicas, vasoactivas, proinflamatorias, antiinflamatorias, y moléculas

citotóxicas. Este proceso tiene una duración que puede ir de unas pocas horas a pocos días, en los cuales se lleva a cabo la exudación de electrolitos, fluidos, plasma, proteínas y leucocitos, principalmente neutrófilos, para terminar en la reparación y recuperación de la zona afectada; este proceso se puede dividir en tres fases secuenciales: de fluidos, celular y de reparación (Zachary, 2017).

Fase de fluidos

Durante la fase de fluidos se llevan a cabo reacciones en los vasos sanguíneos (arterias, capilares y vénulas) de manera secuencial siendo los pasos los siguientes: incremento de la irrigación sanguínea (hiperemia) a la zona de la herida, incremento de la permeabilidad de los capilares y las vénulas a plasma y leucocitos por la liberación de sustancias proinflamatorias, y por último, la migración de leucocitos al espacio perivascular (Zachary, 2017).

Fase celular

La fase celular tiene como función principal reclutar leucocitos en el líquido exudado en la zona de la herida para que estos puedan fagocitar agentes y/o sustancias y llevar a cabo su degeneración o eliminación. Los neutrófilos, eosinófilos, monocitos, basófilos, mastocitos, linfocitos, células NK y células dendríticas, todas estas forman parte del sistema de defensa de las mucosas, piel y otras superficies corporales, y se encargan de la destrucción de agentes patógenos y liberación de enzimas proteolíticas, mediadores químicos y formas de oxígeno reactivo (Zachary, 2017).

Fase de reparación

Durante la fase de reparación se pueden producir varios desenlaces: la resolución o regreso a la estructura y función normal, recuperación por fibrosis, formación de abscesos y desarrollo de inflamación crónica. La gravedad del daño, la habilidad de las células para regenerarse y las características tanto físicas como biológicas de la herida dan pauta para el desarrollo de cualquiera de los desenlaces posibles (Zachary, 2017).

La formación de tejido de granulación es conocida como fase de proliferación, este proceso comienza entre las 48 a 72 horas post lesión, esta fase tiene como duración de 3 a 4 semanas, dependiendo del daño tisular. Tiene como

características el desarrollo de vascularización nueva (angiogénesis), proliferación de fibroblastos la producción de una matriz extracelular denominada tejido de granulación, que es la base para la recuperación del traumatismo, en esta matriz se encuentran macrófagos activos que liberan mediadores químicos tales como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). Estas sustancias promueven la migración de los fibroblastos y que sinteticen glicosaminosacaridos, proteoglicanos y colágeno para la nueva matriz extracelular (MEC), los fibroblastos alcanzan concentraciones mayores durante los días 7 a 14 y comienzan a secretar factores de crecimiento, el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), además del factor de crecimiento insulínico tipo 1, que facilita la síntesis de la matriz extracelular (MEC) (Negrini, 2016).

Los factores estimulantes para el crecimiento de células endoteliales son el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) producido por los macrófagos y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) producido por los queratinocitos y macrófagos, causando la migración de las células endoteliales para la formación de vasos sanguíneos que llevan oxígeno y nutrientes al tejido de granulación activo (Negrini, 2016).

Por último, el proceso de reepitelización se lleva a cabo durante la proliferación, este proceso es importante debido a que es el que se encarga de la reconstrucción de la barrera cutánea y la reconstrucción de la herida, para esto se lleva a cabo la migración de queratinocitos sobre la matriz extracelular, mediada por el factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) y el factor de crecimiento epidérmico de unión a la heparina (HB-EGF), producido por los queratinocitos y los macrófagos (Negrini, 2016).

2.0 Justificación

El tratamiento de pico es un procedimiento rutinario en la producción avícola. El tratamiento de pico infrarrojo, es un procedimiento considerado como estándar de oro, pero su costo es elevado y de difícil acceso para productores de baja a mediana escala. Es por ello que se recurre a métodos tradicionales de corte de pico como la cuchilla caliente y el tratamiento mecánico. Sin embargo, estos métodos a pesar de su bajo costo y practicidad tienen consecuencias para la salud y bienestar animal. Actualmente hay una falta de información sobre el efecto de dichos métodos en las producciones de pavos. Existen en el mercado suplementos alimenticios que incluyen vitaminas, minerales, y antiinflamatorios. Su uso está principalmente recomendado para aminorar procesos estresantes (e.j. estrés calórico) pero su efecto para contrarrestar el impacto del tratamiento de pico se desconoce). Por lo que este proyecto busca resolver esa falta de información para poder brindar recomendaciones sobre la edad y métodos de tratamiento de pico, así como tratamientos paliativos que se puedan brindar basados en evidencia científica.

3.0 Hipótesis

El uso de diferentes métodos de tratamientos de picos desencadenará diferentes fisiopatología del estrés dependiente del método.

4.0 Objetivos

4.1 Objetivo general

Se evaluar los cambios histopatológicos y bioquímicos en pico y sangre en pavos bajo diferentes tratamientos de pico.

4.2 Objetivos particulares

1. Realizar en pavos comerciales dos tratamientos de pico; tratamiento mecánico y tratamiento con cuchilla caliente.
2. Evaluar el efecto antioxidante del suplemento vitamínico VsEs3C® contra estrés en relación con el tratamiento de pico.

3. Evaluar lesiones histopatológicas en muestras de picos obtenidos de pavos de 5, 7 y 14 semanas de edad.
4. Evaluar los cambios en los biomarcadores del estado redox o estrés oxidante en plasma de pavos un día previo al tratamiento (Basal), el día del tratamiento (Día 0) y al Día 1, Día 7 y Día 68.

5.0 Metodología

Animales y localización

El estudio se llevó a cabo en el Módulo de Aves del Centro de Enseñanza Agropecuaria (CEA) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FESC) de la UNAM, ubicada en Teoloyucan Km 2.5, San Sebastián Xhala, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, con la aprobación del proyecto CICUAE-FESC C21_08.

Para el estudio se manejaron 80 pavos mixtos (hembras y machos) línea Nicholas 700 de 4 semanas de edad, que fueron criados en una granja particular durante las primeras semanas de vida, para ser llevados al módulo de aves hasta las 14 semanas de edad, al final del proceso de engorda las aves del proyecto se destinaron para fines comerciales ya que no se realizaron procedimientos que afectasen la calidad de la canal o la inocuidad de la misma.

Grupos experimentales y tratamiento de pico

Los pavos fueron divididos en 4 grupos de 20 pavos por grupo, elegidos al azar de una parvada de 800 animales y se instalaron en corraletas prefabricadas con marcos de acero de construcción y malla para gallinero de acero inoxidable.

El alimento suministrado fue concentrado comercial para pavos de engorda provisto en comederos de tolva, servido una vez al día durante las primeras semanas 9 de engorda y dos veces durante las últimas 5 semanas.

Durante las primeras 4 semanas se les suministró alimento con 26% de proteína y 250g de frituras de maíz con palomitas por comedero como fuente de ácidos grasos. Posteriormente, se administró un alimento con 18 % de proteína con 2.5 kg de fritura con palomita y 2.5 kg de cacahuate y otras semillas oleaginosas.

El agua fue suministrada en bebederos de campana que se limpiaban y desinfectaban diariamente en la mañana.

Las aves se colocaron de manera aleatoria en grupos de 20 animales por corral, con el siguiente orden: A) Tratamiento mecánico con suplemento, B) Tratamiento cuchilla caliente con suplemento, C) Tratamiento mecánico, D) Tratamiento cuchilla caliente.(figura 5).

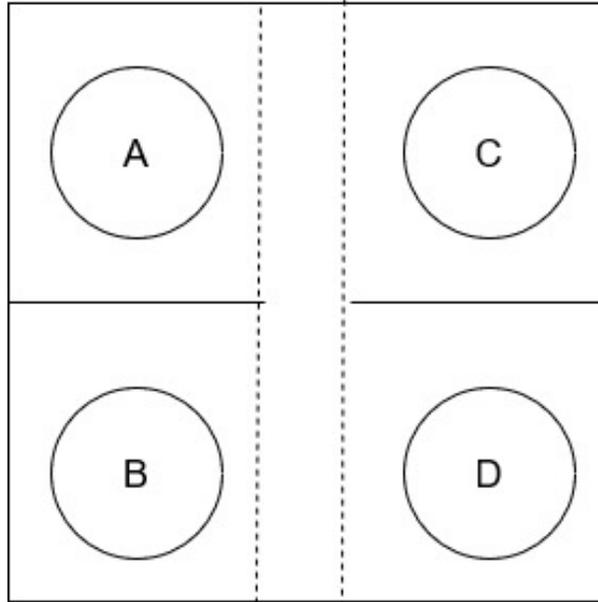


Figura 6: Acomodo de los corrales y su tratamiento: A) Tratamiento mecánico con suplemento, B) Tratamiento cuchilla caliente con suplemento, C) Tratamiento mecánico, D) Tratamiento cuchilla caliente.

Se administró suplemento vitamínico (VsEs3C ® contra estrés Laboratorio Atisa que contiene ácido ascórbico, ácido acetoxibenzoico, cloruro de sodio, cloruro de potasio y excipiente) en los grupos A y B, 4 días pre tratamiento y se retiró 18 horas antes del tratamiento según las indicaciones del fabricante.

En los grupos B y D se usó una despicadora comercial Lyon super (figuras 9 y 10), mientras que en los grupos A y C se usó una tijera para poda de acero según prácticas comerciales (figuras 6 y 7).



Figura 7: Tijeras de poda utilizadas para el tratamiento de pico mecánico, A) tijeras cerradas, B) tijeras abiertas.



Figura 8: Proceso del tratamiento de pico mecánico. A) Corte transversal del pico.
B) Pico inmediatamente después de tratamiento y con sangrado.



Figura 9: Pavo post tratamiento mecánico de pico.



Figura 10: Despicatora Lyon Super utilizada para el tratamiento de pico con cuchilla caliente. A) Vista lateral, B) Perilla para control de temperatura, C) Cuchilla al rojo vivo.



Figura 11: Proceso del tratamiento de pico con cuchilla caliente. A) Apertura del pico y protección de la lengua, B) Posicionamiento de la valva superior sobre la barra de soporte, C) Corte de pico con cuchilla caliente, D) Cauterización del corte con parte caliente de la cuchilla.



Figura 11: Proceso del tratamiento de pico con cuchilla caliente. A) Apertura del pico y protección de la lengua, B) Posicionamiento de la valva superior sobre la barra de soporte, C) Corte de pico con cuchilla caliente, D) Cauterización del corte con parte caliente de la cuchilla.



Figura 12: Pavo post tratamiento de pico con cuchilla caliente.

Toma de muestras

Los picos se obtuvieron de pavos a la semana 5, 7 y 14 de vida.

Fueron conservados en formol con ácido nítrico al 5% para posteriormente ser procesados y teñidos con la técnica de H.E en el Laboratorio de Apoyo a Histología y Biología.

La sangre fue tomada de la vena braquial, en cantidad aproximada de 2 ml y conservada en tubos con EDTA a temperatura de 4 °C.

Se tomaron 5 muestras de sangre de 5 animales por grupo a lo largo del experimento. La primera muestra sanguínea se realizó un día previo al tratamiento (Basal), el día del tratamiento (Día 0) y tres tomas post tratamiento, una al día siguiente (Día 1), otra siete días después del tratamiento (Día 7) y finalmente una muestra durante la matanza (Día 68).

Estas muestras fueron llevadas a la UIM, al laboratorio 9 de Toxicología y Genética de la FESC-UNAM, para las pruebas de, Cuantificación de proteínas totales, GSH y TBARs.

Alometría de picos

Se midieron 5 picos por corral por tratamiento, los cuales fueron medidos desde de la comisura del pico hasta la punta del mismo con una cinta métrica, como se esquematiza en las siguientes figuras.

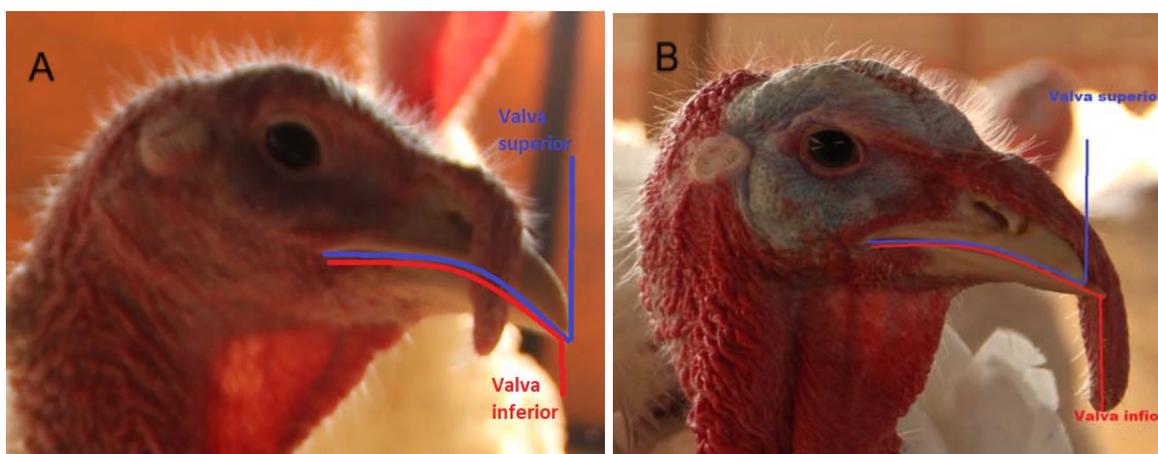


Figura 13: Esquematización de medición de longitud de pico en pavos a la semana 14 de vida. A) Tratamiento mecánico, B) Tratamiento con cuchilla caliente.

