



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales

EFFECTO DE LA REDUCCIÓN DEL CONSUMO DE ALIMENTO SOBRE LAS  
REACCIONES PRO-OXIDANTES E INFLAMATORIAS EN HÍGADO DE POLLO  
DE ENGORDA Y SU RELACIÓN CON LA MORTALIDAD POR SÍNDROME  
ASCÍTICO.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta

Alejandra Chávez Luján

Dirigido por:

Dr. Konisgmar Escobar García

Querétaro, Qro. a 25 de noviembre de 2024

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



## CC BY-NC-ND 4.0 DEED

### Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

#### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

#### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

#### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad de Ciencias Naturales**  
**Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable**

**EFFECTO DE LA REDUCCIÓN DEL CONSUMO DE ALIMENTO SOBRE LAS REACCIONES PRO-OXIDANTES E INFLAMATORIAS EN HIGADO DE POLLO DE ENGORDA Y SU RELACIÓN CON LA MORTALIDAD POR SÍNDROME ASCÍTICO.**

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
**Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable**

**Presenta**

**MVZ. Alejandra Chávez Luján**

**Dirigido por**

**Dr. Konisgmar Escobar García**

**Dr. Konisgmar Escobar García.**  
Presidente.

**Dra. Samantha Elizabeth Bautista Marín.**  
Secretario.

**Dr. José Guadalupe Gómez Soto.**  
Vocal.

**Dra. Olivia Vázquez Martínez.**  
Suplente.

**Dr. William Vicente Narváez Solarte.**  
Suplente.

**Centro Universitario, Querétaro, Qro.**  
**Noviembre 2024**  
**México**

## RESUMEN

El trabajo metabólico que implica la ganancia de peso acelerada en pollo de engorda excede su capacidad de adaptación e incrementa la incidencia de desórdenes metabólicos importantes, tales como el Síndrome Ascítico (SA) que genera grandes pérdidas económicas para las granjas avícolas del país debido a las altas mortalidades. Es posible modificar el metabolismo energético de un organismo al restringir o incrementar la cantidad de alimento que este consume, de manera que, se puede disminuir la mortalidad por SA y mantener la productividad de la parvada manejando adecuadamente la cantidad de alimento ofrecido. Con el fin de valorar la alimentación como un factor desencadenante del SA, durante 49 días se alimentó con 3 diferentes reducciones de consumo (1: 0%, 2: >8.82% y 3: >17.58%) a 780 pollos de la estirpe genética Ross y semanalmente se evaluó el efecto del consumo de alimento sobre el daño oxidativo e inflamatorio del hígado. El daño oxidativo se evaluó mediante las pruebas de TBARS y Dienes conjugados (DC), la expresión de IL-6, como marcador de inflamación hepática, se determinó mediante inmunofluorescencia (IF) y la mortalidad por SA fue registrada diariamente. Como método estadístico se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial y las medias se analizaron utilizando Tuckey ( $P < 0.05$ ). Las reducciones de alimento mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, los pollos del tratamiento 1 y 3 tuvieron niveles más altos de reacciones pro-oxidantes comparados con los del tratamiento 2. Debido a que los pollos del tratamiento 3 consumieron menos alimento, se sugiere que, al haber tenido un menor aporte energético, de manera compensatoria el organismo incrementó el metabolismo catabólico y en respuesta las reacciones pro-oxidantes derivadas de la movilización de reservas energéticas también se elevaron. La inflamación disminuyó a la par de las reducciones de consumo tal como se esperaba y finalmente, la interacción de la edad y el tratamiento tuvo un efecto sobre la mortalidad por SA y la ganancia diaria de peso (GDP); de manera que, al consumir más alimento, los animales del tratamiento 1 tuvieron una mayor ganancia de peso, pero también mayor mortalidad; En contraparte, los animales del tratamiento 2 con reducción de consumo moderado, mostraron un efecto benéfico sobre los niveles

de estrés oxidativo. Esta mejor adaptabilidad del sistema antioxidante ante las reacciones pro-oxidantes, permitió mantener la productividad y reducir la mortalidad por SA en el tratamiento 2.

Palabras clave RESTRICCIÓN ALIMENTICIA, NUTRICIÓN ANIMAL, MEMBRANAS HEPÁTICAS, METABOLISMO ENERGÉTICO, ESTRÉS OXIDATIVO, SISTEMA ANTIOXIDANTE, INTERLEUCINA-6, AVES DE ENGORDA, ASCITIS.

