

4



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
División de Estudios Profesionales

**TOLERANCIA DE POLLOS LEGHORN A LA HISTAMINA
ADMINISTRADA POR VIA ORAL Y SU EFECTO
MORFOLOGICO SOBRE PROVENTRICULO,
MOLLEJA Y DUODENO.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
MONICA MARIA ANDRADE MARTINEZ

Asesores: MVZ. Teresa Casaubon Huguenin
MVZ. Nestor Ledesma Martínez
MVZ. René Rosiles Martínez



México, D. F.

29

2001



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.

**TOLERANCIA DE POLLOS LEGHORN A LA HISTAMINA
ADMINISTRADA POR VÍA ORAL Y SU EFECTO
MORFOLÓGICO SOBRE PROVENTRÍCULO,
MOLLEJA Y DUODENO.**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la

Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista

por

MÓNICA MARÍA ANDRADE MARTÍNEZ

Asesores:

MVZ Ma. Teresa Casaubon Huguenin

MVZ Nestor Ledesma Martínez

MVZ René Rosiles Martínez

México, D.F.,
2001

DEDICATORIAS

Dedicó este trabajo a las siguientes personas:

A mis padres, como un regalo por todo su amor y por todos sus sacrificios para hacer de mi una profesionista. En especial a mi madre, como un tributo a sus sacrificios y por ver culminado lo que deseabas para mi.

A Miguel, por brindarme tu amor y desear siempre lo mejor para mi, por querer siempre que me supere y que sea mejor día con día.

A mis hermanos, como agradecimiento por su amor y apoyo aunque no siempre estuvimos juntos

A mis sobrinos y a mi prima Mayra como ejemplo para que el día de mañana se superen y sean mucho mejor que yo.

A ustedes que algún día llegaran a formar parte de mi vida, por que son parte del motor que me impulsa a esforzarme y luchar por ser alguien, a crecer y a ser mejor cada día. Espero que les sirva de ejemplo para que se superen y sean mucho mejor que yo, y para que algún día se sientan orgullosos de mi.

A los muchachos, por sus deseos sinceros hacia mi, "gracias".

AGRADECIMIENTOS

A ti, por hacer que sea quien soy.

A mis padres, por darme todo lo necesario para crecer como persona, en especial a mi madre por todos sus sacrificios y por estar siempre junto a mí en los momentos en que la necesité.

A mis asesores, la Dra. Ma. Teresa Casaubon, el Dr. Nestor Ledesma y el Dr. René Rosiles, por sus enseñanzas, su apoyo y su enorme paciencia en este trabajo, por fin salió.

A todas las personas que laboran en el departamento de aves, académicos, administrativos, servicio social y estancias, por sus enseñanzas, su apoyo incondicional y sobre todo por sus porras. (Si no pongo sus nombres es por que son muchos y tal vez podría no mencionar alguno).

A mis amigos con quienes siempre he contado: Lily, Mire, Judith, Francisco, Gaby, Claudia, Yadira, Alejandra, Gaby II, Omar y Manuel.

Muy en especial a ti Miguel, por que siempre creíste en mí, aún más que yo misma, por estar siempre a mi lado en los momentos difíciles, por apoyarme y luchar junto conmigo, y sobre todo por tu amor, mil gracias.

En especial a mi amigo y profesor Nestor, por toda tu ayuda, comprensión, ánimo, enseñanzas y porras para la realización de este trabajo, muy en especial por brindarme tu amistad.

A mi hermana, mis sobrinos y Mayra, por su apoyo y estar siempre conmigo, por fin me dejaron terminar.

A mi jurado, los doctores Ernesto Ávila, Gilberto Chávez y Jaime Campuzano por sus comentarios para la terminación de este trabajo.

A todas las personas que formaron parte de mi formación profesional y humana, todo el personal del Centro de Control Antirrábico de Tláhuac, en especial el Dr. Arturo Santacruz, a todos mis profesores de la facultad en especial los doctores López Trejo, Eugenio Márquez Bucio, Miguel Castillo, Miguel A. Ceniceros, muchas gracias por todo.

A ustedes muchachos, gracias por enseñarme el lado malo de las cosas.

A todas las personas que me ayudaron en la realización de este trabajo, "muchas gracias".

TABLA DE CONTENIDO

Dedicatorias	I
Agradecimientos	II
Lista de abreviaturas	III
Lista de figuras	IV
Lista de Cuadros	V
Resumen	1
Introducción	2
Hipótesis	6
Objetivos	6
Material y Métodos	7
Resultados	14
Discusión	18
Literatura Citada	24
Figuras	29
Cuadros	31

LISTA DE ABREVIATURAS.

SPF: Libres de patógenos específicos.

GB: Grupo Basal, sacrificado antes de empezar el experimento.

T: Grupo Testigo, tratado solamente con solución salina fisiológica.

H5: Grupo H5, tratado con 5mg de histamina/ave.

H10 Grupo H10 tratado con 10mg de histamina/ave.

h: Horas.

PT: Posttratamiento.

ADT: Administración diaria del tratamiento.

SSF: Solución salina fisiológica.

LISTA DE FIGURAS.

Figura 1. Heces de los 3 tratamientos

Figura 2. Heces del grupo H5 a los 7 días de la administración diaria del tratamiento.

Figura 3. Heces del grupo H10 a los 7 días de la administración diaria del tratamiento.

Figura 4. Gráfica de la concentración de histamina en sangre en $\mu\text{g/ml}$.

LISTA DE CUADROS.

- Cuadro 1.** Resultados de la concentración de histamina en sangre expresado en $\mu\text{g/ml}$.
- Cuadro 2.** Resultados de los valores de pH de proventriculo.
- Cuadro 3.** Resultados de los valores de pH de molleja.
- Cuadro 4.** Resultados de los valores de pH de duodeno.
- Cuadro 5.** Resultados lesiones macroscópicas de proventriculo, glándulas quísticas.
- Cuadro 6.** Resultados lesiones macroscópicas de proventriculo, ausencia de papilas.
- Cuadro 7.** Resultados lesiones macroscópicas de molleja, queratolisis en limite.
- Cuadro 8.** Resultados lesiones macroscópicas de molleja, queratolisis dispersa.
- Cuadro 9.** Resultados lesiones macroscópicas de molleja, úlceras en limite.
- Cuadro 10.** Resultados lesiones macroscópicas de molleja, úlceras dispersas.
- Cuadro 11.** Resultados lesiones macroscópicas de duodeno, petequias.
- Cuadro 12.** Resultados lesiones macroscópicas de intestino, hiperemia.
- Cuadro 13.** Resultados lesiones microscópicas de proventriculo.

cuadro 14. Resultados lesiones microscópicas de istmo.

cuadro 15. Resultados lesiones microscópicas de molleja.

cuadro 16. Resultados lesiones microscópicas de duodeno.

cuadro 17. Resultados lesiones microscópicas de páncreas.

cuadro 18. Resultados lesiones microscópicas de intestino (yeyuno).

RESUMEN

ANDRADE MARTÍNEZ MÓNICA MARÍA. Tolerancia de pollos Leghorn a la histamina administrada por vía oral y su efecto morfológico sobre el proventrículo, molleja y duodeno (bajo la supervisión de: MVZ MC Ma. Teresa Casaubon Huguenin, MVZ MC Néstor Ledesma Martínez y MVZ Rene Sosiles Martínez).