Procesamiento histopatológico de picos

Los picos obtenidos durante las necropsias fueron seccionados por línea media y colocados en una solución descalcificadora la cual se realiza a 4°C compuesta por ácido clorhídrico al 7.5% en formalina al 5.5% amortiguada con fosfatos en relación 1:50; para después ser pasada por 24 horas en una solución amortiguadora compuesta por carbonato de litio al 9% y formalina amortiguada en fosfatos al 2.5% en volumen 1:1, para posteriormente ser lavadas con abundante agua.

Posteriormente fueron llevados al Laboratorio de Histología y Biología de la FES-UNAM, para ser colocados en casets histológicos junto con una identificación a lápiz y el procesamiento siguió el siguiente protocolo:

- Sumergir en alcohol al I al 70% calentado 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 8 minutos.
- Sumergir en alcohol II al 70% calentado durante 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 5 minutos.
- Sumergir en alcohol I al 80% calentado durante 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 5 minutos.
- Sumergir en alcohol II al 80% calentado durante 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 5 minutos.
- Sumergir en alcohol I al 90% calentado durante 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 5 minutos.
- Sumergir en alcohol II al 90% calentado durante 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 5 minutos.
- Sumergir en alcohol I al 96% calentado durante 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 5 minutos.
- Sumergir en alcohol II al 96% calentado durante 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 5 minutos.
- Sumergir en alcohol absoluto calentado durante 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 5 minutos.
- Sumergir en alcohol absoluto calentado durante 3 minutos y medio al microondas con un reposo de 5 minutos.
- Sumergir en Xileno-cloroformo durante 24 horas.
- Inclusión en bloques de parafina histológica durante 24 horas
- Enfriar los cubos de parafina
- Corte a 4 µm con el Microtomo.
- Una vez cortados son pasados a baño en flotación con agua a temperatura de menos de 40 °C.

- Pasados a un portaobjetos y puestos en platina a 40°C para su adhesión y marcado de laminillas con marcador de cera. Para la tinción H.E. se siguió el siguiente orden:
- Rehidratar en Xileno en dos ocasiones por 10 minutos.
- Rehidratar en alcohol absoluto por 10 minutos.
- Rehidratar en alcohol al 96% por 10 minutos.
- Rehidratar en alcohol al 90% por 10 minutos.
- Rehidratar en alcohol al 80% por 5 minutos.
- Rehidratar en alcohol al 70% por 5 minutos.
- Baño con agua destilada.
- Paso por Hematoxilina de Garrido por 10 minutos.
- Lavado con agua destilada.
- Baño rápido en alcohol ácido.
- Lavado con agua corriente.
- Tinción con Eosina 15 minutos.
- Rehidratar en RoH 96, 96, 100 y 100.
- Aclarar en xileno por 5 minutos dos veces.

El montaje de las laminillas se hizo con resina sobre la cual se colocó un cubreobjetos y se dejó secar durante 72 horas. Debido a que se intentó estandarizar la técnica de procesamiento de picos se observaron artefactos que afectaron la interpretación de los resultados. Es por ello que los resultados presentados son solamente descriptivos.

Medición de marcadores de estrés oxidante

La evaluación de las muestras se requirió procesar la sangre extraída para la preparación del pull, para esto se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

- Las muestras fueron centrifugadas a 3000 revoluciones por minuto (rpm) por 15 minutos, para posteriormente seleccionar y eliminar las muestras que presentan hemólisis.
- Se toman 500 µl de cada muestra y se colocan en un tubo eppendorf de 2 ml, posteriormente se agitan por 10 segundos con un vortex.
- Se separan 100 µl de plasma y se agregan 100 µl de buffer de lisis para la prueba de proteínas, 200 µl de plasma y se agregan 200 µl de buffer de lisis para prueba de Glutación (GSH) y 200 µl de plasma con 200 µl de buffer de lisis para la prueba de TBARs.
- Las muestras se agitan y congelan a -20°C hasta su procesamiento.

El análisis de proteínas se realizó para poder hacer la correcta medición de la concentración de GHS y MDA según el protocolo previamente estandarizado por López, 2021.

El protocolo utilizado para la prueba de proteínas fue:

- Se descongelaron lentamente las muestras previamente separadas.
- Una vez descongeladas se centrifugaron a 13000 rpm por 15 minutos a 4 °C.
- Se colocaron las muestras en hielo para mantener la temperatura y tomar 10 µl de muestra, se pasaron a un tubo de eppendorf de 2 ml con 90 µl de PBS.
- Se agitaron y volvieron a colocar en hielo.
- Se preparó el reactivo de Bradford (1ml de reactivo de Bradford 4 ml de agua desionizada).
- En una placa de 96 pozos se colocaron 35 µl de PBS según el orden de las muestras por triplicado y posteriormente 5 µl de muestra, además del blanco, cuidando que no se formasen burbujas y finalmente se agregaron 160 µl del reactivo de Bradford.
- Se dejó incubar por 12 minutos y se midió en el espectrofotómetro a una longitud de 595 nm.

Prueba de Glutation (GSH) se realizó bajo el siguiente protocolo:

- Se descongelaron lentamente las muestras obtenidas con anterioridad.
- Una vez descongeladas se centrifugaron a 13000 rpm por 15 minutos a 4°C.
- Se colocaron las muestras en hielo para mantener la temperatura y tomar 300 µl de muestra, pasarlas a un tubo de eppendorf de 2ml.
- Se colocó 15 µl de ácido sulfosalicílico y se dejó en hielo por 20 minutos, después de esto, se volvió a centrifugar.
- Se separó 250 µl en tubos de eppendorf.
- En una placa de 96 pozos se colocó 50 µl de muestra por triplicado y el blanco, teniendo las muestras colocadas en orden, se agregaron 150 µl de buffer de reacción (EDTA, DTNB o PBS).
- Se incubaron a 37 °C por 20 minutos y posteriormente se midieron en el espectrofotómetro a una longitud de 425 nm.
- Para establecer la relación

Prueba de TBARs se realizó el siguiente protocolo:

- Se descongelaron lentamente las muestras obtenidas con anterioridad.

- Una vez descongeladas se centrifugaron a 13000 rpm por 15 minutos a 4 °C.
- Se colocaron las muestras en hielo para mantener la temperatura y tomar 300 µl de muestra y después pasarlas a un tubo de eppendorf de 2ml.
- Se agregaron 300 µl de ácido perclórico y se dejó en hielo por 20 minutos.
- Se centrifugaron nuevamente y se tomaron 450 µl de la muestra que fueron colocados en un tubo eppendorf y se le agregaron 450 µl de TDA.
- Se incubaron a 90 °C por 30 minutos.
- Se colocaron en una placa de 96 pozos por triplicado 200 µl de muestra y se midió en un lapso no mayor a 1 hora en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

Para los resultados de concentración de GSH se realizaron los siguientes cálculos:

- La concentración real de proteína en mg/ml dividido entre la concentración real de µmol de GSH y se establece la relación µmol GSH/mg de proteína.

Para los resultados de concentración de MDA se realizaron los siguientes cálculos:

- La concentración real de proteína en mg/ml dividido entre la concentración real de nmol de MDA y se establece la relación nmol de MDA/ mg de proteína.

6.0 Análisis estadístico

Análisis de pico

El análisis estadístico de la longitud del pico se realizó por el método de ANOVA, tomando en cuenta la longitud final del pico a las 11 semanas de edad, siendo la variable dependiente la longitud final de la valva superior e inferior, mientras que la variable independiente fue el tratamiento de pico (cuchilla caliente, mecanico/cuchilla fría) y el suministro de vitamina en el agua. Se realizó una comparación de medias y la diferencia significativa se identificó a través de la prueba de Tukey con un alfa de 0.05 para observar el efecto de los tratamientos. El análisis estadístico se realizó mediante el programa Origin Lab versión 2022.

Siendo la hipótesis la siguiente:

H0: No hay diferencia significativa en los tratamientos.

Ha: Hay diferencia significativa en los tratamientos.

Análisis de estrés oxidante

Para el análisis estadístico de las muestras de plasma sanguíneo se realizó el método de ANOVA tomando como variable dependiente los niveles de GSH y TBARS, mientras que la variable independiente fue el tratamiento de pico, el suministro de vitamina contra estrés y el tiempo de la toma de muestra. Se realizó una comparación de las medias por medio de la prueba de Tukey con un alfa de 0.05 para observar el efecto de los tratamientos. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Origin Lab versión 2022.

Siendo la hipótesis la siguiente:

H0: No hay diferencia significativa entre los tratamientos

Ha: Hay diferencia significativa entre los tratamientos.

Análisis histopatológico.

El análisis se realizó con las laminillas obtenidas de los picos de la semana post despique, cuarta semana de engorda y semana once de engorda. Estos fueron observados con el microscopio óptico en el laboratorio de Apoyo a Histología y Biología. Se realizó una descripción de las lesiones encontradas y el proceso de recuperación del pico.

Tabla 3: Edad de pavos en semanas y número de muestras recolectadas para realizar laminillas.

Fecha en semanas de edad	Número de muestras.
Semana 5	1 tratamiento mecánico 1 tratamiento cuchilla caliente
Semana 7	3 tratamiento mecánico 3 tratamiento cuchilla caliente
Semana 14	2 tratamiento mecánico 2 tratamiento cuchilla caliente

7.0 Resultados

Morfología del pico

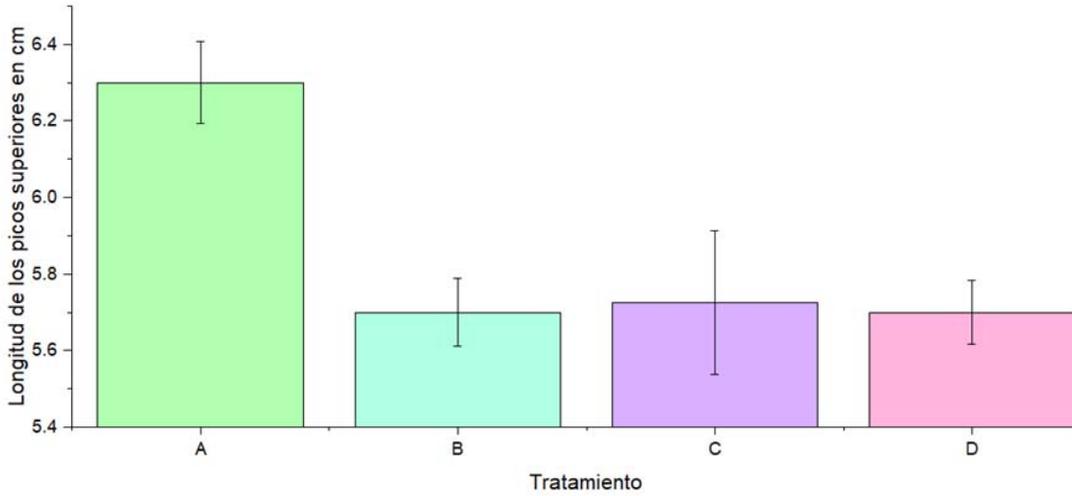
Alometría del pico

Los resultados de alometría de los pico se observan en la Tabla 1. Al realizar el análisis estadístico se observó en los picos superiores una diferencia significativa en la longitud entre los tratamientos A vs B,C,D ($P=0.008$), siendo A (tratamiento mecánico con vitamina) el de mayor longitud comparado con el resto de los tratamientos (Gráfica 1). Se observó que los picos de las aves a las que se les aplicó tratamiento de pico con cuchilla caliente (B y D) tuvieron una tendencia ($P=0.057$) a mayor longitud de las valvas inferiores en comparación con los pavos con tratamiento de pico mecánico (tratamiento A y C) (Gráfica 2), pero sin tener diferencia estadísticamente significativa. No parece haber una relación entre el tamaño de pico y la administración del suplemento vitamínico.

Tabla 4. Promedio en cm de la longitud de la valva superior e inferior de pavos de pavos a las 14 semanas de vida.