## ABSTRACT

The metabolic workload associated with the accelerated weight gain of broiler chickens exceeds their adaptive capacity, increasing the incidence of significant metabolic disorders such as Ascites Syndrome (AS), which causes substantial economic losses to poultry farms due to high mortality rates. Energy metabolism in organisms can be modulated by restricting or increasing feed intake, allowing for reduced mortality from AS while maintaining flock productivity through proper feed management. To evaluate feed intake as a triggering factor for AS, 780 Ross broilers were fed with three different levels of feed restriction (1: 0%, 2: >8.82%, and 3: >17.58%) over 49 days. The effects of feed intake on oxidative and inflammatory liver damage were assessed weekly. Oxidative damage was analyzed using TBARS and conjugated dienes (CD) assays, while hepatic inflammation, indicated by IL-6 expression, was determined via immunofluorescence (IF). Daily AS-related mortality was recorded. A completely randomized factorial design was employed, and means were analyzed using Tukey's test ( $P < 0.05$ ). Feed restriction resulted in significant differences between treatments. Birds in treatments 1 and 3 exhibited higher levels of pro-oxidant reactions compared to those in treatment 2. In treatment 3, lower feed intake likely led to reduced energy supply, prompting a compensatory increase in catabolic metabolism. This, in turn, elevated pro-oxidant reactions associated with the mobilization of energy reserves. Inflammation decreased in tandem with greater feed restriction, indicating that reduced feed intake was associated with lower hepatic inflammation levels. The interaction between age and treatment influenced AS mortality and daily weight gain (DWG). Birds in treatment 1, with unrestricted feeding, achieved higher weight gains but also experienced increased mortality. Conversely, treatment 2, with moderate feed restriction, demonstrated a beneficial effect on oxidative stress levels. The improved adaptability of the antioxidant system to pro-oxidant reactions in treatment 2 allowed for maintained productivity and reduced AS-related mortality.

**Keywords: Feed restriction, Animal nutrition, Hepatic membranes, Energy metabolism, Oxidative stress, Antioxidant system, Interleukin-6, Broiler chickens, Ascites.**

## **DEDICATORIA**

Con mucho cariño para Gis y papi Tito, gracias por seguir conmigo. ¡Miren lo que logramos!

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías, CONAHCYT, por el apoyo económico para la realización de este trabajo.

Le agradezco a Ale por esforzarse en recuperar la confianza que habíamos perdido. A mailob Kevin porque su paciencia y amor a la vida me inspiraron todos los días a levantar la mirada. A mi familia, que creyó en mí, apoyando mi rebeldía y ganas de aprender, aunque estas me llevaran lejos de ellos, a Darrell por mantener mi corazón siempre cálido y a mis maestros Konisgmar, Samantha, José y William por su apoyo y guía en todo momento a través de caminos inexplorados.

Especial agradecimiento para mi asesora la Dra. Olivia Vázquez y al Instituto de Neurobiología de la UNAM por su invaluable apoyo, al laboratorio de Nutrición Animal de la UAQ por incluirme en sus proyectos y finalmente al Dr. Christian Molina por su asesoría, disponibilidad y amabilidad durante toda la maestría.



## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>DEDICATORIA</b> .....	vi
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	vii
<b>ÍNDICE</b> .....	viii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	x
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	xi
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. ANTECEDENTES</b> .....	2
2.1 Industrialización de la avicultura y su importancia económica.....	2
2.2 Reacciones pro-oxidantes y sistema antioxidantes del pollo.....	3
2.3 Radicales libres y lipoperoxidación (LP).....	4
2.4 Hipertensión y síndrome ascítico (SA) en pollo de engorda.....	5
2.5 Respuesta inmune e inflamación.....	7
2.6 Factores de estrés desencadenantes del Síndrome Ascítico en pollo de engorda.....	8
2.6.1 <i>Temperatura y estrés calórico</i> .....	8
2.6.2 <i>La dieta y la alimentación sobre el metabolismo energético</i> .....	9
2.6.3 <i>Altitud</i> .....	11
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	12
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	13
4.1 Objetivo general.....	13
4.2 Objetivos específicos.....	13
<b>V. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	14
5.1 Unidad experimental avícola.....	14
5.2 Animales, manejo y dietas.....	14
5.3 Necropsias y muestreo.....	17
5.4 Parámetros productivos.....	17
5.5 Evaluación bioquímica de reacciones pro-oxidantes.....	18
5.6 Evaluación Inmunológica de inflamación.....	18
5.7 Análisis estadístico.....	19

<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	20
6.1	Reacciones pro-oxidantes .....	20
6.2	Reacciones inflamatorias.....	23
6.3	Mortalidad y variables productivas .....	29
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIÓN</b> .....	32
<b>VIII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	34
<b>IX.</b>	<b>ANEXO 1</b> .....	41
	Homogenado de hígado de pollo.....	41
<b>X.</b>	<b>ANEXO 2</b> .....	42
	Determinación de proteína (Lowry). .....	42
<b>XI.</b>	<b>ANEXO 3</b> .....	43
	Sustancias que reaccionan al ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	43
<b>XII.</b>	<b>ANEXO 4</b> .....	44
	Dienos conjugados (DC). .....	44
<b>XIII.</b>	<b>ANEXO 5</b> .....	45
	Inmunofluorescencia.....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Principales RL y sustancias pro-oxidantes en organismos aeróbicos. ...	3
<b>Figura 2.</b> Patología del Síndrome Ascítico (SA). .....	7
<b>Figura 3.</b> Estadísticos de las reacciones pro-oxidantes por tratamiento. Relación de los promedios de TBARS y DC. ....	23
<b>Figura 4.</b> Interacción de la edad y el tratamiento con respecto a las UAF de IL-6. ....	25
<b>Figura 5.</b> Comportamiento del promedio de las UAF por edad por tratamiento... ..	25
<b>Figura 6.</b> Alimento consumido (%) semanalmente durante la engorda. ....	26
<b>Figura 7.</b> Alimento consumido (%) semanalmente durante la engorda. ....	28
<b>Figura 8.</b> Tinción de inmunofluorescencia (IF) para IL-6 en hígado de pollo a edad 4 (día 49); A: Tratamiento 1; B: Tratamiento 2; C: Tratamiento 3.....	28
<b>Figura 9.</b> Comportamiento del peso promedio (gr) semanal por tratamiento. ....	29
<b>Figura 10.</b> Mortalidad semanal asociada al SA por tratamiento. ....	30