Uno de los síndromes que afecta a todas las aves del mundo es el "síndrome de indigestión, diuresis y alta conversión" (SIDAC) de aves que no logran un crecimiento adecuado durante el ciclo de producción. Es posible que las lesiones de esta condición sean la respuesta a estímulos infecciosos (bacterias y virus) o no infecciosos (de manejo o relacionados con la dieta) que pueden intervenir solos o bien en conjunto. Han sido estudiados los daños que ocasionan las aminas biogénicas en el tracto digestivo, pero se desconoce el efecto sistémico que tengan estos compuestos. La histamina (que es una amina biogénica) es de interés por que además de estar presente en el alimento de las aves (exógena), puede ser liberada a partir de diversos tejidos cuando sufren necrosis (endógena). Se ha observado una depresión en la tasa de crecimiento y muertes ocasionales en pollos que han recibido dietas con concentraciones elevadas de histamina proveniente de la harina de pescado y debido a que no ha sido posible reproducir el cuadro de SIDAC que se presenta en campo con ninguno de los agentes patógenos aislados, se justifica llevar a cabo un estudio con respecto a los posibles efectos sistémicos de la histamina que pudieran estar involucrados en la patogenia del SIDAC. Se usaron 59 pollos Leghorn SPF (libres de patógenos específicos) de 6 semanas de edad que fueron agrupados en 4 lotes. Uno de 5 pollos grupo basal (GB) para el primer muestreo antes de iniciar el experimento, el segundo grupo (testigo "T") se le administró 0.5 ml. de solución salina fisiológica, un tercer grupo ("H5") se le administró 5 mg de histamina y al cuarto grupo ("H10") se le administró 10 mg de histamina, diariamente durante 2 semanas. Se tomaron muestras de sangre para realizar la determinación del nivel de histamina en sangre por el método fluorométrico modificado para histamina en tejidos, se midió el pH de proventrículo, molleja y duodeno, se registró la frecuencia de las lesiones encontradas en proventrículo, molleja, duodeno e intestino, se midieron con vernier, las úlceras presentes en la capa de la queratina de molleja, y se tomaron órganos para histopatología. En el presente estudio, la administración diaria por vía oral de 5 y 10mg de histamina por ave Leghorn de 6 a 8 semanas de edad es absorbida, pasa al torrente sanguíneo, y al igual que en humanos la histamina probablemente afectó el riñón, dado que fue observado excreción de agua en exceso. Se corroboró que la histamina tal cual fue administrada, incrementa la secreción oxintico-péptica por lo que no sólo disminuye el pH del proventrículo, sino también de molleja y duodeno hasta los 14d DAT a partir de cuando, se logró estabilizar el pH a valores normales. El pH más ácido de lo normal, indujo el desarrollo de lesiones en proventrículo y molleja que provocaron indigestión por lo que fue observada la excreción de partículas de alimento. En general, la dosis de 10mg diaria de histamina por ave provocó mayor frecuencia de lesiones en el tubo gastro-intestinal que la de 5mg.

INTRODUCCIÓN.

Uno de los síndromes más persistentes, reincidentes y desafiantes que afectan a las aves de todo el mundo es el "Síndrome de ingestión, diuresis y alta conversión" (SIDAC) de aves que no logran un crecimiento normal durante el ciclo de producción. Este padecimiento ha sido referido también como "Síndrome de mala absorción", "Síndrome de enanismo y retraso", "Proventriculitis infecciosa", "Síndrome del cuello pálido", entre otras.^{1,2} Las aves que presentan este síndrome son pequeñas, pálidas, de emplume lento y deficiente. La indigestión, la diuresis y la ganancia de peso deficiente son los tres signos que se observan con mayor frecuencia pudiendo afectar hasta un 80 % de la parvada. Las heces de los pollos se desmoronan y presentan abundantes partículas de alimento sin digerir, se aprecia abundante moco color naranja, exceso de uratos, así como líquido casi transparente o lechoso que se dispersa formando una aureola. El incremento en la humedad de las heces es frecuente, pero se desconoce si es resultante de polidipsia o de lesión renal. La conversión alimenticia es alta y pueden presentarse además signos de enfermedades carenciales y/o coccidiosis, y consecuentemente hay alta mortalidad (dependiendo de los agentes infecciosos asociados), lo que genera grandes pérdidas económicas.^{1,2,3,4} Ha sido observado también, en aves Leghorn de diferentes líneas, principalmente en pollitas de reemplazo a las 4-6 semanas de edad, o incluso a las 16 semanas.⁵

Es posible que esta condición tenga más de una causa y que las lesiones sean la respuesta a estímulos infecciosos (adenovirus, rotavirus, picornavirus, etc.) o no infecciosos (aminas biogénicas, sulfato de cobre, micotoxinas, etc.) que pueden intervenir solos o bien en conjunto.^{1,2,3,4}

En algunos casos, las aves afectadas tienen el proventrículo dilatado hasta 2-3 veces más que lo normal y está lleno de fluido lechoso y alimento. La porción externa del proventrículo a veces aparece moteada o con placas rojizas; a veces el color blanquecino, la mucosa se encuentra empapada por el líquido y, no se aprecian las papilas o algunas se

encuentran dilatadas. El istmo gástrico (zona intermedia) entre el proventrículo y la molleja se encuentra distendido y flácido. También se reportan erosiones (queratolisis) en la cutícula de la molleja (koilin) y la pared intestinal puede estar adelgazada y enrojecida por enteritis leve o moderada.^{4,5,7,8,9,10,11,17}

La dilatación del proventrículo y de las glándulas proventriculares asociadas a las lesiones de la molleja sugieren que la hipersecreción gástrico-péptica del proventrículo determinada mediante el uso de antagonistas del receptor H₂, puede estar involucrada en el desarrollo de la queratolisis de la molleja.^{9,11,15} La indigestión puede deberse a las lesiones en el proventrículo y/o en la molleja, ya que en estos órganos es donde se lleva a cabo parte de esta función.^{10,11,16} El mecanismo por medio del cual se induce el desarrollo de proventriculitis así como erosiones y queratolisis de la molleja no se conoce con exactitud.^{8,12,13,17}

Entre los constituyentes de la dieta que han sido implicados como causantes de la erosión de la molleja se encuentran: anticoccidianos, antimicrobianos, ácidos grasos y antioxidantes. Esta lesión también ha sido producida por sulfato de cobre, óxido de zinc, maíz molido y por nicotinas.^{1,2,11,17} Otros factores no infecciosos relacionados como causante de dichas lesiones es el estrés,^{1,11} y las aminas biogénicas procedentes de la harina de pescado y de carne.^{13,14,17,22,23,24,25}

En las dietas avícolas como fuente de proteína, es muy importante el uso del pescado en forma de harinas, concentrados de proteína e hidrolizados enzimáticos. Sin embargo no es posible eliminar totalmente las aminas biogénicas presentes en el pescado.^{13,14,22,26} Niveles elevados de aminas biogénicas tales como la histamina, 3HT, 5HT, dopamina, espírimina, putresina, cadaverina, mollerosina, espiimidina, etc. son el resultado de la descarboxilación de aminoácidos libres (como la histidina, lisina, ornitina entre otros), por lo que estas se pueden encontrar también en la harina de carne de baja calidad, cerechuela de maíz, pasta de soya, etc.^{13,14} La molleerona es la amina biogénica más estudiada como agente patógeno

del "Vomito Negro", que cursa con erosiones, úlceras y en ocasiones perforaciones en la molleja.^{14,21,22,23,28}

Han sido estudiados los daños que ocasionan las aminas biogénicas en el tracto digestivo, pero se desconoce el efecto sistémico que tengan estos compuestos. La histamina es también una amina biogénica de interés, porque además de estar presente en el alimento de las aves (exógena), puede ser liberada a partir de diversos tejidos cuando sufren necrosis (endógena). En este caso es producida por la degranulación de las células cebadas al inicio de la respuesta inflamatoria.

La histamina induce vasodilatación, estimula las neuronas, la respuesta inmune, y estimula la secreción de ácido clorhídrico.^{28,29,30,31} Gracias al desarrollo de antagonistas selectivos de la histamina se demostró que esta juega un papel central en la estimulación de la secreción gástrica normal.^{32,33,33} Se sabe que la histamina causa un aumento en la secreción ácida en los peces y que a altas concentraciones en la dieta provoca una reducción en el crecimiento.³⁴

En mamíferos, la secreción ácida por las células oxínticas es estimulada a través del receptor H que se encuentra en las células parietales.³⁵ En las aves, las células secretoras del proventrículo son solo de un tipo, denominadas oxíntico-pépticas o células principales por secretar tanto ácido clorhídrico como pepsina, por lo que estas células cumplen a la vez las funciones de las células zimógenas (principales) y las células parietales de los mamíferos.^{36,37}

La pepsina es una enzima digestiva requerida para iniciar la digestión de las proteínas, por lo tanto cualquier lesión en las glándulas proventriculares disminuye la secreción de pepsina y consecuentemente se altera la utilización y la digestión de las proteínas, dando como resultado, desnutrición, conversión alta y cuantitativa perdida económica.^{38,39,40}

Se sabe que en los pollos, la histamina inyectada por vía intravenosa, incrementa la secreción de las glándulas proventriculares y la frecuencia de dilatación del proventrículo.¹³ Sin embargo, son pocos los estudios en aves sobre el efecto de la histamina administrada por vía oral, si esta pasa a sangre y si tiene algún efecto renal que ocasione diuresis tal como sucede en humanos.^{37,38}