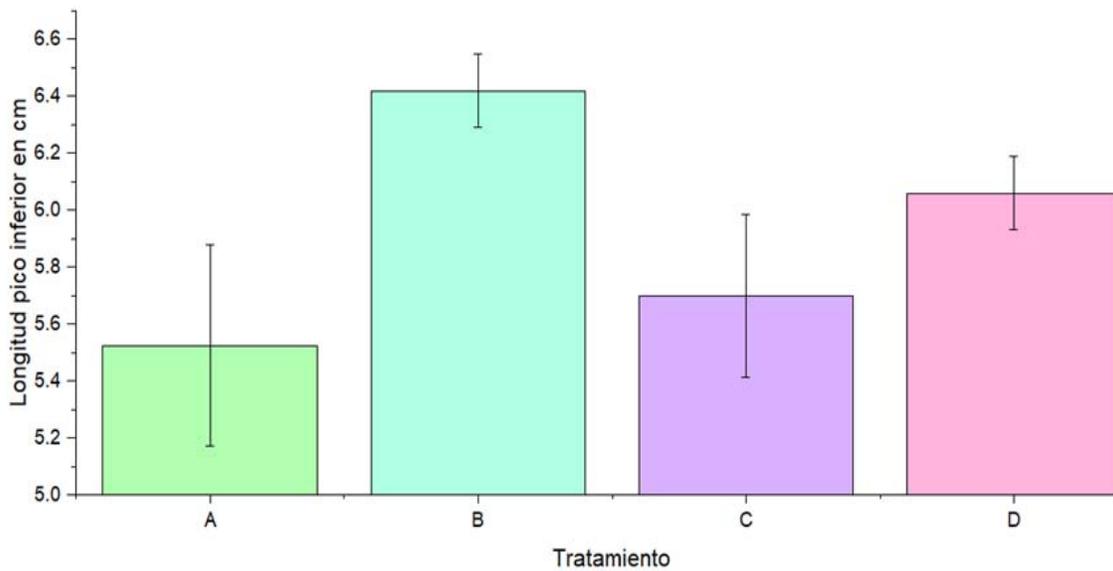
Promedio de longitud de valva (cm)	Tratamiento de pico				P calculada
	A	B	C	D	
Valva superior	6.3+/-0.22 ^A	5.7+/-0.2 ^B	5.725+/-0.38 ^B	5.7+/-0.18 ^B	P=0.008
Valva inferior	6+/-0.71	6.42+/-0.28	5.7+/-0.57	6.06+/-0.28	P=0.057

Los superíndices A y B indican similitud o diferencia entre las longitudes de las valvas superior e inferior.



A) Tratamiento mecánico con suplemento, B) Tratamiento cuchilla caliente con suplemento, C) Tratamiento mecánico, D) Tratamiento cuchilla caliente.

Gráfica 1. Longitud de valva superior de los pavos a las 14 semanas de vida.



A) Tratamiento mecánico con suplemento, B) Tratamiento cuchilla caliente con suplemento, C) Tratamiento mecánico, D) Tratamiento cuchilla caliente.

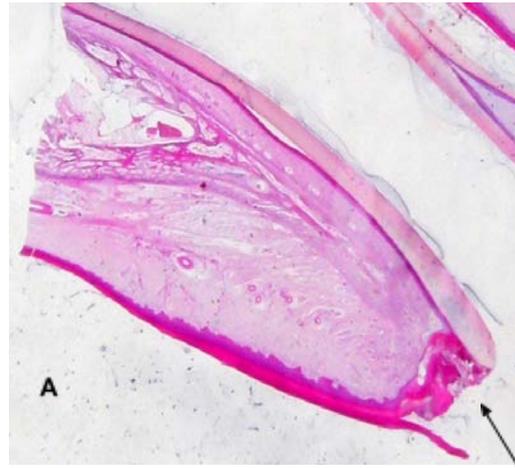
Gráfica 2. Longitud de valva inferior de los pavos a la semana 14 semanas de vida.

Histopatología del pico

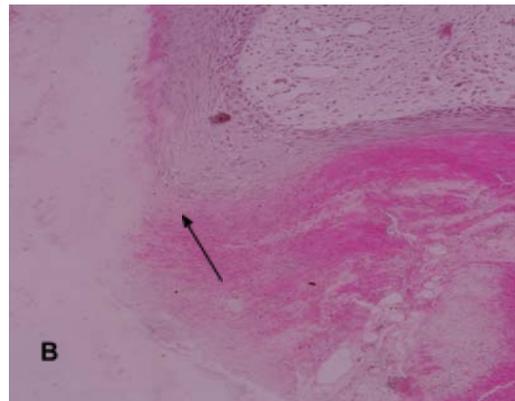
Tabla 5. Descripciones microscópicas e imágenes de tratamientos de pico a las 5, 7, y 14 semanas.

Pico tratamiento mecánico: 5 semanas de edad

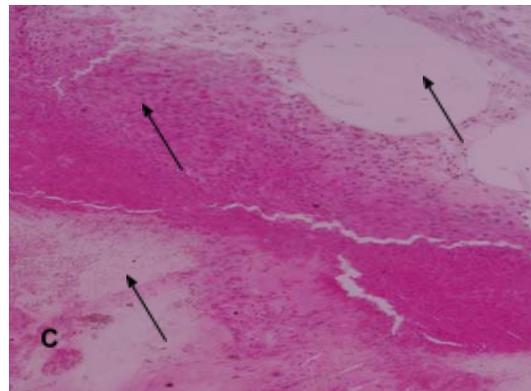
Se observa en la porción apical podemos encontrar desorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, con presencia de zonas difusas de inflamación severa y edematización, en estas zonas se encontró detritos celulares, eritrocitos y hemoglobina disuelta; además, se pueden apreciar vasos sanguíneos con distribución difusa congestionados, con respuesta linfocítica y predominantemente heterofílica.



H.E. 2x



H.E. 10x

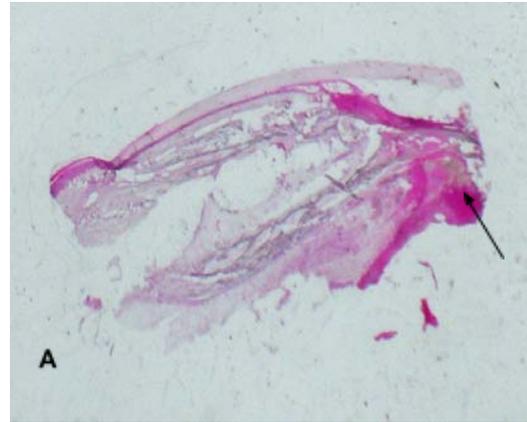


H.E. 10x

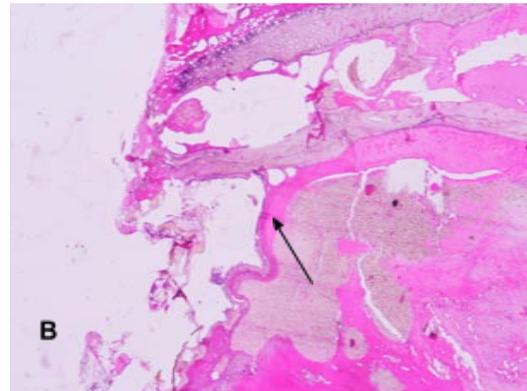
Pico tratamiento con cuchilla caliente: 5 semanas de edad

Se observa en la porción apical desorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, con zonas difusas de necrosis; además, acúmulos multifocales de eritrocitos lisados con procesos inflamatorios moderadamente heterófilos y con poca presencia de macrófagos en las zonas de lesión; también encontramos zonas difusas de necrosis de tejido calcificado.

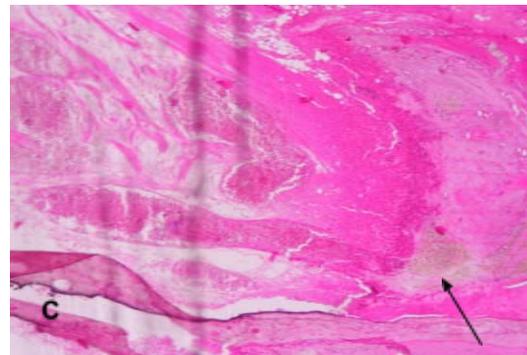
El grado de quemadura observado es de tercer grado. (i.e., es una lesión que afecta dermis, tejido subcutáneo y hueso Alfaro, 2003).



H.E. 2x



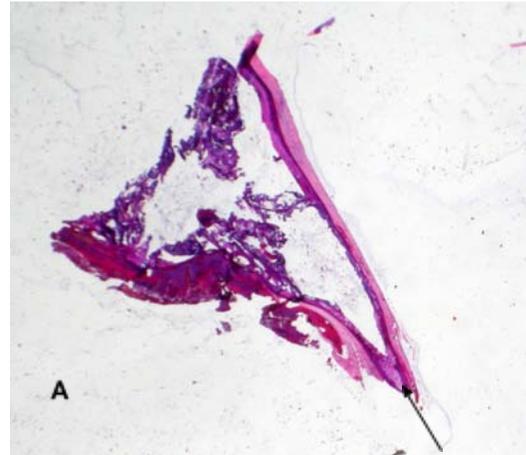
H.E. 10x



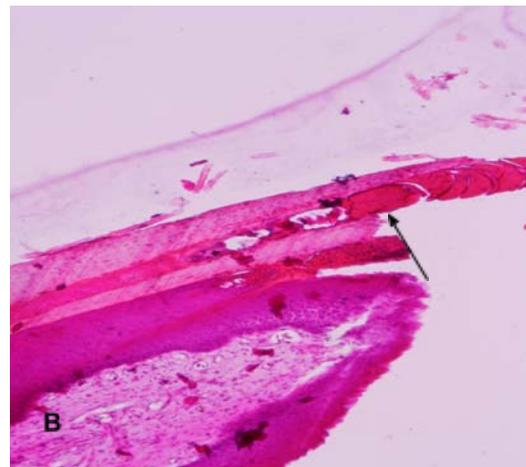
H.E. 10x

Picco tratamiento mecánico: 7 semanas de edad

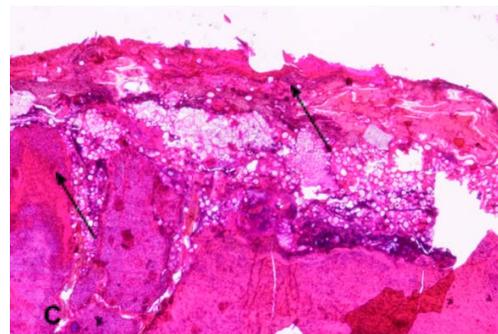
Se observa en la porción apical desorganización en los estratos basal, intermedio y córneo, a esto se asocian múltiples focos de queratina incompleta o bien fraccionada, también se pueden apreciar múltiples focos de necrosis con leve hemorragia y edematización difusa de grado moderado.



H.E. 2x

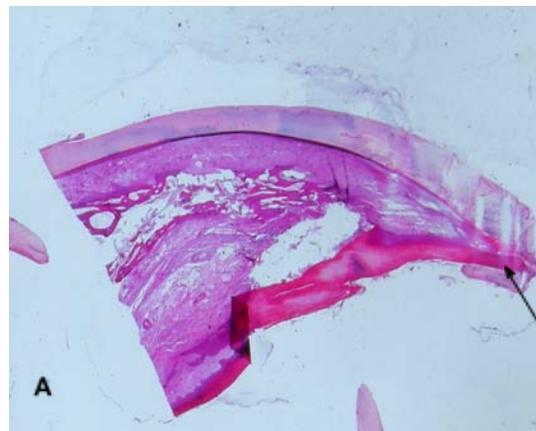


H.E. 10x

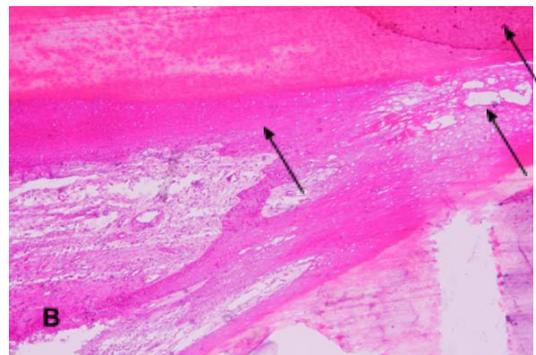


H.E. 10x

Se observa en la porción apical el reorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, donde encontramos queratina de grosor aparentemente normal, y, podemos encontrar tejido conectivo normal a lo largo del pico pero con leve edematización difusa. asociada a inflamación local por calcificación del cartílago del pico, lo cual es apreciable por la presencia múltiples focos difusos de acúmulos de calcio a lo largo del tejido.

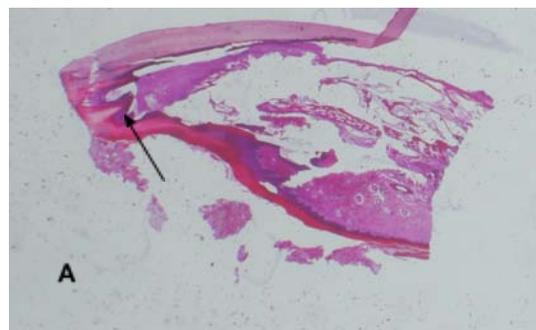


H.E. 2x



H.E. 10x

Se puede observar en la porción apical reorganización uniforme en los estratos basal, intermedio y córneo de zonas superficiales a profundas, podemos apreciar tejido conectivo sano, con lagunas cartilaginosas estables y bien constituidas; además. leve inflamación asociada a calcificación, donde se pueden apreciar múltiples focos difusos de calcio.