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Ingredientes de la dieta experimental por fase de alimentación. ....	15
<b>Cuadro 2.</b> Composición química proximal (AQP) del alimento por fase de alimentación. ....	16
<b>Cuadro 3.</b> Consumo acumulado semanal (Kg) por tratamiento.....	16
<b>Cuadro 4.</b> Resultados estadísticos de TBARS y Dienos conjugados por tratamiento. ....	20
<b>Cuadro 5.</b> Resultados de prueba de inmunofluorescencia (IF) por tratamiento....	23
<b>Cuadro 6.</b> Parámetros productivos semanales por tratamiento.....	32

## I. INTRODUCCIÓN

En respuesta a las exigencias del mercado, la avicultura moderna ha optimizado la formulación de dietas, genética y estrategias de manejo durante la crianza del pollo de engorda, obteniendo de esta manera mejores ganancias de peso en periodos más cortos. Sin embargo, la exigencia productiva en pollos incrementa también el estrés metabólico y propicia el desarrollo de desórdenes metabólicos como el síndrome ascítico (SA), cuya patogenia limita el bienestar de los pollos y aumenta su mortalidad.

La alimentación es un factor de estrés importante a considerar durante el desarrollo del SA; la capacidad de ingesta de alimento por parte de los pollos y el contenido nutrimental de las dietas de engorda aceleran su metabolismo energético, lo que, a su vez, incrementa las reacciones pro-oxidantes y el estrés oxidativo por radicales libres (RL). Debido a lo anterior, la capacidad del sistema antioxidante es fundamental para modular la generación de RL como especies reactivas de oxígeno (ROS) que dañan a nivel molecular los lípidos de membrana en un proceso conocido como lipoperoxidación (LP). Los ROS tienen el potencial de causar daños irreversibles en los tejidos, induciendo procesos inflamatorios durante el desarrollo del SA. Por esta razón, una estrategia para el control del SA es la disminución del consumo de energía mediante la reducción del consumo de alimento. De esta manera, la adaptabilidad del sistema antioxidante permite un mejor comportamiento ante las reacciones pro-oxidantes, reduciendo el estrés oxidativo y la inflamación que causan alteraciones en la productividad de los pollos y muerte súbita por SA.

El presente trabajo muestra el efecto que tiene la reducción en la cantidad de alimento ofrecido a los pollos sobre las reacciones prooxidantes y la producción de IL-6 como marcador de inflamación en tejido hepático además de su relación con la mortalidad por SA.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 Industrialización de la avicultura y su importancia económica

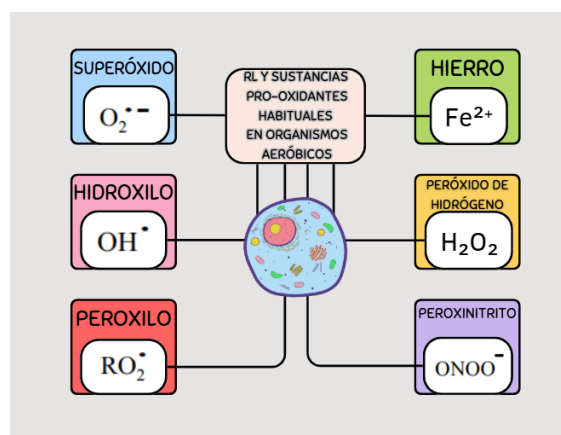
Según el compendio estadístico del Consejo Mexicano de la Carne (2021), el 65% del inventario de aves en México se destina al mercado de engorda, de hecho, el 81% de la carne de pollo que se consume en el país proviene del trabajo de productoras y productores nacionales. A nivel mundial, México se encuentra en la posición número 12 entre los países con mayor consumo de carne de pollo (UNA, 2021) con un consumo de 4.4 millones de toneladas/año. Debido a esto, la producción avícola es cada vez más importante para el desarrollo económico del país y los trabajos de investigación con enfoque veterinario ayudan a cumplir los estándares internacionales de productividad. Analizar la respuesta metabólica del pollo ante las exigencias actuales del mercado ayuda a generar nuevas y mejores estrategias de manejo.

Por otro lado, el crecimiento poblacional y el consumo individual de carne de pollo impulsan la industrialización de la producción avícola (FAO, 2022). Con el fin de optimizar la producción se ha conseguido acortar el tiempo de engorda de los pollos, gracias a la formulación de las dietas que impulsan el desarrollo muscular acelerado característico de las líneas genéticas de pollos de engorda (Domínguez, 2016). Sin embargo, estas características también incrementan la incidencia de desórdenes metabólicos como el SA (Cuevas et al., 2006; Domínguez; Paguay & Parra, 2016; Yang et al., 2016; Gonzales, 2018; Biwas, 2019; Calagua, 2019; Jaramillo, 2019; Montecinos, 2020; Novillo, 2021; Borda & Hilbert, 2022; Fao, 2022). El porcentaje de aves muertas por SA puede ser del 10% al 15%; sin embargo, actualmente el cambio climático ha convertido a la temperatura en uno de los factores ambientales más difíciles de controlar durante la engorda (Domínguez, 2016; Emami et al., 2020; Alarcón, 2021). Se estima que la mortalidad y los costos relacionados con el manejo del SA representan pérdidas significativas para los grandes productores, que van desde miles hasta millones de pesos (Sami, 2019; UNA, 2021; FAO, 2022).