Por lo tanto, se justifica llevar a cabo un estudio con respecto a los posibles efectos de la histamina antes señalados y que pudieran estar involucrados en la patogenia del SIDAC en aves Leghorn. En efecto aunque también ha sido observado el SIDAC en aves Leghorn, es difícil apreciar la excreción de partículas indigestas, de exceso de agua y de moco que son característicos de este síndrome por que permanecen en jaulas y debido a que no ha sido posible reproducir el cuadro de SIDAC que se presenta en campo con ninguno de los agentes patógenos aislados y a que se ha observado una depresión en la tasa de crecimiento y muertes ocasionales en pollos que han recibido dietas con concentraciones elevadas de histamina proveniente de la harina de pescado^{1,11} (se considera un valor normal promedio de 67.04 ppm²⁵). La hipersекреción por parte de las glándulas oxintico-pépticas del proventrículo esta involucrada en el desarrollo de erosiones y queratolisis en molleja.¹¹ Por otra parte, no han sido reportados cambios de pH en molleja y duodeno ya que solo se menciona que el pH del proventrículo se reduce de 4 a 2.89 con la administración subcutánea de histamina.¹

HIPÓTESIS

1. La histamina administrada por vía oral se distribuye en sangre.
2. El pH de proventrículo, molleja y duodeno es menor en aves tratadas con histamina por vía oral.
3. A mayor dosis de histamina por vía oral genera más lesiones en proventrículo (dilatación de glándulas) y molleja (queratolisis, erosiones o úlceras).
4. Las lesiones en proventrículo y molleja inducen la excreción de partículas sin digerir y diuresis.

OBJETIVOS:

1. Determinar los mg/ml de histamina en sangre total.
2. Determinar el pH de proventrículo, molleja y duodeno
3. Determinar con que dosis de histamina se provocan más lesiones en proventrículo (dilatación de glándulas), molleja (queratolisis, erosiones o úlceras) duodeno e intestino.
4. Determinar si las lesiones observadas en proventrículo, molleja, duodeno e intestino pueden ser asociadas a indigestión si provocan la excreción de alimento sin digerir y diuresis.

MATERIAL Y METODOS:

Diseño Experimental:

Se usaron 59 pollos Leghorn SPF (libres de patógenos específicos) de 6 semanas de edad que fueron agrupados al azar en 4 lotes. Uno de 5 pollos grupo basal (GB) para el primer muestreo antes de iniciar el experimento y 3 lotes restantes de 18 pollos cada uno (grupos T, H5 y H10 respectivamente). Las aves recibieron dieta comercial y agua a libre acceso y fueron alojadas en jaulas permanentemente durante todo el experimento. Se le administró a cada ave por medio de una manguera flexible de 3 mm de diámetro, en el buche los siguientes tratamientos: al primer grupo (testigo "T"), 0.5 ml. de solución salina fisiológica, al segundo grupo ("H5") se le administró 5 mg de histamina y al tercer grupo ("H10") se le administró 10 mg de histamina, ambas diluidas en solución salina fisiológica, diariamente durante 2 semanas.

Se tomaron las muestras de **TODOS** los pollos del grupo GB antes de iniciar el experimento, y de 3 pollos de los grupos T, H5 y H10 en los tiempos 6, 12 y 24 horas (6h, 12h y 24h) postratamiento (PT). A los 7 días (7d) de administración diaria del tratamiento (ADT) se tomaron muestras de 5 pollos de cada grupo y de 4 pollos de cada grupo a los 14 días (14d) de ADT.

Se colocó abajo de las jaulas, papel manila de color amarillo y durante el experimento se llevó a cabo diariamente la observación de las excretas para determinar la presencia de partículas de alimento sin digerir, moco y agua.

Muestreo:

En cada muestreo:

1. Se tomó 1 ml de sangre en un tubo de ensaye con tapón de rosca que contenía 0.1 ml de EDTA para posteriormente realizar la determinación del nivel de histamina por el método fluorométrico modificado para histamina en tejidos.
2. Se sacrificaron las aves por medio de embudo de gallina.
3. Se realizó la necropsia de la ave. Inmune la carne:

Se midió el pH de proventrículo, molleja y duodeno.

Se registró la frecuencia de las lesiones encontradas en proventrículo, molleja, duodeno e intestino.

Fueron medidas con vernier, las úlceras presentes en la capa de la queratina de molleja.

Para histopatología se tomaron muestras longitudinales de 1cm² de ancho por 3 mm de grosor, a partir del corte transversal de: la porción media de proventrículo, de la región central de la molleja, del centro del asa duodenal (abarcando la porción ascendente, la descendente y el páncreas) y otro del intestino delgado al nivel de divertículo de Meckel. Las muestras fueron fijadas durante 48 hrs. en formalina al 10% (1 volumen de muestra por 10 de formalina).

I. Fluorimetría:

La determinación de la concentración de histamina en sangre se llevó a cabo por el método fluorométrico modificado para histamina en *epidos*. El método fluorométrico fue modificado y se realizó de la siguiente forma:

Se mezcló 1 ml de sangre con 0.35 ml de H₂O destilada. Después se le añadió 0.05 ml de HClO₄ a la 11.6 N (ácido perclórico, Merck, 1.00519, 8380-619-006) y se mezcló a mano hasta que se obtuvo un color café. La muestra fue agitada en vortex por 3 minutos.

Se centrifugó a 15,000 rpm en una centrifuga refrigerada por 15 minutos (Centrifuga Beckmann model J2-21, rotor JA-20 Ser# 3167, 20000 rpm max.). El sobrenadante fue transferido a un tubo que tenía 0.8 ml de H₂O destilada y se mezcló. Después se le agregó 1.4 g (1/2 lb) de KH₂PO₄ (fosfato ácido dipotásico) y se mezcló bien a mano. Se le añadió 8 ml de alcohol 150amílico (J.T. Baker 9038 Lot # 0906) y se mezcló a mano por 6 minutos. Después se centrifugó por 5 minutos a 3000rpm para separar las fases (Centrifuga D-1 Internacional, Ser # 7, model K, No. 31993P, Made in USA, International Equipment Co.).

Se obtuvo 8 ml de la capa orgánica (capa superior) dentro de un tubo que contenía 1.6 ml de 0.01 N de HCl (ácido clorhídrico J.T: Baker 9535-05, Lote: L29456) más 6 ml de heptano (n-Heptano Tecsiquim S.A. de C.V. 3.351 HT002. Lote: HPT-98-KJ), se agitó en vortex por 3 minutos y se centrifugó por 5 minutos a 3000rpm para separar las fases.

Se cosechó 1.6 ml del extracto ácido (capa inferior) dentro de un tubo que contenía 0.2 ml de NaOH a al 10N (hidróxido de sodio, perlas J. T. Baker 3722-01). Se mezcló bien a mano y se le añadió 1.0 g (+/- 5%) de NaCl (cloruro de sodio GIBCO, 11830-031) y 8 ml de CHCL (cloroformo J.T. Baker 9186-63). Se agito en vortex por 3 minutos y se centrifugó por 5 minutos a 3000rpm para separar las fases.

Se tomó el extracto lavado (capa superior 1.8 ml) y se puso dentro de un tubo de centrifuga y se añadió 0.6 g de NaCl (+/-5%), se mezcló bien a mano y se le añadió 8 ml de alcohol isoamílico lavado, se agitó a mano durante 3 minutos y se centrifugó por 5 minutos a 3000rpm para separar las fases.

Se obtuvieron 8 ml de la fase orgánica (capa superior) que se pusieron dentro de un tubo de centrifuga que contenía 0.8 ml de HCl a la 0.1 N más 6 ml de heptano, después se mezcló a mano durante 3 minutos y se centrifugó por 5 minutos a 3000rpm para separar las fases.

La capa acuosa (capa inferior) se transfirió a tubos de ensaye pequeños con tapón de rosca y se analizaron (durante este proceso se pierden de 0.2 a 0.4 ml).

*Todos los pasos se llevaron a cabo teniendo los tubos sumergidos en hielo trape.

Análisis de las muestras:

El análisis, se hizo en un Fluorómetro (Turner Associates. Catalog No. 110-006) modelo 110 Serial No. A3382), primero se calibró con el BLANCO, constituido por 0.50 ml de agua destilada más 0.50 ml de 0.1 N d HCl, la solución se agito en vortex por 15 segundos y despues se le agregó 0.20 ml de 1.0 N de NaOH, se agitó en vortex

por 15 segundos y se le agregó 0.10 ml de ácido cítrico (Monohydrate granular, J.T. Backer 0119-01) al 2.0 M, se agitó en vortex por 15 segundos y por último se agregó 0.05 ml de reactivo de OPT (oftaldialdehído, OPHTHALDIALDEHYDE, Sygma Lote: 116H53) y se esperaron exactamente 4 minutos para hacer la lectura en el fluorómetro, activación a 358 nm y longitud de onda de la fluorescencia a 446 nm.