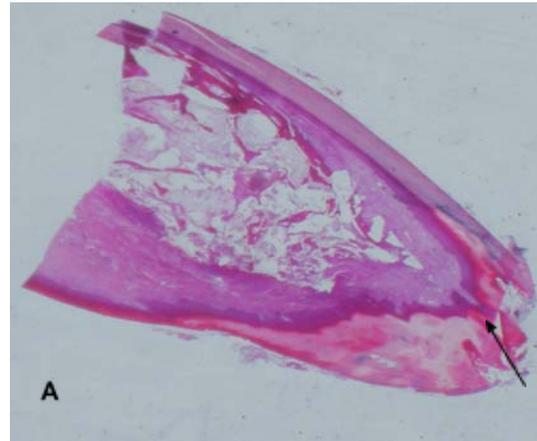
H.E. 2x



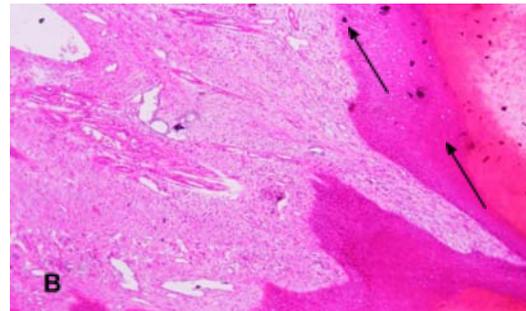
H.E. 10x

Pico tratamiento con cuchilla caliente: 7 semanas de edad.

Se puede observar en la porción apical reorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, con continuidad establecida de los mismos, pero, se puede apreciar un marcado engrosamiento del tejido córneo, además, podemos encontrar tejido de degranulación bien formado y se observa tejido conectivo bien formado con formación de acúmulos de calcio y promoción de cartílago.

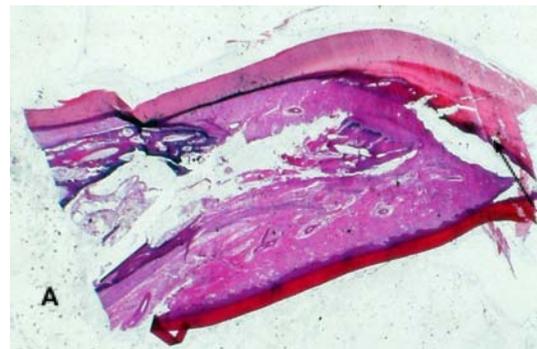


H.E. 2x



H.E. 10x

Se puede observar en la porción apical reorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, con la continuidad de los mismos restablecida, pero con una marcada cantidad de tejido cornificado.

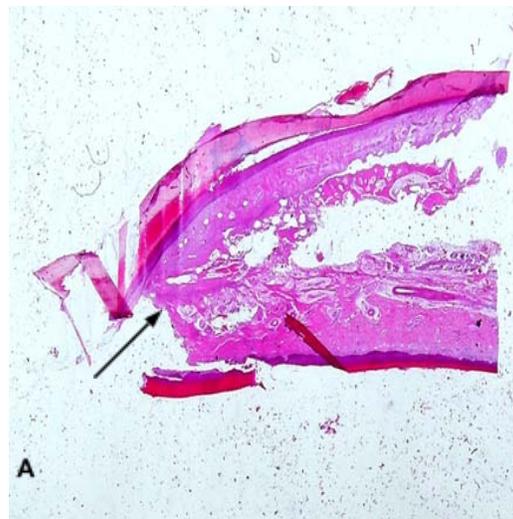


H.E. 2x

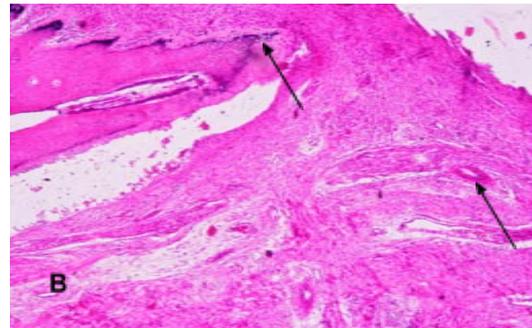


H.E. 10x

Se puede observar en la porción apical reorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, con continuidad completamente restablecida, también podemos observar tejido conectivo compacto con vasos sanguíneos de buen calibre y pequeños acúmulos de calcio que coinciden con el proceso de calcificación del tejido cartilaginoso.



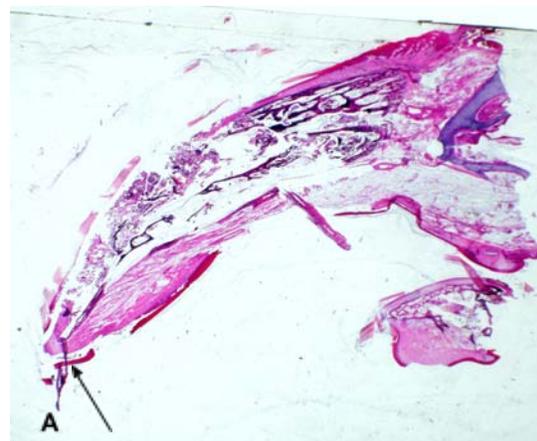
H.E. 2x



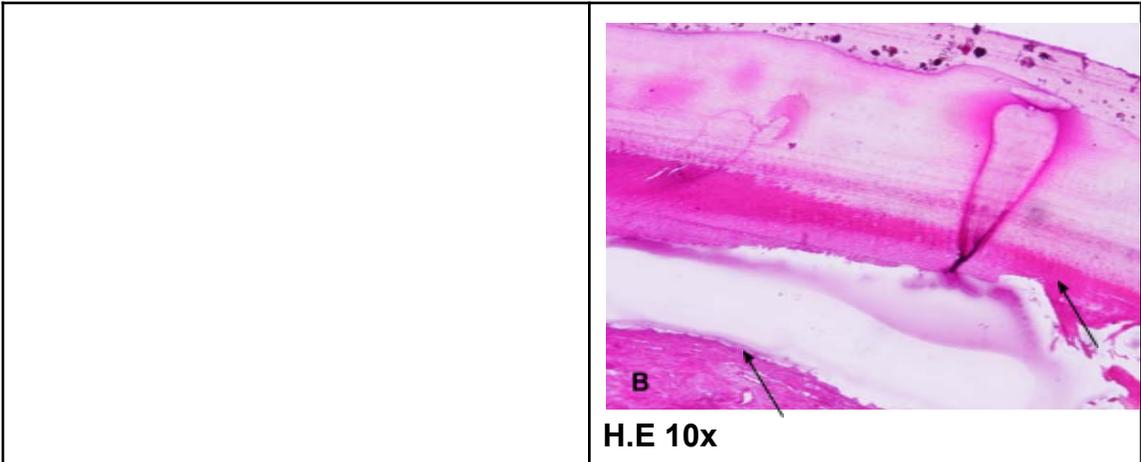
H.E. 10x

Pico tratamiento mecánico: 14 semanas de edad

Se puede observar en la porción apical reorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, teniendo densidad normal el estrato cornificado, además se puede encontrar cartílago bien organizado y funcional con osificación.

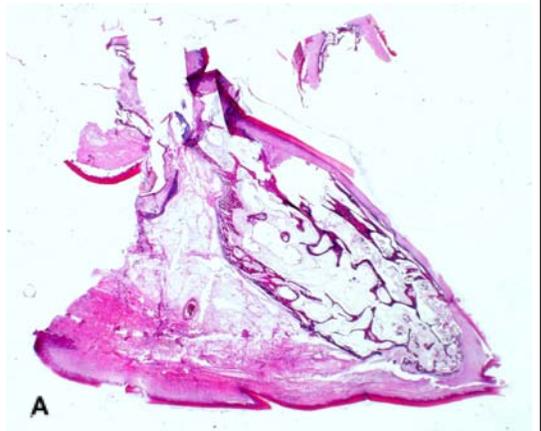


H.E. 2x

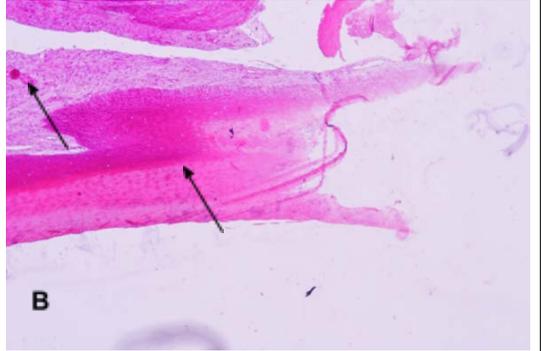


H.E 10x

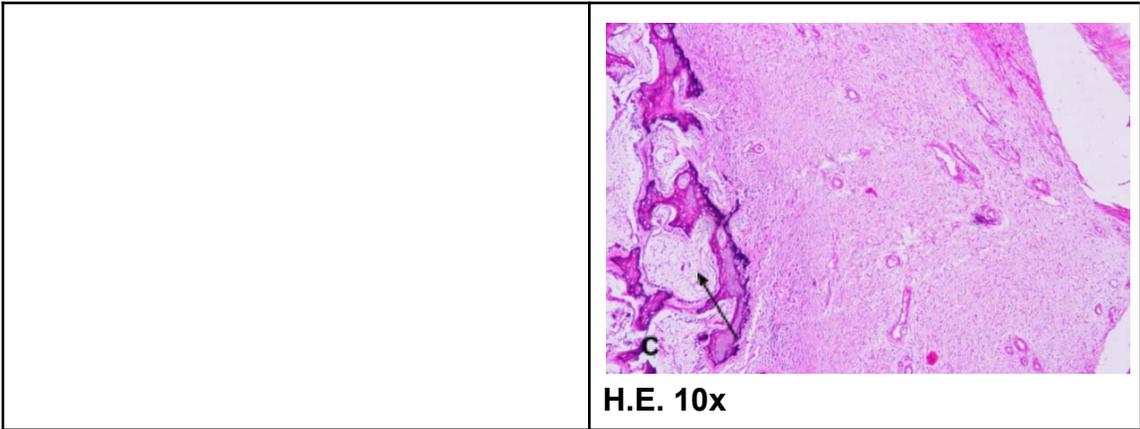
Se puede observar en la porción apical reorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, teniendo densidad normal en el tejido cornificado y tejido cartilaginoso bien organizado y funcional con insipiente osificación, además podemos encontrar focos de grasa normal entre los mismos.



H.E. 2x

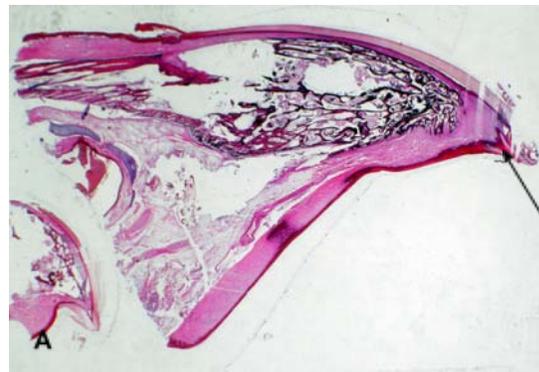


H.E.10x

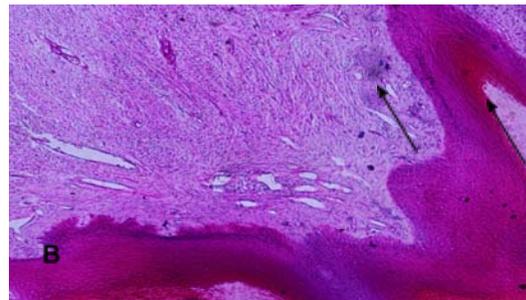


Pico tratamiento con cuchilla caliente: 14 semanas de edad

Se puede observar en la porción apical reorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, teniendo densidad levemente mayor de estrato cornificado, además de la formación de pedúnculos normales en la dermis; el tejido conectivo, cartilaginoso y tejido óseo con mejor organización y compactado.