## 2.2 Reacciones pro-oxidantes y sistema antioxidantes del pollo

El oxígeno es un agente oxidante importante pues la inestabilidad de su estructura da lugar a subproductos del metabolismo celular, conocidos como radicales libres (RL). A su vez, la naturaleza pro-oxidante de los RL puede provocar daños reversibles e irreversibles en las células (Hermes-Lima, 2004).

El crecimiento rápido de los pollos de engorda, las altas temperaturas y una dieta rica en carbohidratos, eleva la demanda metabólica de oxígeno y la formación de RL (Yang et al., 2016). La formación de RL como las especies reactivas de oxígeno (ROS) incrementa con la presión metabólica (Wallin et al., 1993), cuando la formación de ROS supera los mecanismos antioxidantes del ave, entonces se presenta una situación celular conocida como estrés oxidativo (Céspedes & Castillo, 2008). Debido a que los dobles enlaces en los ácidos grasos poliinsaturados son muy densos (Emami et al., 2020) los fosfolípidos de membrana tienden a ser especialmente susceptibles al estrés oxidativo (Suárez et al., 2020). Durante los estados de estrés oxidativo, los ROS dañan a nivel molecular los lípidos de membrana y otras estructuras celulares, situación que provoca inflamación y muerte celular (Emami, 2020). Sustancias pro-oxidantes como el Hierro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) facilitan la producción de RL, los RL más habituales se muestran en la Figura 1 y corresponden a ROS y especies reactivas de nitrógeno (RNS), referidas más adelante en este trabajo (Araneda, 2012).



**Figura 1.** Principales RL sustancias pro-oxidantes en organismos aeróbicos.

La oxidación no siempre tiene efectos negativos o dañinos para el ave; por ejemplo, la oxidación de los aminoácidos de la dieta y la oxidación incompleta de carbohidratos, proteínas y lípidos forma parte del metabolismo intermediario para la producción de energía metabólica en forma de ATP, que es una fuente importante de energía inmediata para el organismo (Sindik, 2008; Osorio & Flórez, 2011). Sin embargo, hay ciertas peculiaridades en los pollos, como la digestión y el transporte de lípidos hasta el hígado, que facilita el almacenamiento de triglicéridos en los hepatocitos (Osorio & Flórez, 2011), lo que a su vez, dificulta el desempeño del sistema antioxidante ante la formación de RL (Emami et al., 2020).

El organismo cuenta con defensas contra el daño oxidativo; enzimas como la Superóxido dismutasa y la Glutación peroxidasa, actúan sobre los RL y los neutralizan para que no causen daño oxidativo en la célula (Baxter et al., 2019). En las aves el sistema antioxidante es más potente que en los mamíferos (Lin et al., 2004). El ácido úrico (AU) se excreta como producto final del metabolismo del nitrógeno y la naturaleza antioxidante de este compuesto disminuye las concentraciones de óxido nítrico (NO) en el endotelio vascular (Naranjo, 2023) sin embargo, el aumento de ROS durante la patología del SA es suficiente para sobrepasar las defensas antioxidantes (Emami et al., 2020) y dañar las membranas celulares (Flores et al., 2011). El daño en las membranas celulares ocasiona la pérdida del equilibrio interno (homeostasis) iónico y osmótico de la célula, lo que, en muchos casos desencadena procesos de daño o muerte celular (Tortora et al., 2022).

### 2.3 Radicales libres y lipoperoxidación (LP)

De manera natural, la respiración mitocondrial es la principal fuente de ROS (Ah-Ng, 2016) y las membranas de las mitocondrias, involucradas en este proceso, se hacen más vulnerables al daño oxidativo (Nava, 2010; Emami, 2020; Lai et al., 2022). El incremento en la actividad metabólica del hígado de los pollos de engorda aumenta por sí misma la cantidad de RL que interactúan a nivel molecular con el tejido hepático (Emami et al., 2020). El tejido hepático que es rico en lípidos poliinsaturados incrementa a su vez las reacciones pro-oxidantes y el daño oxidativo



producido por los RL (Figura 1). Se le llama LP al daño oxidativo por RL sobre los lípidos (Contesse, 2010); durante la fase inicial de esta reacción, se generan dienos conjugados (DC) y durante la fase terminal se forman moléculas de aldehídos (De León & Borgues, 2020) capaces de iniciar procesos cíclicos y autosustentables de daño oxidativo sobre los tejidos (Forman et al., 2006).