Después se trabajaron los CONTROLES que fueron las diluciones de histamina, 0.2 µg, 0.15 µg, 0.1 µg, 0.05 µg y 0.01 µg por ml. (Histamine (2-(4-Imidazolyl) ethylamine) Dihydrochloride minimum 99% (TLC) Sygma Lote 127H1167). Se utilizo 1 ml a lo cual se le agregó 0.50 ml de 0.1 N de HCl, se agitó en vortex por 15 segundos, se le agregó 0.20 ml de 1.0 N de NaOH, se agitó en vortex por 15 segundos y se le agregó 0.05 ml de reactivo de OPT, se agitó en vortex por 15 segundos de nuevo y después se procedió a esperar exactamente 4 minutos para agregarle 0.10 ml de ácido cítrico a la 2.0 M. Ya agregado el ácido cítrico se leyeron en el fluorómetro. La activación y la fluorescencia es igual que la del blanco.

A 0.50 ml de las MUESTRAS de sangre se le agregaron los demás reactivos en el mismo orden que el de los controles. El procedimiento se trabajó igual que el de las diluciones de histamina.

III. Medición del pH:

El pH de proventrículo, molleja y duodeno fue determinado por medio de tiras reactivas de pH (J.T. Baker, Baker-pHIX, pH 2.0 - 9.0).

IV. Anatomopatología:

Las lesiones evaluadas en el estudio macroscópico fueron:

Proventrículo:

Presencia de una fina membrana con prominencias de papilas.

Glándulas quísticas: espacios esféricos apreciables en la superficie de corte transversal.

Molleja:

Queratolisis en límite: pérdida de la continuidad, de la textura y de color del Koilin (queratina) del borde que limita la molleja y el Istmo (región intermedia).

Erosiones: pérdida de koilin en una o varias regiones que afecta solo la superficie del espesor de la capa de queratina, de tamaño variable, con bordes generalmente irregulares pero bien delimitados.

Úlceras: pérdida de koilin en zonas localizadas (focales) que afecta todo el espesor de la capa de queratina y en algunos casos incluso la mucosa o hasta la zona muscular de la molleja

Duodeno e Intestino:

Enrojecimiento (hiperemia) de la mucosa con presencia de pequeñas hemorragias (petequias)

V. Histopatología:

Para llevar a cabo el estudio y registro del porcentaje de frecuencia de lesiones microscópicas, las muestras fijadas en formalina, fueron procesadas en un Jung Histokinette 2000, incluidas en parafina, cortadas a 4µ y teñidas por la técnica de hematoxilina y eosina.⁴⁰

Las lesiones evaluadas en el estudio microscópico fueron:

Proventriculo

Hiperplasia epitelial: proliferación excesiva de células indiferenciadas del epitelio de la mucosa.

Infiltración linfocítica: presencia de linfocitos distribuidos en forma focal o dispersa en toda la mucosa.

Adenitis no supurativa: presencia de linfocitos distribuidos en forma focal o dispersa en el estroma de la capa glandular.

Atrofia de mucosa: disminución de tamaño y ensanchamiento de las vellosidades.

Istmo y Molleja

Atrofia de la capa de koilin en cualquier área o en el límite de molleja con istmo: destrucción de la capa de koilin con presencia de vacuolas, células epiteliales y glóbulos rojos necrosados.

Infiltración por granulocitos: presencia de granulocitos (que pueden corresponder a heterófilos, eosinófilos o células hematopoyéticas) en toda la mucosa.

Infiltración linfoide: presencia de linfocitos en forma focal o dispersa, en la mucosa.

Hiposecreción glandular: ausencia o escasa cantidad de koilin en el interior de la glándula.

Dilatación de las glándulas: glándulas con epitelio cuboidal, dilatadas y sin koilin.

Duodeno e Intestino

Fusión de vellosidades: vellosidades ensanchadas con varias hileras paralelas de miocitos y con infiltración linfoide en cantidad moderada.

Hemorragias: presencia de eritrocitos fuera de los vasos sanguíneos.

Infiltración por granulocitos: presencia de granulocitos (que pueden corresponder a heterófilos, eosinófilos o células hematopoyéticas) en toda la mucosa.

Infiltración linfoide: presencia de linfocitos en forma focal o dispersa, en la mucosa.

Páncreas

Nódulos linfoides: acumulo de linfocitos delimitados o no por tejido conjuntivo.

Análisis de resultados

El promedio de pH gástrico y nivel de histamina en sangre fue comparado entre grupos, mediante el análisis de varianza (ANDEVA) ($P < 0.05$). Cuando resultaron diferencias significativas entre tratamientos, se utilizó el método de Fisher de comparación de medias.

Para comparar entre tratamientos la frecuencia de lesiones macroscópicas e histopatológicas, los porcentajes registrados inicialmente, fueron transformadas a la proporción arco seno raíz cuadrada de la proporción y comparados por medio de ANDEVA ($P < 0.05$).

RESULTADOS:

I.- Exceso de agua y presencia de partículas indigestas en excretas :

Se apreció a simple vista que el exceso de agua en las excretas fue incrementándose paulatinamente en los grupos H5 y H10 desde las 6h hasta los 14d; sin embargo, las partículas indigestas fueron más aparentes a partir de las 24h en estos mismo grupos (Figura 1, 2 y 3).

II.- Concentración de histamina en sangre:

Se encontró un aumento en la concentración sanguínea de histamina ($P < 0.05$) sólo a las 6h PT en los grupos H5 (215%) y H10 (288%) en relación con los grupos GB y T (Figura 4 y cuadro 1).

III.- pH de proventrículo, molleja y duodeno:

- En proventrículo, se observó mayor acidez ($P < 0.05$) en los grupos H5 y H10 a las 12h (pH 2.5 y 2.1 respectivamente), 24h (2.6 y 2.5) y 7d (3.2 y 2.6) PT, con respecto a los grupos T (4 a las 12h, 3 a las 24h, 3.2 a los 7d) y GB (4.1), pero no hubo diferencias ($P > 0.05$) a las 6h y a los 14d (Cuadro 2).
- En molleja, se encontraron diferencias solamente a las 24h y 7d PT ($P < 0.05$) en H10 (2.6 y 2.7 respectivamente) y T (2.8 y 2.5) en relación a H5 (3.8 y 3.7) y GB (3.5) que es el de las aves antes de iniciar el experimento (Cuadro 3).
- En duodeno, el pH de H10 a las 6h (5.8) y el de T a las 24h (4.5) fueron más ácidos ($P < 0.05$) que el de los demás mediciones de H5 y H10, que fluctuaron entre 6 y 6.5 (Cuadro 4).

IV. Lesiones macroscópicas:

Proventrículo

Las glándulas dilatadas o quísticas fueron observadas en el 100% de las aves del grupo GB, pero sólo en el 66% de las aves del grupo T a las 24h., en 25% de H5 y en 80% de H10 a los 7d (cuadro 5).

La ausencia de papilas fue observada a partir de las 12h en 100% de las aves tanto en H5 como en H10 y de las 24h en el grupo T. A medida que aumentó el tiempo de evaluación, la frecuencia de esta lesión fue disminuyendo en todos los grupos ($P < 0.05$) (Cuadro 6).

Istmo

No se apreciaron lesiones.

Molleja

La frecuencia de queratolisis de la capa de koilin en el límite de la molleja con el istmo fue aumentando en el grupo T hasta un 100% a los 7d ($P < 0.05$), mientras que con H5 sólo se presentó en 60% a los 7d y en 25% a los 14d. Con H10 fue evidente el aumento desde 33.3% a las 12 y 14h, hasta el 100% a los 7d (Cuadro 7).

En todos los grupos fue más frecuente la presentación de queratolisis en el límite que la frecuencia de erosiones, ya que estas últimas sólo fueron observadas en un ave de 5 (1/5) a los 7d de ADT (Cuadro 8).

La frecuencia de las úlceras dispersas en la superficie de la capa de queratina y en el límite de la molleja con el istmo gástrico fue variable ($P < 0.05$) en todos los tratamientos y, midieron entre 1-2 mm de diámetro (Cuadros 9 y 10).

Duodeno e Intestino

El enrojecimiento de la mucosa con presencia de pequeñas hemorragias en duodeno fue observada a partir de las 6h y hasta los 14d en forma variable en todos los tratamientos observándose diferencias ($P < 0.05$) sólo a los 7d. En cambio en intestino aunque su presentación también fue variable, esta fue más tardía, (de las 12h hasta el final del experimento) (Cuadros 11 y 12).