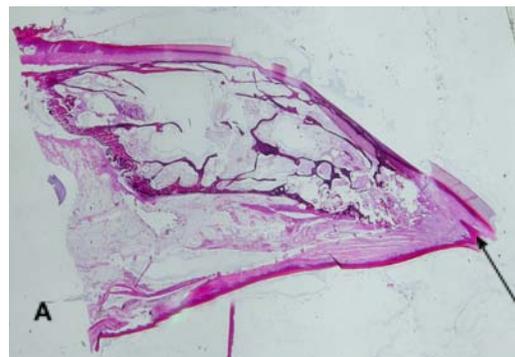


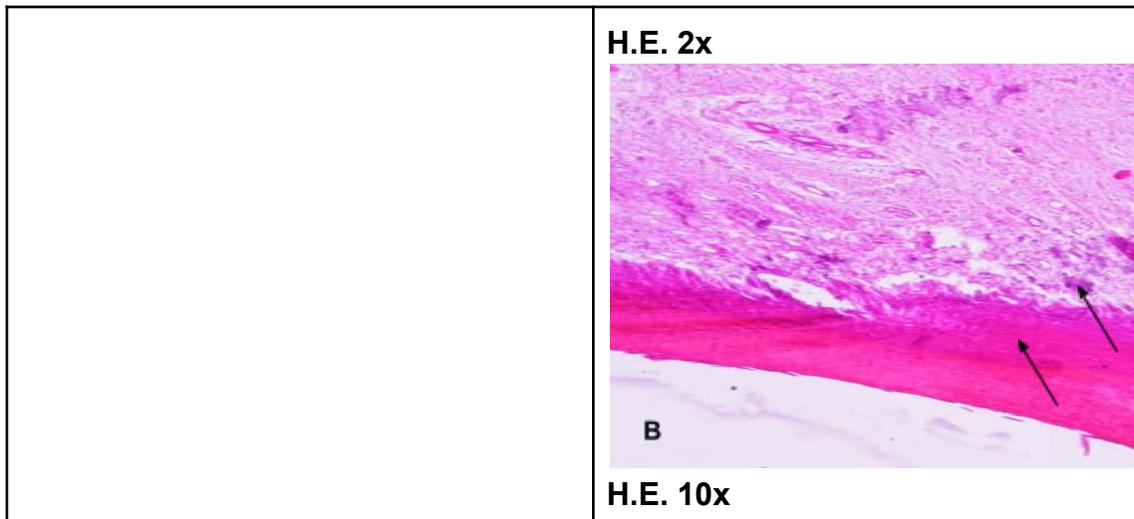
H.E. 2x



H.E. 10x

Se puede observar en la porción apical reorganización de los estratos basal, intermedio y córneo, con una densidad levemente mayor en el tejido cornificado, teniendo formación de pedúnculos normales la epidermis; el tejido conectivo, cartilaginoso y óseo se encuentra con mejor organización y compacto.





Estrés oxidante en plasma sanguíneo

Se observó un incremento significativo en la medición de GSH sanguíneo en todos los tratamientos entre la muestra basal y el Día 0, excepto en el tratamiento B en el que no se observó un incremento significativo. Entre el Día 0 y el Día 1 se observó un decremento significativo en los tratamientos C y D, mientras que el A y B permanecieron con mediciones similares. En el día Día 7 se reportó un aumento significativo en el tratamiento D, contrario al decremento significativo en el tratamiento A entre el Día 7 Y 1. No obstante, los resultados del Día 7 son similares a los de las muestras basales en todos los tratamientos. Los resultados de la prueba de GSH demostraron que los niveles de GSH son menores en concentración al Día 68 del tratamiento en comparación con los resultados de las otras tomas de muestra sanguínea (0.006835+/-0.00463 vs 0.022389+/-0.00117, 0.025372+/-0.00208, 0.021398+/-0.00209, 0.022723+/-0.00116; D 868 vs Basal, Día 0, Día 1, y Día 7 respectivamente). Cabe mencionar que el tratamiento B mantuvo valores similares en las mediciones de GSH a lo largo del experimento, excepto en el Día 68 en el cual disminuyó significativamente (<0.001).

Al Día 0 se observaron diferencias significativas entre los tratamientos A y C, donde C indicó mayores valores de GSH en comparación con A (0.021653+/-0.00105 vs 0.023126+/-0.00017; A vs C, respectivamente). No obstante, los tratamientos B y D presentan valores similares de GSH (0.023551+/-0.00065 vs 0.023126+/-0.00017; B vs D, respectivamente). Es decir, se observa un efecto de tratamiento con y sin suplemento entre los grupos A y C, mientras que B y D muestran un efecto similar del tratamiento de pico pero no asociado al suplemento. Se observó un efecto similar entre los grupos A y C al Día 1, pero los

tratamientos B y D demostraron diferencia en los valores de GSH donde el tratamiento D disminuye su valor de GSH comparado B y su valores de referencias de fechas previas. Finalmente, al Día 68 no se observaron diferencias entre los grupos A y B, mientras que sí hubo diferencias entre los grupos C y D.

Tabla 6. Promedio de relación μmol de GSH/mg de proteína en plasma en muestras Basal, Día 0, Día 1, Día 7, Día 68 de pavos bajo tratamientos de pico caliente y mecánico.

Tratamiento	Tiempo					Promedio por tratamiento	P por tratamiento
	Basal	Día 0	Día 1	Día 7	Día 68		
A	0.02165 3+/-0.00 105 ^{AX}	0.02371 2+/-0.00 049 ^{AY}	0.02413 8+/-0.00 069 ^{AY}	0.02268 6+/-0.00 094 ^X	0.00378 5+/-0.00 054 ^{ACZ}	0.02000 1+/-0.00 731	<0.001
B	0.02355 1+/-0.00 065 ^{BX}	0.02433 4+/-0.00 166 ^{AX}	0.02166 7+/-0.00 055 ^{BX}	0.02316 4+/-0.00 193 ^X	0.00250 7+/-0.00 061 ^{AY}	0.01904 5+/-0.00 86	<0.001
C	0.02312 6+/-0.00 017 ^{AX}	0.02806 1+/-0.00 122 ^{BY}	0.02088 +/-0.000 34 ^{BX}	0.02298 5+/-0.00 088 ^X	0.01341 7+/-0.00 244 ^{BZ}	0.02166 7+/-0.00 529	<0.001
D	0.02122 6+/-0.00 005 ^{AW}	0.02538 5+/-0.00 116 ^{ABX}	0.01877 8+/-0.00 029 ^{CY}	0.02212 1+/-0.00 058 ^W	0.00686 7+/-0.00 123 ^{CZ}	0.01853 3+/-0.00 656	<0.001
Promedio por fecha	0.02238 9+/-0.00 117	0.02537 2+/-0.00 208	0.02139 8+/-0.00 209	0.02272 3+/-0.00 116	0.00683 5+/-0.00 463		
P por fecha	0.00088 8	0.0017	0.00000 0120	0.66	0.00000 253		

Los superíndices A,B, C indican diferencia o similitud entre los resultados de los grupos por fecha de toma de muestra. (vertical)

Los superíndices W, X, Y, Z indican diferencia significativa o similitud entre los resultados de los grupos. (horizontal)

Se observó un incremento significativo en la concentración de MDA en los tratamientos A, C y D entre la muestra Basal y del Día 0, a excepción del B, donde se observa decremento en la concentración. Del Día 0 al 1 el tratamiento A tuvo un incremento significativo, mientras que los tratamientos B, C y D tuvieron decremento significativo. Entre el Día 1 y 7 se observó que el tratamiento A y C tuvieron un decremento significativo, regresando a niveles similares a la muestra basal, mientras que los tratamientos B y D tuvieron un aumento significativo, siendo el grupo D el de mayor concentración de MDA comparativamente. Entre los días 7 y 68 se observa una disminución significativa en los tratamientos B, C y D, regresando a niveles basales C y D, el tratamiento A se mantiene en niveles similares al Día 7, que de igual manera son valores similares al basal, mientras que el tratamiento D tuvo la concentración menor entre tratamientos en esta fecha y menor al valor basal del tratamiento.

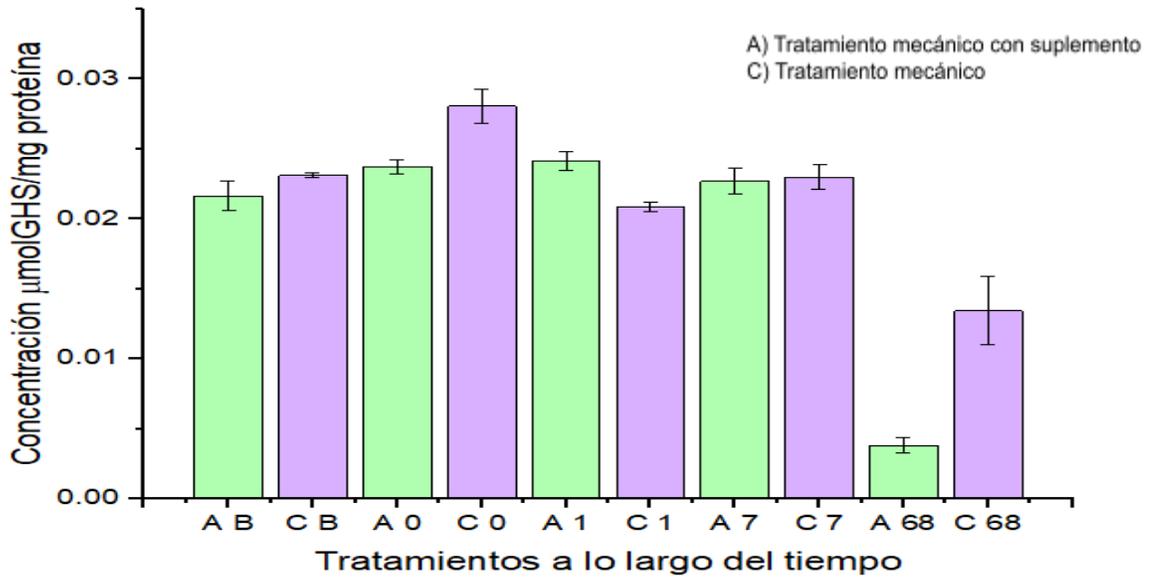
Al Día 0 se observaron valores similares entre los tratamientos A y C, mientras que el tratamiento D tuvo la mayor concentración. El Día 1 se observaron similitudes entre los tratamientos B, C y D, siendo A el tratamiento donde se encontró mayor concentración durante esta fecha. Al Día 7 los tratamientos A, B y C tienen valores similares entre sí, siendo el tratamiento D el de mayor concentración. Para el Día 68 los tratamientos A, C y D tuvieron niveles similares, mientras que B tuvo valor significativamente menor a los anteriores.

Tabla 7: Promedio de la relación nmol de MDA/mg de proteína en plasma en muestra Basal, Día 0, Día 1, Día 7, Día 68 de pavos bajo tratamientos de pico caliente y mecánico.

Tratamiento	Tiempo					Promedio por tratamiento	P por tratamiento
	Basal	Día 0	Día 1	Día 7	Día 68		
A	0.07195 +/-0.025 38 ^{AX}	0.36290 9+/-0.07 607 ^{AY}	1.53366 8+/-0.09 58 ^{AZ}	0.05990 3+/-0.01 029 ^{AX}	0.05636 +/-0.021 86 ^{AX}	0.4170+/- -0.58735	<0.001
B	0.14071 7+/-0.01 782 ^{BCX}	0.09972 1+/-0.02 913 ^{BX}	0.04695 +/-0.017 78 ^{BYZ}	0.08006 5+/-0.03 163 ^{AY}	0.02224 +/-0.013 6 ^{BZ}	0.0779+/- -0.04698	<0.001
C	0.22472 3+/-0.10 89 ^{BX}	0.45096 3+/-0.09 259 ^{AY}	0.04181 2+/-0.02 76 ^{BZ}	0.09106 +/-0.030 88 ^{AXZ}	0.08564 +/-0.009 3 ^{AX}	0.1764+/- -0.16632	<0.001
D	0.05441 8+/-0.03 085 ^{CX}	0.93036 6+/-0.04 494 ^{CY}	0.09931 8+/-0.01 266 ^{Bx}	1.16184 +/-0.089 39 ^{BZ}	0.06180 +/-0.009 89 ^{AX}	0.4615+/- -0.49744	<0.001
Promedio por fecha	0.11617 +/-0.080 31	0.46099 +/-0.315 58	0.43044 +/-0.659 83	0.34822 +/-0.487 36	0.05651 +/-0.026 77		
P por fecha	0.00507	0.00000 0000495	0.00000 0000000 0351	0.00000 0000000 00107	0.0018		

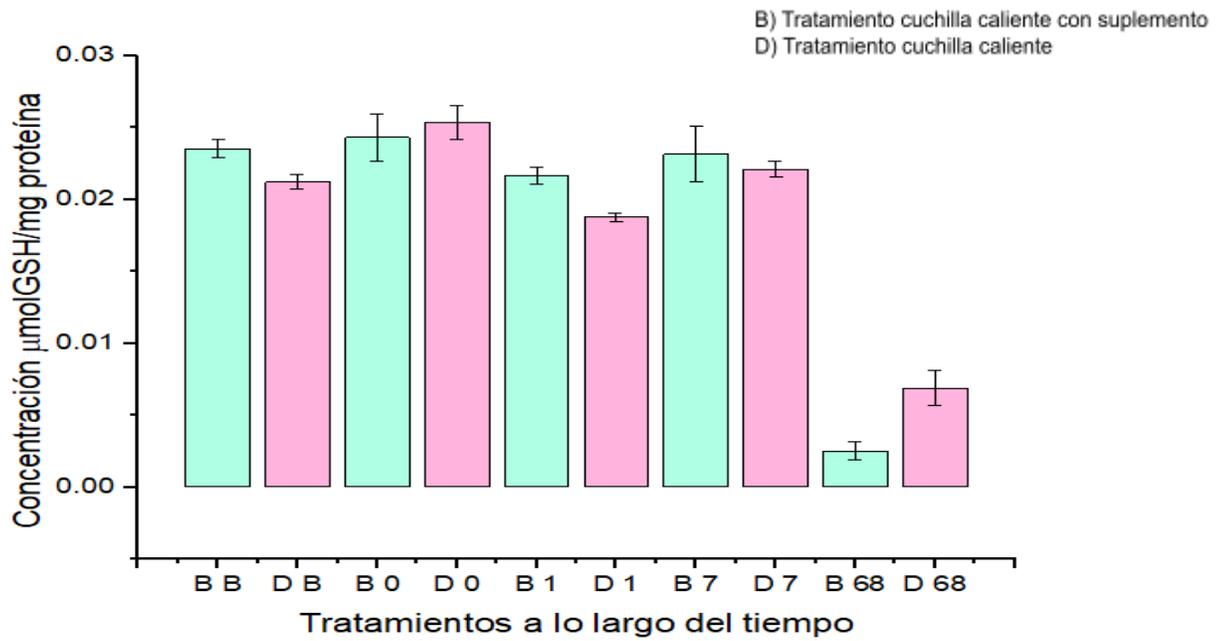
Los superíndices A,B, C indican diferencia o similitud entre los resultados de los grupos por fecha de toma de muestra.