El Malonaldehído (MDA) es un aldehído producto final de la LP y gracias a su fácil reacción con el ácido tiobarbitúrico se utiliza como un marcador de daño irreversible sobre los lípidos (Contesse, 2010). De hecho, diversos artículos de investigación han considerado a la técnica de TBARS o sustancias que reaccionan al ácido tiobarbitúrico, como uno de los principales criterios para evaluar el estrés oxidativo en aves ya que con ella se cuantifica la susceptibilidad de los lípidos a la oxidación (Lin, 2004; Céspedes & Castillo, 2008; Kabploy, 2016; De León & Borgues, 2020; Emami, 2020). De manera complementaria, la determinación de dienos conjugados (DC) ayuda a detectar daños reversibles en los lípidos por lo que el aumento de las reacciones pro-oxidantes y la respuesta antioxidante puede ser monitoreado mediante la determinación de DC y MDA (Flores et al., 2011).

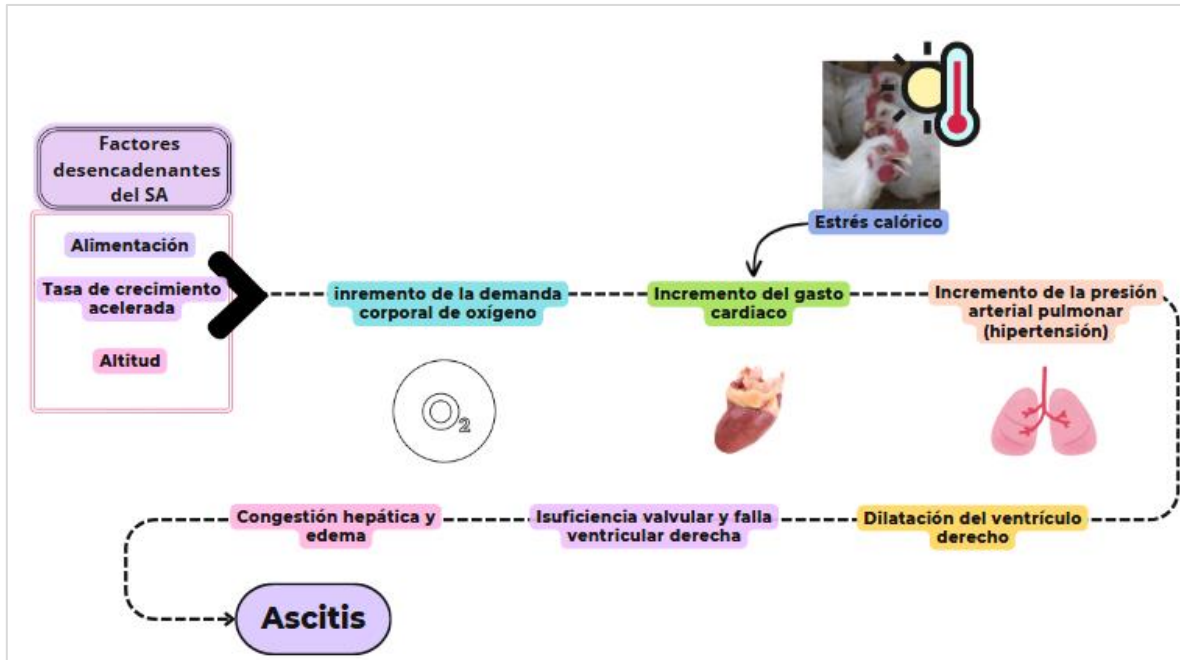
#### 2.4 Hipertensión y síndrome ascítico (SA) en pollo de engorda

El SA, también referido como síndrome de hipertensión pulmonar (Domínguez, 2016), abarca un conjunto de cambios metabólicos que causan edema por el aumento en la permeabilidad de las membranas vasculares y la consecuente acumulación de líquidos en la cavidad celómica del pollo (Borda & Hilbert, 2022). Este líquido ascítico proviene de una combinación de linfa y plasma sanguíneo que se filtra del hígado hacia el abdomen y se acumula rápidamente como consecuencia de la insuficiencia cardiaca congestiva (Biwas, 2019).

El SA reduce el bienestar animal y aumenta el número de aves muertas por parvada, lo que representa pérdidas económicas por merma, retrasos en el crecimiento y aumento en los costos de producción (Cuevas et al., 2006; Rojas & Vásquez, 2013; Domínguez, 2016; Sami 2019; Pas et al., 2020). Una alta mortalidad puede afectar la competitividad de los productores nacionales dentro del mercado;

menor cantidad de aves significa menos carne disponible para el mercado, lo que reduciría la oferta y aumentaría los precios (Sami, 2019), haciendo que el producto sea cada vez menos accesible para los consumidores.

El rápido desarrollo muscular, pequeño volumen pulmonar y limitada capacidad cardiovascular son factores que contribuyen a la hipertensión pulmonar y al aumento de la mortalidad en las líneas genéticas modernas de pollo de engorda (Borda & Hilbert, 2022). Durante los estados de hipertensión se produce un desequilibrio entre el gasto cardíaco y la capacidad anatómica de la vascularización en los músculos del pollo para distribuir cualquier incremento en el flujo sanguíneo (Fernández, 2002); esto causa vasoconstricción en las arteriolas pulmonares, resistencia vascular pulmonar y oclusión permanente de la arteria pulmonar derecha (Domínguez, 2016) provocando fallas valvulares, congestión hepática y ascitis (Paguay & Parra, 2016). La hipertensión pulmonar es importante para el desarrollo del SA (Moncaleano-Vega et al., 2011) porque lesiona las paredes vasculares y dificulta el suministro de oxígeno para las células (Yang et al., 2016) (Figura 2). Estas lesiones se relacionan también con la producción de óxido nítrico (NO) que en combinación con  $O_2^{\cdot-}$  genera RNS dañinos como el Peroxinitrito (ONOO-) (Ah-Ng, 2016). El ONOO- aumenta las reacciones pro-oxidantes y es difícil de controlar por los mecanismos antioxidantes (Domínguez, 2016). Sin un manejo oportuno, la inestabilidad en la concentración local de NO y RL incrementa la probabilidad de sobrepasar las defensas antioxidantes y provocar inflamación crónica, daño vascular y muerte asociada a SA (Naranjo, 2023).