V. Lesiones microscópicas:

Proventrículo

En el presente estudio no se encontraron diferencias entre los tratamientos ($P > 0.05$) en las lesiones microscópicas estudiadas. Sin embargo, en la mucosa la frecuencia de *hiperplasia de epitelio y atrofia* fue muy variable mientras que, *la infiltración linfoide y granulocítica* se presentó en el 100% de las aves de los 4 grupos a lo largo de todo el experimento. La *adenitis no supurativa*, aún cuando se presentó en todos los grupos y en todas las tomas, tendió a ser más frecuente en los grupos tratados con histamina (H5 y H10) a medida que aumentó el tiempo de exposición (Cuadro 13).

Istmo y molleja

La *infiltración por granulocitos* no se observó en molleja. Sin embargo, se presentó esporádicamente en la mucosa del istmo gástrico, en menos del 50% o menos de las aves, sólo en los grupos H5 y H10 (Cuadro 14).

Conforme fue mayor el tiempo de exposición, la *lisis en la capa de koilin* en el límite de la molleja con el istmo parece disminuir en H5 y H10 y a aumentar en el grupo T (tratado con suero fisiológico únicamente) (Cuadro 14). La frecuencia de *esta misma lesión pero en focos dispersos* en la superficie de la capa de queratina, tendió a aumentar en H5 y H10 sólo entre las 12 y 24h, mientras que en los grupos GB y T no se volvió a presentar después de las 6h (Cuadro 15). La presentación de *hiposecreción y dilatación de las glándulas* en la mucosa del istmo y de la molleja fue variable durante todo el experimento (Cuadros 14 y 15). En las muestras obtenidas antes de empezar el experimento (GB) fue aparentemente menor la cantidad de *infiltración linfoide* en relación con la observada en todos los grupos a lo largo del experimento (Cuadro 15).

Duodeno e intestino

En duodeno e intestino, la *fusión de vellosidades y la infiltración de granulocitos* parece que aumentaron en todos los tratamientos a medida que fue mayor el tiempo de exposición (Cuadros 16 y 17). La

hiperplasia del epitelio, las hemorragias y la infiltración linfoide en la mucosa de estos dos órganos es semejante en todos los tratamientos aunque, no en todas las aves la severidad de estas lesiones fue la misma (Cuadros 16 y 18).

Páncreas

La cantidad de *nódulos linfoides* en páncreas fue mayor en los grupos H5 y H10 en relación al grupo tratado con suero fisiológico únicamente (GT) (Cuadro 17).

DISCUSION:

I.- Exceso de agua y presencia de partículas indigestas en excretas :

Las lesiones observadas en proventrículo explican la presencia de partículas de alimento sin digerir en las excretas. En efecto Tahseen,¹⁰ señala que cualquier lesión en las glándulas proventriculares puede interferir con la secreción de ácido clorhídrico y pepsinógeno con el subsecuente deterioro en la digestión y utilización de las proteínas. Por otra parte, la excreción excesiva de agua en los grupos H5 y H10 esta aparentemente relacionada con la administración de la histamina, lo cual sugiere que esta tiene un efecto en riñón que ocasionó la excreción de agua en exceso tal como sucede en humanos.^{37,38}

II.- Concentración de histamina en sangre:

La histamina administrada por vía oral fue absorbida ya que pudo apreciarse que la concentración sanguínea de esta, se incrementó hasta las primeras 6h PT y después de este tiempo, empezó a descender a sus límites normales a pesar de que se siguió administrando el tratamiento diariamente. Esto se debe probablemente a los mecanismos de homeóstasis del individuo.⁴

III.- pH:

La disminución del pH en proventrículo en los grupos H5 y H10 a las 12, 24h y 7d se debió a que la histamina estimula los receptores H de proventrículo por lo que se incrementa la secreción de ácido clorhídrico.^{9,11} Sin embargo, es significativo que sólo hasta las 12h de administrada la histamina se haya apreciado el efecto y por otra parte que a los 14d el pH de estos grupos sea semejante al de los otros

antes de iniciarse el tratamiento (GB) y al reportado como normal (4.8).³⁶ Esto sugiere que los sistemas de homeostasis tienden a regular el pH.^{30,42} A pesar de que en estudios semejantes a este se utilizó SSF, en el presente estudio esta no resultó ser un buen parámetro de comparación ya que tuvo un efecto acidificante al igual que la histamina pero con menor intensidad y sólo a partir de las 24h y hasta los 7d ADT. En efecto Hurwitz y Bar¹¹ empleando SSF con diferentes pH demostraron que al cabo de 30 minutos el pH en yeyuno e ileón, regreso a su valor aproximadamente normal.

De manera similar en molleja pero sólo a partir de las 24h y hasta los 7d, los grupos T y H10 presentaron un pH más ácido en relación con GB y H5. No es extraño que el descenso del pH del grupo T al igual que en el proventrículo pudiera estar relacionado con los mismos factores que regulan o intervienen con la secreción de ácido clorhídrico y pepsina, ya que existe un reflujo de contenido entre estos 2 órganos. Por otra parte el pH en molleja y no así en proventrículo es alcalinizado por los jugos pancreáticos y las sales biliares provenientes del duodeno durante el reflujo del contenido entre estos 2 últimos órganos.^{35,46}

El valor de pH más ácido encontrado en duodeno del grupo T a las 24h y del H10 a los 7d en relación al valor reportado como normal por Herpol y Van Germbergen¹³(6 -6.4), se debió probablemente a que el horario de ingestión de alimento no es semejante en todos los pollos y por lo tanto la bilis y el jugo pancreático que son secretados al final del tracto duodenal, no neutralizan al mismo tiempo el pH del bolo proveniente de la molleja.

IV y V:- Lesiones macroscópicas y microscópicas

PROVENTRICULO

Con base en evidencias circunstanciales, en el presente estudio se apreció que aparentemente, *la hiperplasia del epitelio y la infiltración de leucocitos en la mucosa del proventriculo* (que denotan el desarrollo de inflamación) ocasiono el endurecimiento de esta

estructura y por ende, la apariencia de **ausencia de papilas** y por otra parte, provocó la obstrucción del conducto excretor responsable de la **dilatación de las glándulas gástricas** o el desarrollo de **glándulas quísticas con atrofia del parénquima**. En el presente estudio la ausencia de papilas se observó solamente en los grupos H5 y H10, de igual manera que se apreció microscópicamente engrosamiento de la mucosa debido a inflamación por lo que se pudiera inferir que esta asociado con el tratamiento. Por otra parte la frecuencia de glándulas gástricas dilatadas o quísticas, parecen no tener relación con ninguno de los tratamientos en particular, ya que fueron observadas en todas las aves del grupo GB muestreado antes de iniciar el tratamiento así como en 66% del grupo T a las 24h. En cambio a los 7d sólo fue evidente en H5 (33%) y H10 (66%). Esto pudiera estar relacionado con otros factores que no fueron tomados en cuenta en el presente estudio tales como: el tiempo de ayuno y el efecto de tensión debido al transporte ya que las aves del grupo GB fueron sacrificadas inmediatamente después de haber llegado al laboratorio en donde se llevó a cabo el experimento así como el tipo de alimento que fue administrado a los animales durante las 6 semanas de vida anteriores al experimento.^{6,10} La **adenitis no supurativa** que aunque tendió a ser más frecuente en los grupos tratados con histamina, en realidad no tiene relación con el efecto de esta ya que también se presentó en los grupos GB y T y no se obtuvieron diferencias ($P > 0.05$). Esta lesión puede ser relacionada con la proventriculitis infecciosa causada por el virus de Marek y de IBF. A pesar de que no fue comprobado, pudiera ser que las aves empleadas en este experimento hayan sufrido infección por estos virus ya que eran SPF y no fueron vacunadas.^{4,6,11} Pudiera ser que la infiltración linfoide observada en todos los órganos de todos los grupos pudiera estar relacionada con estos virus, ya que en la literatura consultada, ninguna menciona la presencia de esta lesión.