Los superíndices X, Y, Z indican diferencia significativa o similitud entre los resultados de los grupos



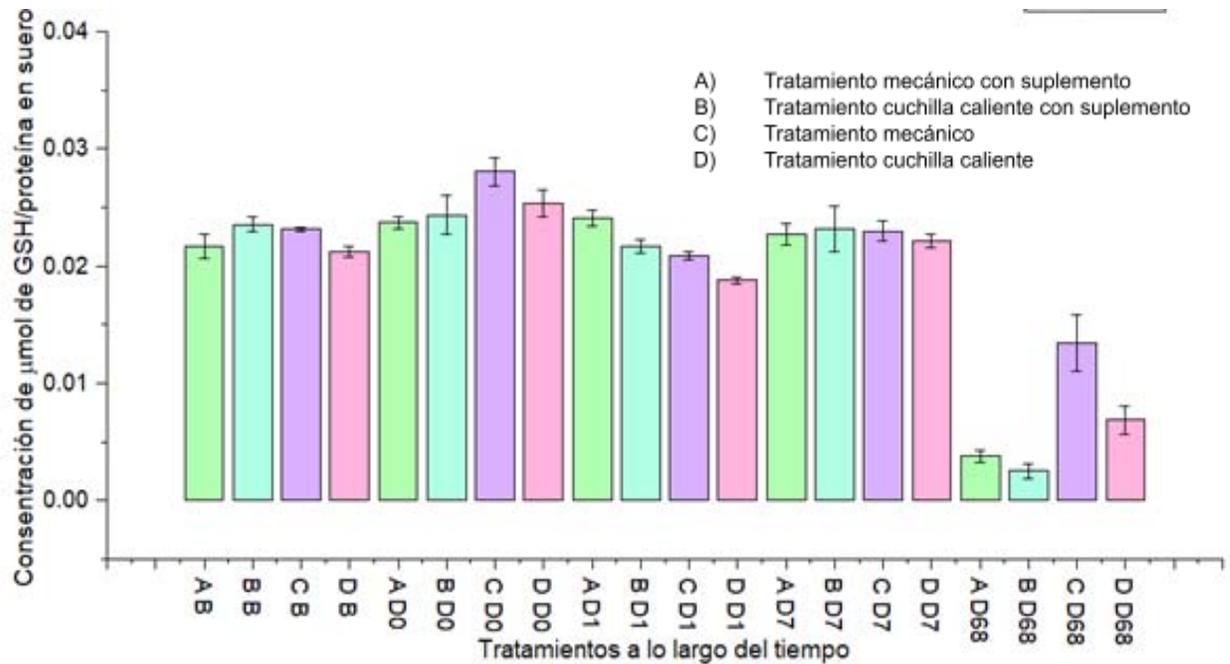
*B = basal, 0 = Día 0, 1 = Día 1, 7 = Día 7 y 68 = Día 68.

Gráfica 3: Concentración de $\mu\text{mol GSH/mg}$ de proteína de los grupos A y C.



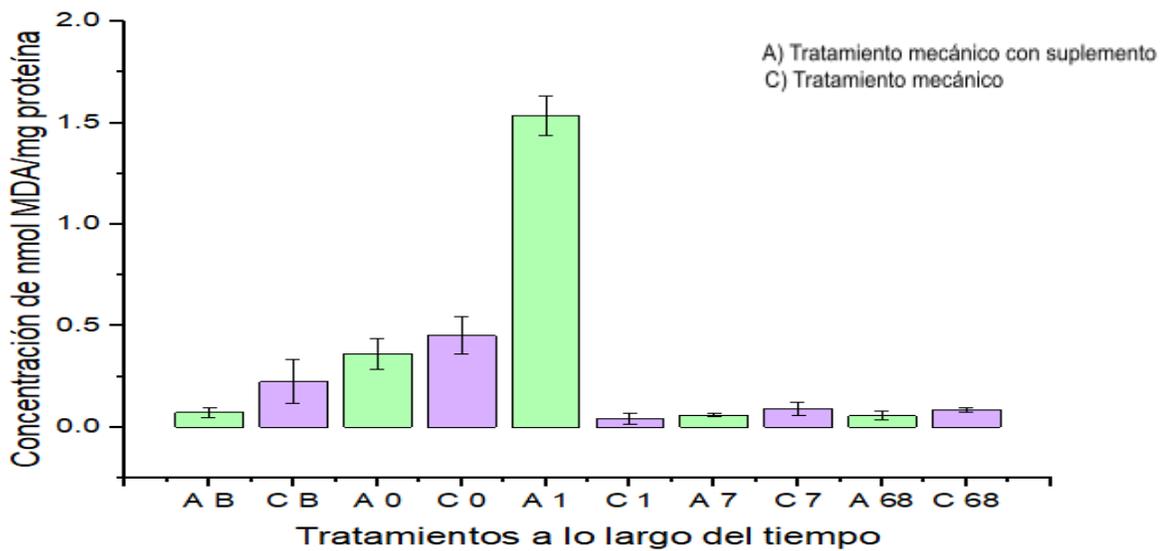
*B = basal, 0 = Día 0, 1 = Día 1, 7 = Día 7 y 68 = Día 68.

Gráfica 4: Concentración de $\mu\text{mol GSH/mg}$ de proteína de los grupos B y D.



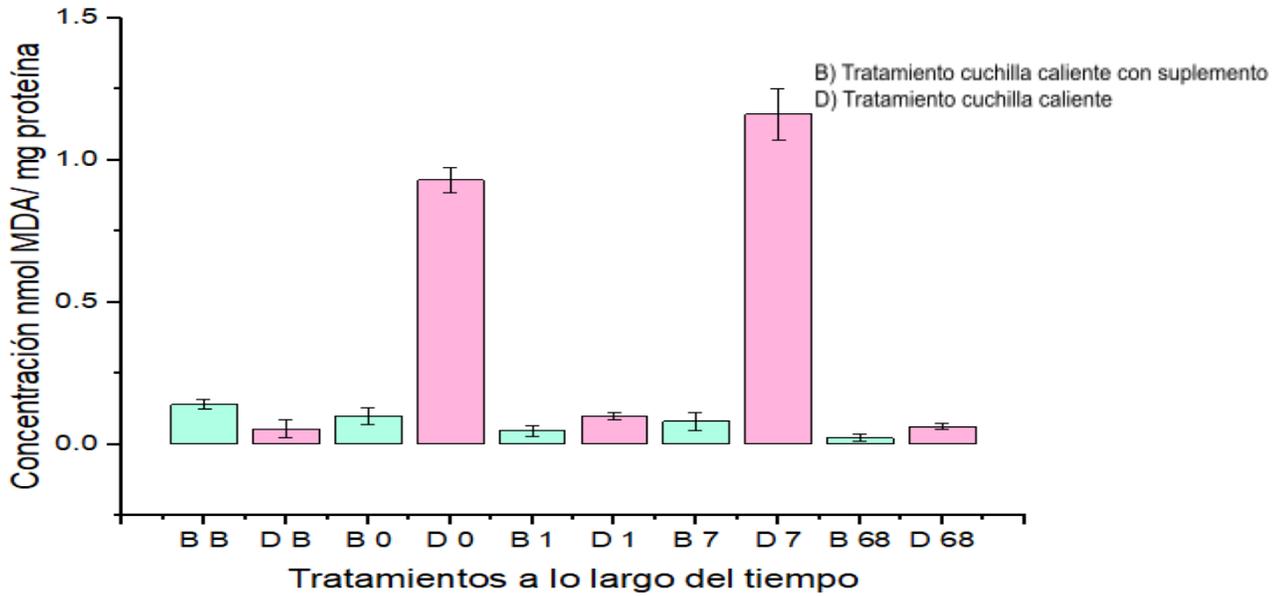
*B = basal, 0 = Día 0, 1 = Día 1, 7 = Día 7 y 68 = Día 68.

Gráfica 5: Concentración de μmol de GSH/mg proteína por tratamiento a lo largo del tiempo.



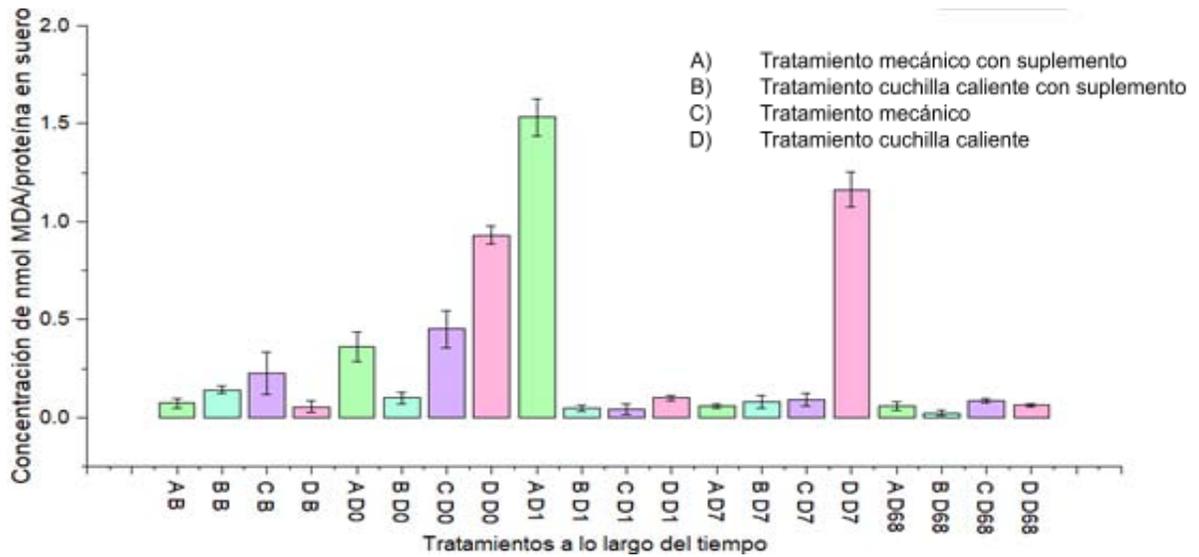
*B = basal, 0 = Día 0, 1 = Día 1, 7 = Día 7 y 68 = Día 68.

Gráfica 6: Concentración de nmol MDA/mg de proteína de los grupos A y C.



*B = basal, 0 = Día 0, 1 = Día 1, 7 = Día 7 y 68 = Día 68.

Gráfica 7: Concentración de nmol MDA/mg de proteína de los grupos B y D.



*B = basal, 0 = Día 0, 1 = Día 1, 7 = Día 7 y 68 = Día 68.

Gráfica 8: Concentración de nmol de MDA/mg proteína por tratamiento a lo largo del tiempo.

8.0 Discusión

La hipótesis del estudio se cumplió ya que se observó que el uso de diferentes métodos de tratamientos de picos tuvo diferentes respuestas fisiopatológicas dependiente del método de corte de pico. El tratamiento de pico es controversial debido a las lesiones que ocasiona a corto y largo plazo que incluyen desde cambios de comportamientos (Glatz, 2021) (Damme y Urselmans, 2013) (Kuenzel 2007), cambios fisiológicos (Damme y Urselmans, 2013) (Glatz 2003) y productivos (Damme y Urselmans, 2013) (Gentle y McKeegan, 2007) (Bourke 2002) (Lunam y Glatz, 1993). En aves de producción se pueden encontrar los primeros reportes de su uso desde el año 1930 en la estación experimental de Ohio (Bolarinwa, 2017) y, se sigue empleando en la actualidad en pavos. No obstante, las referencias y recomendaciones para su uso en pavos son menores comparados con lo reportado para gallinas comerciales. Una posible causa por esta diferencia de información reportada puede ser el número de animales producidos que tienen que ser sometidos a dichos tratamientos. En México, para el año 2020 se reportó que la cantidad de aves de postura y engorda es de 591,595,926 aves (SIAP, 2022), mientras que la población nacional de pavos es de 3,756,962 (SIAP, 2022). No obstante, a pesar de las diferencias entre especies, los efectos tisulares, conductuales y productivos pueden ser comparables entre las gallinas de postura y los pavos de engorda que pasan por este tratamiento. Los hallazgos de este proyecto serán discutidos según el tipo de análisis histológico o bioquímico realizado.