**Figura 2.** Patología del Síndrome Ascítico (SA).

## 2.5 Respuesta inmune e inflamación

El estrés y la inflamación son una respuesta innata que involucra moléculas esenciales para la supervivencia y el proceso de curación de todos los animales, conocidas como citocinas (Baxter, 2016). Las citocinas también contribuyen a la vasoconstricción y son un punto clave en el aumento de la resistencia vascular pulmonar y los cambios estructurales durante la patogénesis del SA (Domínguez, 2016). La resistencia vascular induce a la proliferación de células musculares lisas y la infiltración de células inflamatorias en la pared arterial causando hipertensión pulmonar (Céspedes & Castillo, 2008). Debido a esto, los pollos desarrollan problemas respiratorios, además, la falta de oxígeno induce la producción de ácido láctico en sus músculos, lo que a su vez altera el equilibrio ácido-base y da paso a situaciones de acidosis metabólica (Paguay & Parra, 2016). Los músculos del corazón, como el miocardio, son especialmente afectados por los estados de hipoxia y acidosis, por lo que el SA disminuye el rendimiento cardíaco y limita la capacidad pulmonar (Domínguez, 2016).

La hipertensión pulmonar y la formación de cuerpos apoptóticos durante el SA induce la expresión de citocinas proinflamatorias como IL-6 (Yang et al., 2016; Naranjo, 2023). La IL-6 se considera un indicador temprano de reacciones inflamatorias y es el estimulante básico de la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado, favoreciendo la transición de una reacción inflamatoria aguda a una de fase crónica (Lai et al., 2022); La inflamación crónica incrementa la producción de ROS y la muerte mitocondrial (Nava, 2010). La muerte mitocondrial induce al factor de transcripción NF-κB estimulando la síntesis de más IL-6 (Flores et al., 2011). La sobreproducción de esta citocina empeora el estrés calórico y la formación de ROS y RNS (Emami, 2020). Esta avalancha de daño oxidativo e inflamación es la responsable de causar la muerte súbita en pollos de engorda (Dominguez, 2016).

## 2.6 Factores de estrés desencadenantes del Síndrome Ascítico en pollo de engorda

### 2.6.1 *Temperatura y estrés calórico*

Para que los órganos vitales funcionen eficientemente, el pollo debe mantener una temperatura corporal interna cercana a los 41°C, para ello, es necesario que a partir de la tercer semana de engorda, la temperatura ambiental de la caseta se mantenga entre 20-25°C procurando el confort de los pollos (Alarcón, 2021). El manejo de la temperatura ambiental se complica en cada producción, debido a que el abundante plumaje de los pollos limita la disipación del calor corporal hacia el ambiente, lo que los hace especialmente sensibles al estrés crónico por calor o estrés calórico (Emami, 2020; Alarcón, 2021). Durante el desarrollo del SA, el estrés calórico es un factor importante a considerar ya que reduce la ganancia de peso (Domínguez, 2016); para disipar el calor corporal la circulación sanguínea se concentra en la periferia, reduciendo el aporte sanguíneo hacia el intestino, la motilidad intestinal, la ingesta y la absorción de nutrientes (Alarcón, 2021).

El equilibrio redox también se ve afectado por el estrés calórico (Lin et al., 2004); de manera compensatoria, el pollo entra en acidosis respiratoria, lo que incrementa su frecuencia respiratoria, ritmo cardiaco y estimula el jadeo como un mecanismo de eliminación de CO<sub>2</sub> y agua hacia el ambiente, de esta manera se busca regular

el pH ácido del organismo (Alarcón, 2021). Cuando el manejo de la humedad y temperatura dentro de la caseta no es adecuado, este mecanismo regulatorio se vuelve ineficiente y el estrés calórico se prolonga (Montesinos, 2020). En consecuencia, la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias falla e incrementa la formación de RL (Emami, 2020).

### *2.6.2 La dieta y la alimentación sobre el metabolismo energético*

Los pollos tienen altas exigencias metabólicas, lo que les da la capacidad de consumir grandes volúmenes de alimento en proporción a su tamaño corporal (Bardaji, 2000) tanto la cantidad de alimento consumido como el contenido de energía metabolizable varía según la edad del pollo, volviendo de la alimentación un factor importante para el desarrollo del SA (Novillo, 2021); a la par que el pollo crece, incrementa la proporción de nutrientes que necesita para cubrir sus requerimientos metabólicos diarios de energía (EM) y continuar creciendo rápido (Kato, 2011). Alrededor de la tercer semana de edad el pollo alcanza su máxima capacidad de ingesta (Bivas, 2019), en este punto su sistema cardio-pulmonar no puede cubrir el requerimiento real de oxígeno necesario para metabolizar el alimento consumido y a la vez oxigenar sus grandes músculos (Biswas, 2019).