MOLLEJA

El hecho de que en el estudio macroscópico de las aves de este experimento, la frecuencia de **queratolisis de la capa de koilin en el límite de la molleja con el istmo** (Cuadro 1) haya sido a los 7d, observada en el 100% de las aves del grupo T y H10 mientras que solo

en el 60% del H5 denota que las diferentes concentraciones de histamina administradas influyeron en el porcentaje de presentación de esta lesión junto con los de la **hiposecreción, dilatación de las glándulas y hemorragias de la mucosa** con las que estuvo asociada. **La queratolisis en la capa de koilin en cualquier región de la superficie de la molleja** y en particular en el límite de esta con el istmo es incierta y no ha sido descrita su patogenia. Esta lesión es también conocida como erosión de la molleja y en ocasiones, evoluciona hasta la formación de úlceras.¹⁸ Miyasaky y Umemura⁹, sugieren que probablemente, en la región del límite con el istmo la capa de koilin esta siempre expuesta a valores de pH relativamente ácidos y esta puede ser la principal razón por la cual se desarrolle muy frecuentemente la erosión de molleja en este sitio. Es importante recordar que en el presente estudio justamente a los 7d los grupos T y H10 presentaron valores de pH más ácidos que H5 y que a los 14d el valor del pH de todos los grupos estuvieron en el rango normal, como fue señalado anteriormente. Por lo que, es muy probable que tal como lo señalan Miyasaky y Umemura⁹ el pH relativamente ácido tenga que ver con el desarrollo de esta lesión en este sitio. De igual manera, la presencia de la erosión de molleja sólo en 25% de las aves de H5 a los 14d, denota que así como los sistemas de homeostasis tienden a regular el pH en las cavidades gástricas,^{10,11} las erosiones de molleja y las úlceras sanan rápidamente.¹²

El diámetro de las **úlceras dispersas** en la superficie de la capa de queratina y **en el límite de la molleja con el istmo gástrico** en el presente estudio, resultó menor (de 1 - 2mm) que el observado por Dzaja et al.¹⁴ (1.4mm a 9.7mm). Esto pudiera deberse a que en el presente estudio el número de animales fue menor por lo que no pueden ser comparados estos trabajos.

La **infiltración de ganulocitos** observada sólo en el límite de la molleja con el istmo gástrico en los grupos H5 y H10 aunque en forma variable y en duodeno de todos los grupos y no en la capa glandular y en la lámina propia de la molleja corroboró lo observado por Shifrine y Adler¹³ e Itakura et al.¹⁰

DUODENO E INTESTINO

El **enrojecimiento de la mucosa de duodeno e intestino** que al estudio histológico correspondió a pequeñas hemorragias fueron observadas en todos los grupos en mayor o menor grado. Sin embargo esta lesión, según Sander *et al*⁹ y Moneret⁴⁶ resulta de la administración oral de histamina. Dado que las hemorragias y la hiperemia también se presentó en el grupo T tratado con SSF únicamente se puede inferir que la SSF además de tener un efecto sobre el pH como ya fue señalado, también alteró la permeabilidad endotelial en capilares de duodeno e intestino pero en menor grado que la histamina. El incremento de **fusión de vellosidades** tanto en duodeno como en intestino en todos los tratamientos, a medida que fue mayor el tiempo de exposición denota reparación del daño vascular con la consecuente necrosis tisular provocado por la histamina.⁴⁷ La **hiperplasia de epitelio** observada en todos los tratamientos aunque no con la misma severidad en todas las aves esta relacionada con el reemplazo constante del epitelio de las vellosidades y no con el efecto de la histamina.^{48,49} La proliferación de las células indiferenciadas (tallo) esta regida por chalconas provenientes de los eritrocitos, poliaminas provenientes del torrente sanguíneo, alimento, bacterias y por la secreción de las células de Paneth.

A partir de las observaciones del presente estudio se puede concluir que:

1. La administración diaria por vía oral de 5 y 10mg de histamina por ave Leghorn SPF de 6 a 8 semanas de edad, es absorbida, pasa al torrente sanguíneo, y afecta otros órganos.
2. En el presente estudio, al igual que en humanos la histamina afectó probablemente el riñón, dado que fue observado excreción de agua en exceso (diuresis).
3. Se corroboró que la histamina tal cual fue administrada, incrementa la secreción oxintico-péptica por lo que no sólo disminuye el pH del proventrículo, sino también de molleja y duodeno hasta los 14d ADF a partir de cuando, se logró estabilizar el pH a valores normales.

4. El pH más ácido de lo normal, indujo seguramente, el desarrollo de lesiones en proventrículo y molleja que provocaron indigestión por lo que fue observada la excreción de partículas de alimento.
5. En general, la dosis de 10mg diaria de histamina por ave provoco mayor frecuencia de lesiones en el tubo gástro-intestinal que la de 5mg.
6. La solución salina fisiológica empleada como diluyente en este estudio al igual que en otros trabajos publicados, provoco lesiones en los órganos digestivos aunque menos severas por lo que, no es recomendable su empleo para este tipo de estudios.

LITERATURA CITADA:

1. Goodwin MA. Enfermedades gastrointestinales en evolución continua, en pollos: Revisión de los agentes asociados a enanismo, retraso y fracaso económico. (Conocido también como Síndrome de mala absorción). Memorias VI Curso de actualización Avi-Mex; 1994 Julio; México D.F. Laboratorios Aví-Mex S. A. de C.V., 1994: 39-59.
2. Casaubon MT, Ledesma MN, Petrone VM, Del Río GJC, Fehervari T. Metodología en el diagnóstico diferencial del Tránsito Rápido. Memorias VI Jornada Médico Avícola; 1997 Marzo 12-14; México D.F. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, 1997: 171-177.
3. Brugh M, Wilson RL. Effect of Dietary Histamine on Broiler Chickens Infected with Avian Reovirus S1133. Avian Dis 1985; 30: 199-203
4. Stuart BP, Cole RJ, Waller ER, Vesonder Re. Proventricular hyperplasia (malabsorption syndrome) in broiler chickens. J Environ Pathol Toxicol Oncol 1986; 6:369-385
5. Huff GR, Huff WE, Balog MS, Rath NC, Zheng Q. Studies on infectious proventriculitis. Proceedings 32nd National Meeting on Poultry Health and Processing. 1997 October 15-17. Ocean City Maryland USA, 1997:39-43.
6. Ledesma M N, Fehervari T. Patología de los virus en el aparato digestivo de las aves. Memorias Curso de actualización en manejo de granjas de pollo de engorda; 1997. Julio 21-22, y 24-25; Merida, Yuc., Guadalajara, Jal.: Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, 1997: 42-46.
7. Good RE, Hetrick, JM and Hanley JE. Observations on gizzard ulcers in baby chicks. Avian Dis 1968; 12: 327-331.
8. Grabarovic Z, Tisljar M, Dzaja P, Atukovic B, Sweiwert S, Sikiric P. Stress induced gizzard erosion in chicks. J Vet Med A 1993; 40:265-270.
9. Miyasaki S, Umemura Y. Correlation between low gastric pH and the formation of gizzard erosions in chicks. Br Poult Sci 1987; 28: 529-534.
10. Tahseen AA. Proliferative proventriculitis: a condition of uncertain etiology. World Poult 1997; 13:56.

11. Casaubon HMT, Ledesma MN, Del Río GJC, Fehervari T, Quintana LJA, Avila GE. Disertación con respecto al posible papel de las lesiones gástricas en el síndrome de "Indigestión, diuresis y ganancia de peso deficiente" (IDGP) que padecen los pollos de engorda de México. Memorias VII Jornadas Médico Avícolas; 1998 Marzo 11-12; México D.F. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, 1998: 99-104.
12. Shifrine M, Adler HE, Ousterhout LE. The pathology of chicks fed histamine. *Av Dis* 1960; 4: 12-21.
13. Harry EG, Tucker JF, Laursen-Jones AP. The role of histamine and fish meal in the incidence of gizzard erosion and proventricular abnormalities in the fowl. *Br Poult Sci* 1975; 16:69-78.
14. Tsuneeo H, Tadashi N, Hiroshi N. Effect of Gizzerosine on Acid Secretion by isolate mucosal cells of chicken proventriculus. *Poult Sci* 1987; 66:548-551.
15. Rosselot G, López-Lastra M, McMurtry JP. Determination of gizzerosine activity in fish meal with a homologous radioimmunoassay. *Poult Sci* 1995; 75: 873-880.
16. Moran ET Jr. Anatomy of the Fowl's Digestive System. Poultry Science Department, Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University, Alabama.
17. Harry EG, Tucker JF. The effect of orally administered histamine on the weight gain and development of gizzard lesions in chicks. *Vet Rec* 1976; 99:206-207.
18. Itakura C, Kazama T, Goto M. Comparative Pathology of gizzard lesions in broiler chicks fed fish meal, histamine and copper. *Avian Pathol* 1982; 11: 487-502.
19. Fossum O, Sanstedt K, Engstrom B E. Gizzard erosions as a cause of mortality in white Leghorn chickens. *Avian Path* 1988; 17:519-525.
20. Dzaja P, Grabarevic Z, Peric J, Mazija H, Prokner-Radovic E, Bratulic M, Zubcic D, Ragland W L. Effects of histamine application and water-immersion stress on gizzard erosion and fattening of broiler chicks. *Avian Path* 1996; 25: 359-367.