Cambios tisulares

Los cambios tisulares en los picos fueron significativos entre tratamientos solo macroscópicamente no tanto así microscópicamente. El principal cambio macroscópico fue el tamaño de la valva superior debido al tratamiento, donde el tratamiento B (cuchilla caliente y suplemento) y D (cuchilla caliente) presentaron menor tamaño comparado con el tratamiento A (tratamiento mecánico y suplemento) y C (tratamiento mecánico). Esto es similar a lo reportado por Gentle *et. al.*, 1997, en gallinas de postura; mientras que mientras que Struthers, 2022 reporta edematización y hemorragias en por detrás de la línea de corte, además de crecimiento de epitelio sano para el día 15 post tratamiento, esto en pavos tratados con infrarrojo como método de despique, lo cual, es similar a lo observado con el tratamiento con cuchilla caliente, siendo una recuperación rápida con pocos daños a largo plazo.

La causa biológica detrás de la diferencia del tamaño de picos es porque al utilizar el tratamiento de cuchilla caliente se ocasiona una quemadura que atraviesa los estratos córneo, epidermis, dermis y hueso del pico. Una quemadura se define como una lesión en un tejido vivo provocados por agentes físicos (electricidad, superficies calientes y/o radiantes), químicos y biológicos; que provocan alteraciones funcionales reversibles, hasta, destrucción tisular irreversible (Castillo, 2003). Aunado a esto, las quemaduras pueden ser clasificadas en primer, segundo y tercer grado según la profundidad de la misma. Los daños observados en las laminillas de las valvas superiores podemos clasificar a la lesión ocasionada por el tratamiento con cuchilla caliente como una quemadura de tercer grado, ya que, se observa daño por la cuchilla caliente hasta el hueso de la valva, lo que concuerda con la clasificación dada por Alfaro, 2003, donde argumenta que una quemadura de tercer grado es aquella donde el daño tisular abarca desde las capas exteriores de la piel, pasando por dermis, músculo, hueso e inclusive puede dañar estructuras aledañas a la zona de contacto.

Mientras que el daño ocasionado por el tratamiento mecánico abarca estos mismos estratos, pero, no ocurre daño a estructuras aledañas, o mejor dicho, el daño ocasionado por la cuchilla solo se limita a la línea de corte inicial; esto es observable en las laminillas de las valvas con tratamiento mecánico; esto concuerda con lo que menciona la AVMA, 2017, donde se hace mención a que el tratamiento mecánico no produce daños tisulares secundarios por el mismo, a diferencia del tratamiento con cuchilla caliente, el cual genera daños por la temperatura a una profundidad variable según esta.

Comparando las medidas de los picos a la semana 14 de vida entre tratamiento con cuchilla caliente y suplemento vitamínico, tratamiento mecánico y suplemento vitamínico, cuchilla caliente y tratamiento mecánico hubo diferencia significativa entre tratamientos de cuchilla caliente y suplemento, cuchilla caliente y tratamiento mecánico, aunque el tratamiento mecánico también tiene longitud ligeramente mayor que los tratamientos con cuchilla caliente, pero no fue estadísticamente significativa; estas diferencias de tamaño concuerdan con lo mencionado por la AVMA, 2017 y Gentle *et. al.*, 1997, donde se menciona esta diferencia de tamaños en los tratamientos.

Al observar las laminillas de la semana de vida 5, 7 y 14 con tratamiento mecánico se puede apreciar que la epidermis se regenera a su estado normal con el paso del tiempo, con la excepción de que a la semana 7 se seguía presentando edematización en el tejido, cosa que no se observó en picos tratados con cuchilla caliente, pero, el orden normal de las capas y comienza a crecer nuevamente hasta llegar a su forma original la capa córnea, esto concuerda con lo mencionado por la AVMA, 2017 en aves de postura, donde se menciona que a los 21 días el

pico ya se encuentra con una regeneración completa y a los 42 días regresa a su crecimiento normal.

Para los picos con tratamiento con cuchilla caliente se observaron en las laminillas de la semana de vida 5, 7 y 14 que no se observa hemorragia a la semana post tratamiento, pero a lo largo del proceso de regeneración la epidermis, más específicamente el estrato córneo se observa ligeramente engrosada, lo cual concuerda con el estudio realizado por Gentle *et. al.*, 1997, donde observaron los cambios histológicos en pollitas. En la cuestión de la regeneración de pico, se pudo apreciar que las valvas con tratamiento de cuchilla caliente tuvieron una regeneración relativamente más rápida en comparación con las valvas a las que se les practicó tratamiento con cuchilla mecánica, pero, a la semana 14 de vida no se encuentran lesiones y el pico parece haber sanado del todo.

Cambios de estrés oxidante

De igual manera, para el estudio del estrés oxidante, se cumplió el objetivo ya que se observó que diferentes tratamientos de pico desencadenaron diferentes respuestas dependiendo del método, aunado a esto, se observaron los efectos antioxidantes al usar un suplemento vitamínico en células sanguíneas. Se ha estudiado con anterioridad el estrés oxidante en el pollo de engorda (Smitzis, 2012) y en gallinas de postura (Milone, 2009), así mismo, se ha utilizado para medir factores de estrés agudo como lo es el estrés por temperatura en varias especies tales como cerdos, aves de postura y engorde (Huerta, 2005). Pero, en cuestión de despique y en pavos no se habían estudiado con anterioridad estos marcadores de estrés agudo.

Aunado a esto hay reportes del uso de antioxidantes, en este caso el suplemento con vitamina C, ha sido reportado para disminuir los efectos de estrés por calor en codornices en postura (Vela, 2020), mientras que en pavos se ha utilizado como un estimulante del sistema inmune, disminuye el porcentaje de mortalidad bajo condiciones de hipoxia (Paredes, 2020); y, en pollitas se ha reportado que ayuda a disminuir el estrés causado por el proceso de despique (Pisa Agropecuaria, 2021), pero, no se ha estudiado el efecto de la suplementación en pavos sometidos a este tratamiento.

Los cambios en concentraciones de indicadores de estrés oxidante en plasma fueron significativos entre tratamientos y entre grupos suplementados;

El aumento observado del día 0 al día del tratamiento en la concentración de GSH en los grupos C y D corresponde al daño tisular a causa del tratamiento. Mientras que, los grupos A y B no presentaron aumentos estadísticamente significativos entre el día 0 y el día 1 post tratamiento, esto es probablemente causado por la

acción de la vitamina C, Zamora, 2007, hace mención a que ésta retrasa la producción de radicales libres en el organismo, es decir, en los grupos suplementados pudo haber ocurrido una menor producción de radicales libres, con lo cual los niveles de GSH no tuvieron un aumento significativo. Para los grupos C y D, del día 0 al día 1 se observó una disminución estadísticamente significativa debido a una mayor acción de los EROS, como lo menciona Smitzis, 2012, en un estudio realizado en aves de engorda, donde encontró que los niveles de GSH disminuyen cuando hay mayor concentración de EROS en el organismo.

El decremento en el nivel de GSH del día 1 al día 7 en los grupos A, C y D, indica que la GSH está teniendo efecto sobre la producción de EROS, como lo menciona Gonzales, 2019, donde explique que los niveles de GSH disminuyen en función de la actividad que realizan inhibiendo a los EROS, teniendo entonces una correlación de disminución de GSH si hay un aumento en la producción de EROS.

En el caso del aumento de niveles plasmáticos de MDA en las muestras durante el tratamiento corresponden al daño tisular ocasionado por los mismos, Bermudez *et al.* 2008, mencionan que el MDA es un indicador no solo de lipoperoxidación en membranas celulares y de tejidos, sino también lo cataloga como un indicador directo de daño tisular. Esto quiere decir que el aumento encontrado del día de muestra basal con el día 0 está relacionado con el daño ocasionado por el tratamiento; exceptuando al grupo B, donde no se observó aumento estadísticamente significativo en este lapso de tiempo.

Mientras que, el proceso de cauterización provoca daño directo sobre los lípidos de la piel y de las membranas celulares (Miquet, 2017), aunado a los EROS producidos por el tratamiento generan que el grupo con niveles más elevados de MDA sea el grupo D, al que solo se le realizó tratamiento con cuchilla caliente sin suplemento.

Por otro lado, el grupo B presentó niveles menores de MDA en comparación con el grupo D, ya que, Mayor, 2010, menciona que hay una disminución en la producción de EROS al suplementar con vitamina C, con lo cual hay menor daño por lipoperoxidación en las membranas celulares y tejidos. Por tanto, los niveles de MDA en los grupos A y B no presentan diferencias estadísticamente significativas entre la muestra basal y el día 0.

Para los resultados del día 7 tratamiento D encontramos que la barra de concentración de MDA tiene un aumento anómalo en comparación con el resto de tratamientos, esto lo atribuimos a hemólisis en la muestra debido a que el rango de absorbancia que se usa para la medición de MDA, 540 nm, es el mismo que Aguilar, 2019, en su estudio para medir hemólisis inducida en eritrocitos, aunque

hay otros estudios que indican que la hemólisis se puede detectar desde los 450 nm (Rosa *et al.* 2020).

En cuanto a los efectos del ácido acetoxibenzoico, no se han realizado estudios sobre el efecto de los AINEs en biomarcadores de estrés oxidante. Pero, tomando en cuenta el mecanismo de acción sobre las ciclooxigenasas y que estas son mediadores de inflamación, ya que estimulan la producción de prostaglandinas en respuesta a agresión o lesiones tisulares, que a su vez estimulan la liberación de otros mediadores de inflamación como la histamina y bradiquinina en la zona de la lesión (Chilquillo, 2017), debido a esto y a que estudios como el de Fernández 2009 hace mención de los efectos de la ciclooxigenasas sobre lipoperoxidación de membranas y daño tisular relacionado a estrés oxidante, podemos intuir que el ácido acetoxibenzoico contribuye a disminuirlo; no obstante, tomando en cuenta que la concentración en plasma máxima del del ácido acetoxibenzoico es de 2 minutos a 2 horas y la vida media es de 2 a 3 horas antes de su excreción renal (Molina, 2013) y que la última vez que se les suplementó a los pavos con esto fue más de 12 horas antes del tratamiento de pico podemos concluir que no había concentración suficiente en plasma para llevar a cabo la función inhibitoria de las ciclooxigenasas, y por tanto, no influyó en las mediciones de biomarcadores de estrés oxidante.

9.0 Conclusiones

Tomando en cuenta las variaciones en los niveles de GSH de los diferentes tratamientos, la medida de las valvas superiores y los daños observados a lo largo del tiempo en cortes histológicos de las valvas podemos concluir que el método de despique que menos estrés oxidante causa en pavos es el tratamiento de cuchilla caliente con suplemento vitamínico, ya que la concentración de GSH se mantuvo con niveles estables a lo largo del tiempo de tratamiento y días después, llegando a disminuir, de igual manera la lipoperoxidación detectada con la prueba de TBARs en niveles de MDA fue menor; de igual forma, esto nos da indicios de que el suplementar con vitamina C resulta útil para reducir los efectos tisulares del estrés oxidante, aún y cuando el efecto del AINE no esté presente por el tiempo de metabolización del mismo. De igual, forma el tamaño de la valva superior fue estadísticamente menor con este tratamiento con o sin vitamina, lo que tiene beneficios en cuestiones de reducción de mortalidad por canibalismo; y los daños a nivel tisular fueron menores a lo largo del tiempo con el tratamiento con cuchilla caliente en comparación con el tratamiento mecánico, donde se observó mejor acomodo de las capas de la epidermis y mejor organización en tejido conectivo y cartilaginoso a la 14 semanas de vida de los pavos.

Estos hallazgos nos ayudará a en un futuro tomar mejores decisiones a nivel de producciones pequeñas y medianas sobre el método de tratamiento de pico a aplicar en pavos y el suplementar a los mismos previamente con vitaminas y antioxidantes con el fin de minimizar el daño tisular ocasionado por RL sobre los tejidos afectados y mantener así el bienestar en los mismos.

En cuestión del efecto de los AINES sobre el estrés oxidante se requiere de mayor estudio tomando en cuenta los tiempos que tardan en ser metabolizados y excretados por las aves.

10.0 Referencias

- Alfaro, M. (2003). Quemaduras. Hospital San Juan de Dios. Costa Rica.
- Aguilar, J. (2019). Estudio del potencial efecto protector de metabolitos intracelulares de *Lactobacillus casei* CRL 431 contra el estrés oxidativo inducido por aflatoxina B1. Tesis Aprobada por la Coordinación de Tecnología en Alimentos de Origen Animal como Requisito Parcial para Obtener el Grado Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo. Sonora. México.
- AVMA, (2017). Literature Review on the Welfare Implications of Beak Trimming.
- Baumel, J. (1993), Handbook Of Avian Anatomy: Nomina Anatomica Avium, Second Edition, Cambridge, Massachusetts.
- Barrio, J., Gacía M., Ruiz I., Aree A., (2006). El estrés como respuesta. International Journal of Developmental and Educational Psychology. Vol. 1 No. 1. Badajoz. España. 37-48.
- Bermudez, V., Urribarri, J., Colmenares, C., Acosta, L., Rincón, L., Cacín, M., Vilorio, A., Amell, A., Nuñez, M., Souki, A. Swift, H. Pérez, A., Mayerlim, C., (2008). Estudio exploratorio del comportamiento del perfil lipídico, malondialdehído y óxido nítrico en individuos de la etnia Yukpa del estado Zulia, Venezuela. Revista Latinoamericana de Hipertensión. Vol. 3. No 5.
- Bolarinwa, M. (2017). Comparative performance and hematological profile of cockerel chickens debeaked at variable length and different ages. Nigerian Journal of Animal Production. Vol. 44. No. 3.
- Bonetto, T. (2020). Producción de Ácido acetilsalicílico. Proyecto Final de Grado de Ingeniería Química. Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional de Villa Maria. Argentina.
- Bourke, M. (2002) Beak-trimming training manual, Publication No 02/092, Rural Industries Research and Development Corporation, Kingston, Australia.
- Cantaro, H. (2010). Cría y engorde de pavos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle. Centro Regional Patagonia Norte. Material elaborado para el Curso de cría y engorde de pavos híbridos. Argentina.
- Carbajal, C. (2019). Especies Reactivas de Oxígeno: Formación, Función y Estrés Oxidativo. Medicina Legal de Costa Rica. Vol. 36. No. 1.