Las dietas comerciales para pollo de engorda son consideradas acidogénicas por los altos niveles de proteína que aportan; la oxidación de las proteínas genera ácidos metabólicos (Fernández, 2002; Alarcón, 2021). Estos a su vez, aceleran el crecimiento y aumentan la demanda metabólica de oxígeno induciendo en el pollo estados de estrés metabólico (Yang, 2016; Emami, 2020, Alarcón, 2021). El equilibrio ácido-base también se ve afectado por los componentes de la dieta (Lin et al., 2004; Domínguez, 2016) de hecho, el pH depende de la concentración de hidrogeniones ( $H^+$ ) aportados diariamente por la dieta (Fernández, 2002).

Durante el proceso de fosforilación oxidativa, la mitocondria usa un sistema de transporte de electrones con la energía derivada de la oxidación de los componentes del alimento para generar un gradiente de protones ( $H^+$ ) a través de

su membrana interna que impulsa la síntesis de ATP (Ah-Ng, 2016). El estrés metabólico hace que las mitocondrias aceleren la producción de sustancias pro-oxidantes derivadas del metabolismo energético (Forman, 2006; Sindik, 2008; Osorio & Flórez, 2011; Alarcón, 2021). El incremento de sustancias pro-oxidantes como el ion hidroxilo (OH<sup>-</sup>) induce la LP y altera la disponibilidad de proteínas y aminoácidos como la metionina, que son importantes para el desarrollo muscular de los pollos (González-Torres, 2000).

Las altas inclusiones de granos de cereal en las dietas hacen al pollo susceptible a desarrollar esteatosis hepática o hígado graso; un gran contenido de almidón en las dietas es transformado en sustancias grasas y almacenado como triglicéridos, con el tiempo, la acumulación de grasa en las células hepáticas o hepatocitos causa toxicidad y daño celular (Osorio & Flórez, 2011; Emami, 2020). El hígado recibe mucha carga metabólica, hasta el 90% de los ácidos grasos se sintetizan en el hígado aviar y las reacciones enzimáticas que ocurren durante la lipogénesis y la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos son energéticamente exigentes (Osorio & Flórez, 2011), por lo que la misma actividad hepática incrementa la susceptibilidad de los hepatocitos al daño oxidativo (Emami, 2020). El daño oxidativo puede empeorar por el consumo de alimento y el estrés calórico que experimentan los pollos durante su estancia en las casetas de engorda (Alarcón, 2021; Gómez, 2021).

Un sistema de alimentación bien administrado ayuda a mantener el buen comportamiento productivo, previene el estrés metabólico prolongado y regula la actividad cardiorrespiratoria en los pollos (López et al., 2016). La restricción alimenticia es la principal estrategia nutricional para prevenir y controlar el SA (Valdes & Suárez, 2015; Paguay & Parra, 2016; Suárez et al., 2020); consiste en reducir la cantidad de alimento durante la engorda para frenar la tasa de crecimiento y con ello los problemas metabólicos y la mortalidad (Paguay & Parra, 2016; Morales, 2019).

### 2.6.3 *Altitud*

La falta de oxígeno o hipoxia que se genera durante los estados de hipertensión en pollo se ha relacionado con la altitud en la que se ubican las casetas de engorda, por lo que la altitud es un factor importante en el desarrollo del SA (Domínguez, 2016). De manera que, a mayor altura sobre el nivel del mar, la cantidad de oxígeno ambiental disponible disminuye (Moncaleano-Vega, 2011). Algunas producciones localizadas a altitudes que superan los 1500 msnm y además ofrecen un alto consumo de alimento a las aves, obtienen una mayor ganancia de peso con un incremento en la mortalidad por síndrome ascítico (Paredes & Vázquez, 2020). La hipoxia también induce el catabolismo de carbohidratos y la producción de ácido láctico que estimula la sobreproducción de eritrocitos, haciendo que la sangre se vuelva viscosa y difícil de perfundir a través de los pulmones (Domínguez, 2016). Como consecuencia, los vasos sanguíneos pulmonares se contraen y la resistencia vascular pulmonar aumenta, causando hipertrofia ventricular derecha y problemas cardiorrespiratorios (Yang et al., 2016). Derivado de lo anterior, en casetas ubicadas a altitudes inadecuadas para la oxigenación de los pollos es efectivo reducir su tasa metabólica con restricciones de consumo de alimento (Domínguez, 2016; López, 2016; Paguay & Parra, 2016; Morales, 2019 & Suárez, 2020).

### **III. HIPÓTESIS**

La reducción en el consumo de alimento disminuye las reacciones pro-oxidantes y la inflamación en tejido hepático de pollos de engorda disminuyendo de esta manera la mortalidad asociada al síndrome ascítico.



## **IV. OBJETIVOS**

### 4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la reducción del consumo de alimento sobre las reacciones pro-oxidantes e inflamatorias en tejido hepático y su relación con la mortalidad por síndrome ascítico en pollo de engorda.