21. Sugahara M, Hattori T, Nakajima T. Effect of synthetic gizzerosine on growth, mortality and gizzard erosion in broiler chicks. *Poult Sci* 1988; 67:1580-1584.
22. Morales BE, Ávila GE, Flores CE. Efecto en pollo de engorda de la adición de cimetidina a dietas con una harina de pescado causante de vomito negro. *Vet Mex* 1991; 2: 143-149.
23. Diaz M. Aminas biogénicas: ¿qué son y por qué son importantes en la industria animal? En: *Biotecnología en la industria de Alimentación Animal Vol. IV*, Apligen Sectic S.A. de C.V. México D.F. 1994: 201-210
24. Dzaja P, Grabarevic Z, Peric J, Artukovic B, Tislajr M, Mrljak V y Sostaric E. Effects of histamine on gizzard erosions and on the activity of selected enzymes in chickens. *Act Vet Hung* 1995; 43: 431-441.
25. Dudley-Cash WA. Biogenic amines may be affecting field performance of poultry. *Feedstuffs* 1993;6:11.
26. Bermudez AJ, Firman JD. Effects of biogenic amines in broiler chickens. *Avian Dis* 1998; 42:199-203.
27. Zavy MT, Lindsey T O; Medde RD. Gizzard ulceration in chicks fed cysteamine alone or in combination with a histamine H₂ receptor agonist. *J Vet Pharmacol Therap* 1988; 11:362-373.
28. Sugahara M. Black Vomit, gizzard erosion and gizzerosine. *World's Poult Sci Jour* 1995;51:293-306
29. Sander JE, Cai T, Dale N, Bennett LW. Development of Biogenic Amines During Fermentation of Poultry Carcasses. *Appl Poultry Res* 1996; 5:161-166
30. Hersey S J, Sachs G. Gastric acid secretion. *Physiol Rev* 1995; 75:155-189.
31. Sachs G, Zeng N, Prinz C. Physiology of isolated gastric endocrine cells. *Annu Rev Physiol* 1997; 59: 243-256.
32. Miyazaki S, Umenura Y. Effects of histamine antagonists and anticholinergic agent and antacid on gizzard erosions in broiler chicks. *British Poult Sci* 1987;28:49-45.
33. Hinrichsen JP, Neira M, Lopez C, Chiong M, Ocaranza MP, Rutman M, Blamey J, Lavandero S. Omeprazole, a specific gastric secretion inhibitor on oxytriptopeptin cells, reduces gizzard erosion in

- broiler chicks fed with toxic fish meals. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1997;117: 267-273.
34. Reyes-Sosa C F, Castellanos-Molina R. Nutritional evaluation of gizzard erosion positive brown fish meal in starter diets for Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 1995; 138:323-329.
 35. Turk DE. Symposium: The Avian Gastrointestinal tract and digestion. The anatomy of the digestive Tract as Relate to Feed Utilization. *Poult Sci* 1982; 61: 1225-1244
 36. Sturkie PD. *Avian Physiology*. 4th ed. New York: Springer Verlag, 1986.
 37. Stoctenhuber F, sander-Dlassmann G. Increased plasma histmine levels in chronic renal failure. *N Engl J Med* 1987;6:386-392.
 38. Gill DS, Fonseca Va, Barradas Ma, Balliod R, Moorhead JF, Dandona P. Plasma histamine in patients with cronic renal failure and necphrotic síndrome. *J Clin Pathol* 1991: 243- 245.
 39. Anton AH, Sayre DF. A modified fluorometric procedure for tissue histamine and its distribution in various animals. *Jour Phar Exp Ther* 1969; 166: 285-292.
 40. Estrada FE, Peralta ZL y Rivas MP. *Manual de Técnicas Histológicas*. México: AGT Editor SA. 1982.
 41. Chand N, Eyre P. Immunological release of histamine and slow-reacting substance in domestic fowl. *Can J comp Med* 1978; 42: 519-524.
 42. Hurwitz S, and Bar A. Regulation of pH in the intestine of the laying fowl. *Poult Sci*, 1968, 47: 1029-1036.
 43. Herpol C, and Van Gerbergen G. La signification du pH dans le tube digestif de gallus domesticus. *Ann Biol Anim Biochim Biophys*, 1967; 7:33-39.
 44. Newberry JA, Clark PD, and Hargis BM. Evaluación de la interacción del virus vacunal de la enfermedad de Marek y el virus de la infección de la bolsa de fabricior en la inducción de proventriculitis. *Memorias XXVI Convención Anual ANECA*; 2001 Abril 25-28; Acapulco Guerrero. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, 2001: 220.
 45. Cookson CK. Proventriculitis infecciosa: estudio de dos casos de campo en E.E.-U.U. El virus de la infección de la bolsa de

- fabricio desempeña un papel importante?. Memorias XXVI Convención Anual ANECA; 2001 Abril 25-28; Acapulco Guerrero. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, 2001: 220.
46. Moneret V DA. Biogenic amines. *Bibl Nutr Dieta* 1991; 48:1-71.
47. Carlyle JT, Duncan HR and King NW. The digestive system in veterinary pathology. 6th ed. Baltimore, Philadelphia: Waverley Company, 1997.
48. Puztai A, Oliveria JTA, Bardocz S and Grant G. Dietary kidney bean lectin-induced hyperplasia and increased polyamine content of the small intestine. *Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry*. St. Louis: Sigma Chemical Company, 1988.
49. Puztai A. *Plant lectins*. Cambridge, Cambridge: University Press, 1991.



Figura 1. Heces de los 3 tratamientos, a) grupo H10, b) grupo testigo y c) grupo H5.

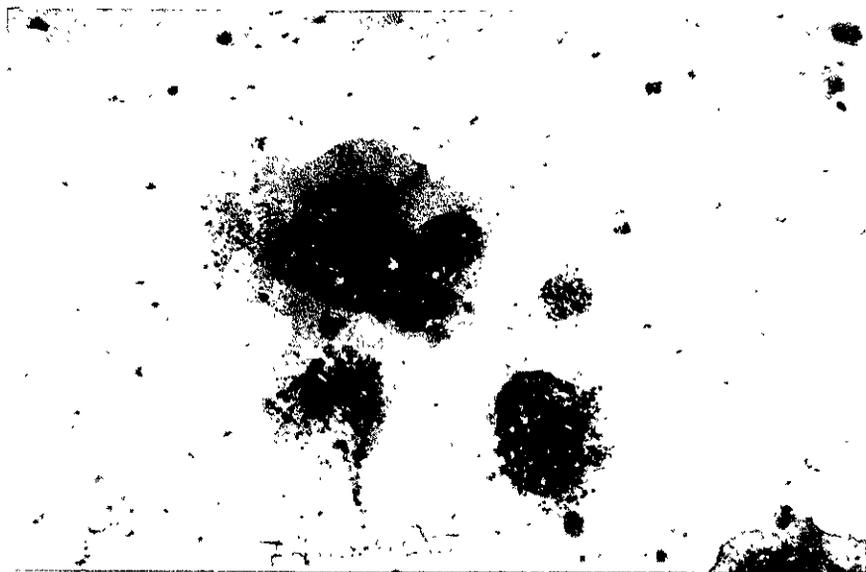


Figura 2. Se observa el desmoronamiento de las heces y el exceso de excreción de agua.
(grupo H5)

Cuadro 1.

CONCENTRACIÓN DE HISTAMINA EN SANGRE EN $\mu\text{g}/\text{ml}$.

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	0.076	--	--	--	--	--
T	--*	0.080 ^c	0.118	0.056	0.067	0.048
H5	--	0.172 ^b	0.113	0.107	0.084	0.109
H10	--	0.231 ^a	0.101	0.136	0.052	0.061

abc. Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

*--: No se tomo muestra

Cuadro 2

pH PROVENTRICULO

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	4.1	--	--	--	--	--
T	--*	4.1	4 ^a	3 ^a	3.2 ^a	3.5
H5	--	3.6	2.5 ^b	2.6 ^b	3.2 ^a	4.1
H10	--	2.8	2.1 ^b	2.5 ^b	2.0 ^b	3.8

ab. Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

*--: No se tomo muestra

Cuadro 3.

pH MOLLEJA

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	3.5	--	--	--	--	--
T	--*	3	3.1	2.8 ^b	3.1 ^b	3.6
H5	--	2.8	3.5	3.8 ^a	3.2 ^a	3.8
H10	--	3	3	3.0 ^b	3.1 ^b	3.8

ab. Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

*--: No se tomo muestra

Cuadro 4.
pH DUODENO:

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	6.4	--	--	--	--	--
T	--*	6.5 ^a	6.3	5.5 ⁿ	6.3 ^a	6.3
H5	--	6.5 ^a	6.1	6 ^a	5.9 ^{ab}	6.5
H10	--	5.8 ^b	6	6 ^a	5.6 ^b	6.3

ab. Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

*--: No se tomo muestra

Cuadro 5.