- Castillo, E. (2019). Vitamina C en la Salud y en la Enfermedad. Revista de la Facultad de Medicina Humana. Volumen 19. Número 4. Lima. Perú. 95-100
- Castillo, P. (2003). Quemaduras. Conceptos para el Médico General. Artículo de Actualización. Cuad. Cir. No 17.
- CEDRSSA, (2019). Reporte. La Importancia de la Industria Avícola en México. Palacio Legislativo de San Lázaro. Ciudad de México. 4
- Chiappe, L. (1992). Osteología y sistemática de *Patagopteryx Deferrariisi* Alaverenga y Bonaparte, (aves), del cretácico de Patagonia: filogenia e historia biogeográfica de las aves cretácicas de América del Sur. Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires. Universidad Nacional de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires, Argentina.
- Chilquillo, H. (2017). Efecto Antiinflamatorio, Analgésico y Antioxidante del Extracto Hidroalcohólico de las Hojas de *Senecio Canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. "vira-vira". Tesis para Obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. E.A.P de Farmacia y Bioquímica. Lima. Perú.
- COMECARNE, (2021). Compendio Estadístico 2021. Disponible en: <https://comecarne.org/compendio-estadistico-2021/> Visitado en Enero 2022.
- Concepción, A. (2021). Evaluación de los Índices Productivos de tres Líneas Genéticas de Pavos de Carne en Condiciones Comerciales. Tesis Para Obtener el Título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Zootecnia. Lima. Perú. 2-5.
- Damme, K. Urselmans, S. (2013). Infrared beak treatment - a temporary solution?. Lohmann Information. Vol. 48. No. 2. 36
- Duarte, A. (2015). Historia de la Histología. Rev. Med. Hondur. Vol. 83. No. 1 y 2.
- Fernández, J. (2009). Estrés Oxidativo Inducido por el Ejercicio. Revista Andaluza de Medicina y Deporte. Vol. 2. No. 1.
- Fernández, J. Camacho, J. Cañedo, A. (2004). Tratamiento de los Neuromas Dolorosos de la Mano y del Antebrazo. Trabajo de Investigación. Anales Medicos. Volumen 49. Número 3. 109-116.

- Flores, O. Ramirez, K. Meza, J. Nava, J. (2014). Fisiología de la coagulación. Revista Mexicana de Anestesiología. Volumen 37. Suplemento 2. S383-S386.
- Gentle, M. Hughes, O. Fox, A. Waddington, D. (1997). Behavioral and Anatomical Consequences of two Beak Trimming Methods in 1-and 10-d-old Domestic Chicks. British Poultry Science. Vol. 38. No 5.
- Gentle, M., McKeegan D. (2007) Evaluación de los efectos del corte de pico IR en pollos reproductores de pollos de engorde. Registro Veterinario. 160.
- Giraldo, C. (2011). El Nacimiento de la Patología y su Desarrollo en la Región. Revista CES Medicina. Vol 25. No. 2 Universidad CES. Medellín. Colombia.
- Glatz, P (2003) Los efectos de la longitud y la condición del pico en el consumo de alimentos y el comportamiento alimentario de las gallinas. Revista internacional de ciencia avícola. Vol. 2. No.1.
- Glatz, P. (2021). Current methods and techniques of beak trimming laying hens, welfare issues and alternative approaches. Animal Production Science. No 61. CSIRO Publishing.
- Gómez, L. (2007). ERO y Señalización. Radicales Libres y Estrés Oxidativo. Aplicaciones Medicas. Edición 1. Manual Moderno.
- González, F. (2020). Enriquecimiento ambiental y área de libre acceso en la engorda de pavos y sus repercusiones sobre el bienestar y comportamiento productivo. Tesis para obtener el grado de Maestro en ciencias en Producción Pecuaria Tropical. Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Conkal. Conkal. Yucatán. México.
- González, I. (2019). Biomarcadores del Estrés Oxidativo y Capacidad Antioxidante en el Paciente con Hipertrofia Cardíaca: Estudio Observacional. Tesis Doctoral. Memoria para Optar al Grado de Doctor. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina. Madrid. España. 52-57
- González, N. (2014). Histología de las Aves. Universidad Nacional de La Plata. Editorial de la Universidad de La Plata. Buenos Aires. Argentina. 31-32
- Grimaldo, F. (2017). Fisiología de la Hemostasia. Revista Mexicana de Anestesiología. Volumen 40. Suplemento 2. S398
- Guzmán, A. Pacheco V. (2021). Efecto de la Suplementación con Selenio sobre Biomarcadores de Estrés Oxidativo en Plasma y Eritrocitos de Cabras antes y Después del Parto. Tesis para Obtener el Título de Médico Veterinario

- Zootecnista. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Cuautitlán Izcalli. Estado de México.
- Horst, E. (2016). Anatomía Aviar. Libro de Texto y Atlas en Color. 5m Publishing. Sheffield. Reino Unido.
- Huerta, M. (2005). Estrés Oxidativo y Antioxidantes en Animales Domésticos. Interciencia. Vol. 30. No. 12. Caracas. Venezuela.
- Kuenzel, W. (2007). Neurobiological Basis of Sensory Perception: Welfare Implications of Beak Trimming. Poultry Science. 86.
- López, L. (2021). Modification of proliferation and apoptosis in breast cancer cells by exposure of antioxidant nanoparticles due to modulation of the cellular redox state induced by doxorubicin exposure. Pharmaceutics. Vol 13.
- Lunam, C., Glatz P. (1993) Nervios sensoriales dentro del pico de las aves domésticas; su contribución al comportamiento después del corte del pico. En 'Actas de la 5ª conferencia de la Asociación Australiana de Ciencias Avícolas. Universidad de Sydney: Sydney, NSW, Australia.
- Martínez, A. (2010). Relación del Estrés Fisiológico con el Estrés Oxidativo Ganado Lechero Gestante en Pastoreo. Tesis para Obtener el Título de Médica Veterinaria y Zootecnista. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México D.F. 8.
- Mayor R. (2010). Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. Artículo de Revisión. Rev. Inst. Med. Trop. Volumen 5. No. 2. 23.
- Milone, S. (2009). Evaluación de Estrés Oxidativo en Aves Ponedoras Mantenido en un Método Productivo Diferente al Tradicional. Universidad Juan Agustín Maza. Mendoza. República Argentina. Revista Jornadas de Investigación. Año 1. No 1
- Miquet, L. (2017). El Paciente Quemado como Modelo de Estrés Oxidativo. Artículo de Revisión. Acta Médica de Cuba. Vol. 17.No. 2.
- Miranda, I. (2011). Vitamina C. Revisión en Nutrición Clínica. Volumen 5. Número 15. 782
- Molina, E. (2013). Biodisponibilidad de Ácido Acetil Salicílico In Vitro. Trabajo participante en el evento: "Odontópicos" Oruga de Plata Julio-Diciembre 2013. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.

- Morón, C. (1997). Manual de Procedimientos de Laboratorio para el Diagnóstico Histopatológico. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. Centro Nacional de Laboratorios de la Salud Pública. Lima. Perú. 26.
- Nápoles, C., Nápoles D. (2012). Homeostasia normal y coagulación intravascular diseminada en obstetricia. Artículo de Revisión. MEDISAN. Volumen 16. Numero 3. 407.
- Negrini, J. (2016). Estudio de la Cicatrización por Segunda Intención en la Piel de los Quelonios. Efecto de la Insulina Tópica como Promotor de la Cicatrización. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria. Córdoba. España. 28-29.
- OMSA. (2022). Bienestar Animal. Organización Mundial de Sanidad Animal. Disponible en <https://www.woah.org/es/que-hacemos/sanidad-y-bienestar-animal/bienestar-animal/> . Visitado en Enero 2023.
- Paredes, M. (2020). Efecto de la Suplementación Dietaria con Vitamina C Sobre el Rendimiento Productivo, Estrés y Respuesta Inmunitaria en el Pavo Criado en un Ambiente Hipóxico Natural. Scientia Agropecuaria. Vol. 11. No. 3. Trujillo. Perú.
- Pescador, L. (2018). Práctica de Manejo y Bienestar Animal en la Producción de Huevo en Sur América. Trabajo de Grado presentado como Requisito para Obtener el Título de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ciencias De la Salud. Medicina Veterinaria y Zootecnia. Pereira. Columbia. 30-31.
- Pisa Agropecuaria, (2021). El Despique de la Pollita y el uso de las Vitaminas para la Recuperación. BM Editores. Disponible en: <https://bmeditores.mx/avicultura/el-despique-de-la-pollita-y-el-uso-de-las-vitaminas-para-la-recuperacion/>. Visitado en Junio 2022.
- Ramírez, R. Herrera, J. Navarro, P. Zamora, M. (2019). Manual de Patología Macroscópica Diagnóstica de Aves Rapaces. Identificación de Lesiones Macroscópicas. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. Ciudad de México.
- Rodríguez, K. (2022). El despique, una herramienta importante para la productividad avícola. Retos. No. 71. Tepatitlán. Jalisco. 10-11.
- Rosa, C., Morales, S., Rigacci, M., Colimodio. D., (2020). Hemoglobina libre en plasma por espectrofotometría directa. Hematología. Vol. 24. No. 2 91-96

- Rossi, M. Garrido, W. Núñez, A. (2016). Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. *Journal of Pharmacognosy Research*. Vol 4. No. 2. Antofagasta. Chile. 62-83.
- Santos, R. Segura, J. (2020). La importancia de la cría de pavos (Meleagricultura) en Yucatán. *Bioagrobiencias. Revista de divulgación científica del Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Autónoma de Yucatán*. Vol. 13. Número 1. 4-5.
- Sarasara, S. (2019). Efecto de la Edad del Despique en Pollas Hy-Line Brown Sobre el Comportamiento Productivo en la Etapa de Levante. Trabajo Monográfico para optar por el Título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria la Molina, Facultad de Zootecnia, Departamento Académico de Producción Animal. Lima. Perú. 5-6.
- Schneider E., Mastrotto M., Willem J., Sviatoslav N., (2014). Neuronal mechanism for acute mechanosensitivity in tactile-foraging waterfowl. *PNAS*. Vol. 111. No. 41. 14941-14846.
- A SIAP, (2022). Guajolote. Población Avícola. 2011-2020. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762?idiom=es>. Visitado en Junio 2022.
- B SIAP, (2022). Producción ganadera. Aves Carne y Huevo. Población Avícola. 2011-2020. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762?idiom=es>. Visitado en Junio 2022.
- Smitzis, P. (2012). Impact of stocking density on broiler growth performance, meat characteristics, behavioural components and indicators of physiological and oxidative stress. *British Poultry Science*. Vol. 53. No. 6.
- Soliman S., Madkour F. (2017). A comparative analysis of the organization of the sensory units in the beak of duck and quail. *Histology, Cytology and Embryology*. Vol. 1. No. 4. 1-16.
- Struthers, S. (2022) The effect of infrared beak treatment on the welfare of turkeys reared to 12 weeks of age. *Poultry Science* Vol 101.
- Valarezo, M. Valarezo, J. Vacacla, W. Ortega, R. (2016). Evaluación Productiva y Económica de Pavos de la Estirpe Nicholas 700. CEDAMAZ. *Revista del Centro de Estudios y Desarrollo de la Amazonía. Universidad Nacional de Loja*. Vol. 6. Número 1. 93

- Vela, C. (2020) Suplementación de Vitamina C en Codornices Japonesas en Postura y su Efecto en el Desempeño y Calidad de Huevo. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Volumen 31. Número 3. Lima. Perú. 2.
- Villagran, M. (2019). Una Mirada Actual de la Vitamina C en la Salud y Enfermedad. Artículo de Revisión. Revista Chilena de Nutrición. Volumen 46. Número 6. Santiago. Chile. 800.
- Zachary, J. (2017). Pathologic Basis of Veterinary Disease. Sixth Edition. Elsevier. 2, 73, 121,
- Zamora, J. (2007). Antioxidantes: Micronutrientes en Lucha por la Salud. Revista Chilena de Nutrición. Volumen 34. Número 1. Santiago. Chile. 1-4.