PROVENTRICULO: Glándulas Quísticas.

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	90	--	--	--	--	--
T	--*	0	0	54.7	0	0
H5	--	0	0	0	26.56 ^b	0
H10	--	0	0	0	39.23 ^a	0

ab. Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

*--: No se tomo muestra

Cuadro 6.

PROVENTRICULO: Ausencia de Papilas.

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	0	--	--	--	--	--
T	--*	0	0	54.7	0	30
H5	--	0	90	54.7	39.2 ^b	45
H10	--	0	90	90	63.44 ^a	60

ab. Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

*--: No se tomo muestra

Cuadro 7
MOLLEJA: Queratolisis en límite.

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	26.56	--	--	--	--	--
T	--	35.24	0	54.7	90 ^a	0
H5	--	0	0	0	50.77 ^a	30
H10	--	0	35.24	35.24	90 ^a	0

*Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

--: No se tomo muestra

Cuadro 8
MOLLEJA: Queratolisis dispersa.

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	26.56	--	--	--	--	--
T	--	0	0	0	0	0
H5	--	0	0	0	0	0
H10	--	0	0	0	26.6	0

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

--: No se tomo muestra

Cuadro 9.
MOLLEJA: Ulceras en límite.

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	0	--	--	--	--	--
T	--	0 ^{b*}	54.7 ^b	0 ^b	0 ^b	0
H5	--	90 ^b	90 ^b	90 ^b	0 ^b	0
H10	--	90 ^b	0	90 ^b	26.56 ^b	0

*Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

--: No se tomo muestra

Cuadro 10.
MOLLEJA: Ulceras dispersas.

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	50.77	--	--	--	--	--
T	--	0	0	35.2 ^a	0	0 ^b
H5	--	0	0 ^b	0 ^b	0	60 ^c
H10	--	0	54.7 ^d	0	0	0

*Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

--: No se tomo muestra

Cuadro 11.
DUODENO: Petequias.

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	0	--	--	--	--	--
T	--	90 ^a	35.24 ^b	35.24	63.4 ^{a*}	60
H5	--	54.7 ^b	0 ^c	54.7	63.4 ^a	45
H10	--	90 ^a	54.7 ^a	90	39.2 ^b	45

*Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

--: No se tomo muestra

Cuadro 12.
INTESTINO: Hiperemia.

GRUPOS	0 Horas	6 Horas	12 Horas	24 Horas	7 Días	14 Días
GB	0	--	--	--	--	--
T	--	0	35.24 ^{a*}	35.24 ^a	90 ^a	45 ^a
H5	--	0	0 ^c	54.7 ^a	0	60 ^a
H10	--	0	54.7 ^a	54.7 ^a	63.4 ^a	0

*Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

GB: Grupo Basal

T: Grupo Testigo

H5: Grupo con 5 mg de histamina/ave

H10: Grupo con 10 mg de histamina/ave.

--: No se tomo muestra

Cuadro 13.

LESIONES MICROSCOPICAS DE PROVENTRICULO

TOMA DE MUESTRAS	12 horas				6 horas				12 horas				24 horas				7 Dias				14 Dias				
	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	
LESIONES																									
1. LESIONES DE LESIONES	0	0	*	*	*	90	90	90	*	35	90	90	*	0	90	35	*	27	27	51	*	60	60	90	
2. LESIONES DE LESIONES	51	*	*	*	*	90	90	90	*	55	35	55	*	0	55	90	*	51	27	63	*	90	90	90	
3. LESIONES DE LESIONES	51	*	*	*	*	90	90	90	*	35	55	90	*	35	90	90	*	51	63	90	*	45	60	90	
4. LESIONES DE LESIONES	51	*	*	*	*	90	90	90	*	90	90	90	*	90	90	90	*	90	90	90	*	90	90	90	
5. LESIONES DE LESIONES	0	*	*	*	*	90	90	90	*	90	55	90	*	35	90	90	*	63	90	63	*	90	90	90	

1. LESIONES DE LESIONES
 2. LESIONES DE LESIONES
 3. LESIONES DE LESIONES
 4. LESIONES DE LESIONES
 5. LESIONES DE LESIONES

Cuadro 14.

LESIONES MICROSCOPICAS DE ISTMO

TOMA DE MUESTRAS	12 horas				6 horas				12 horas				24 horas				7 Dias				14 Dias				
	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	
LESIONES																									
1. LESIONES DE LESIONES	0	0	0	0	0	0	0	0	*	35	35	35	*	35	35	35	*	35	35	35	*	35	35	35	
2. LESIONES DE LESIONES	0	0	0	0	0	35	35	0	0	35	35	*	35	0	35	*	0	0	35	*	0	0	35	60	
3. LESIONES DE LESIONES	0	0	0	0	0	35	0	0	*	35	0	0	*	0	0	0	*	0	0	0	*	0	0	0	
4. LESIONES DE LESIONES	0	0	0	0	0	35	35	0	*	35	35	0	*	35	35	35	*	35	35	35	*	35	35	35	

1. LESIONES DE LESIONES
 2. LESIONES DE LESIONES
 3. LESIONES DE LESIONES
 4. LESIONES DE LESIONES

Cuadro 15.

LESIONES MICROSCOPICAS DE MOLLEJA

TOMA DE MUESTRAS	2 horas				6 horas				12 horas				24 horas				7 Días				14 Días				
	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	
1. Lesión de la molleja	63	*	*	*	*	45	0	35	*	0	55	0	*	0	90	90	*	0	39	39	*	0	0	45	
2. Lesión de la molleja	80	*	*	*	*	50	33	55	*	85	90	90	*	0	90	55	*	51	63	63	*	60	60	60	
3. Lesión de la molleja	64	*	*	*	*	36	38	55	*	0	35	35	*	0	90	90	*	0	39	63	*	30	60	90	
4. Lesión de la molleja	37	*	*	*	*	10	58	35	*	35	35	20	*	0	90	0	*	39	27	39	*	45	60	90	

1. Lesión de la molleja

2. Lesión de la molleja

3. Lesión de la molleja

4. Lesión de la molleja

5. Lesión de la molleja

Cuadro 16.

LESIONES MICROSCOPICAS DE DUODENO

TOMA DE MUESTRAS	2 horas				6 horas				12 horas				24 horas				7 Días				14 Días				
	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	
1. Lesión de la molleja	51	*	*	*	*	45	35	55	*	45	90	30	*	66	45	66	*	90	90	90	*	90	69	60	
2. Lesión de la molleja	1	*	*	*	*	10	20	55	*	90	90	0	*	90	90	90	*	90	90	90	*	90	90	90	
3. Lesión de la molleja	0	*	*	*	*	0	0	30	*	0	0	90	*	75	66	90	*	90	90	90	*	90	90	90	
4. Lesión de la molleja	31	*	*	*	*	10	0	20	*	35	0	0	*	0	35	0	*	17	63	18	*	30	15	15	
5. Lesión de la molleja	0	*	*	*	*	0	0	35	*	0	0	55	*	0	90	90	*	0	0	90	*	90	90	90	

1. Lesión de la molleja

2. Lesión de la molleja

3. Lesión de la molleja

4. Lesión de la molleja

5. Lesión de la molleja

Cuadro 17

LESIONES MICROSCOPICAS DE PANCREAS

LESIONES	1 Horas				6 horas				12 Horas				24 Horas				7 Dias				14 Dias			
	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10
.....	33	*	*	*	35	20	65	*	35	35	20	*	55	0	0	*	27	0	63	*	0	60	45	

Cuadro 18.

LESIONES MICROSCOPICAS DE INTESTINO (YEYUNO)

TOMA DE MUESTRAS	1 horas				6 horas				12 horas				24 horas				7 dias				14 dias			
	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10	GB	T	H5	H10
.....	51	*	*	*	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	51	50	50	*	50	55	50	
.....	30	*	*	*	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	30	30	30	*	30	30	30	
.....	10	*	*	*	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	10	10	10	*	10	10	10	
.....	1	*	*	*	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	*	1	1	1	
.....	10	*	*	*	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	*	10	10	10	