### 4.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la reducción de consumo de alimento sobre:

1. La concentración de Nanomolas de TBARS y la densidad óptica de dienos conjugados en tejido hepático.
2. Las UAF de IL-6 en tejido hepático.
3. La mortalidad asociada a síndrome ascítico.
4. Los parámetros productivos: peso vivo promedio, ganancia diaria de peso, ganancia diaria semanal, consumo de alimento acumulado, conversión alimenticia.

## V. MATERIAL Y MÉTODOS

Este proyecto de investigación fue autorizado por el Comité de Bioética en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, con el número de registro 92FCN2022.

### 5.1 Unidad experimental avícola

El trabajo de investigación se realizó en las instalaciones de la Unidad Experimental Avícola de la Universidad Autónoma de Querétaro, la cual se encuentra ubicada en el municipio de El Marqués a una altitud de 1920 msnm. Las instalaciones cuentan con una caseta automatizada, dividida en 40 corrales lo que permitió mantener el orden del consumo entre los tratamientos. La ventilación y la calefacción fue modulada manualmente con el uso de extractores y criadoras durante los 49 días de la engorda, lo que disminuyó los efectos de la variación climática externa.

### 5.2 Animales, manejo y dietas

Se recibieron 780 pollos macho estirpe ROSS 308 de un día de edad a 32°C para asegurar el confort térmico del pollito. Para mantener la homogeneidad de los tratamientos se procedió a seleccionar y eliminar los pollos con deformidades o lesiones, notoriamente no aptos para su supervivencia o que pudieran influir en los resultados del experimento. Posteriormente, se contaron y distribuyeron 130 pollitos en cada corral, a razón de 2 corrales por tratamiento para un total de 260 pollos por tratamiento.

La primera semana se mantuvo la iluminación durante 24 hrs con el fin de promover el consumo de alimento preiniciador, posteriormente, la engorda continuó con luz natural (12 hrs al día) y se ofreció alimento bajo las cantidades correspondientes de acuerdo a su fase (Iniciador, Desarrollo, Finalizador y Terminador).

Las fases de alimentación consistieron en dietas con diferente contenido de kilocalorías de energía metabolizable por kilogramo de alimento (Kcal EM/kg). El

contenido Kcal EM/kg de alimento es la cantidad de energía que un animal puede obtener al consumir un kilogramo de alimento específico después de los procesos digestivos (National Research Council, 1994). Este valor es crucial en nutrición animal porque indica cuánta energía útil está disponible para el mantenimiento, crecimiento y producción. Para formular las diferentes fases de alimentación se utilizan los mismos ingredientes en distinta proporción (Cuadro 1).

El porcentaje nutrimental por fase de alimentación se determinó mediante el análisis químico proximal (AQP) de los alimentos (Hernández, 2000) en el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Autónoma de Querétaro (Cuadro 2).

**Cuadro 1.** Ingredientes de la dieta experimental por fase de alimentación.

Ingredientes%	Fases de alimentación			
	Iniciador	Desarrollo	Finalizador	Terminador
Maíz amarillo	56.5	59.3	63.6	63.6
Pasta de soya	37.2	33.4	29.2	29.2
Aceite de soya	2.4	3.7	3.5	3.5
Carbonato de calcio	0.9	0.9	0.8	0.8
Fosfato dicálcico	1.8	1.5	1.8	1.8
Sal	0.1	0.4	0.3	0.3
Premezcla de vitaminas y minerales	0.2	0.2	0.3	0.2
DL-metionina 99%	0.2	0.1	0.1	0.1

Porcentaje de inclusión por ingrediente en las diferentes fases de alimentación; Iniciador: ofrecido del día 9-21; Desarrollo: del día 22-35; Finalizador: del día 36-45 y Terminador: del día 46-49.

**Cuadro 2.** Composición química proximal (AQP) del alimento por fase de alimentación.

Nutrimentos*	Fase de alimentación			
	Iniciador	Desarrollo	Finalizador	Terminador
%MS	87.87	87.85	89.86	88.59
%PC	19.23	16.63	16.14	16.35
%EE	4.51	6.02	4.1	5
%ELN	35.9	35.4	44.41	38.25
EM(Kcal/kg)	2975	3050	3100	3100

\*MS: Materia seca; PC: Proteína cruda; EE: Extracto etéreo; ELN: Extracto libre de nitrógeno; EM(Kcal/kg): Energía metabolizable.

Los tratamientos consistieron en diferentes reducciones de consumo de alimento: el grupo control o tratamiento 1 no tuvo reducción (5.983 kg de alimento al día 49); el tratamiento 2 tuvo una reducción del 8.82% y el tratamiento 3 recibió una reducción de alimento del 17.58% con respecto al tratamiento control (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Consumo acumulado semanal (Kg) por tratamiento.

Semanas	Tratamientos*		
	1	2	3
3 (Días 15-21)	1.058	0.98	0.903
4 (Días 22-28)	1.941	1.782	1.625
5 (Días 29-35)	3.113	2.847	2.583
6 (Días 36-42)	4.487	4.095	3.707
7 (Días 43-49)	5.983	5.455	4.931

\*Tratamiento 1 (Control); Tratamiento 2 (reducción media); Tratamiento 3 (reducción alta).

### 5.3 Necropsias y muestreo

Los días 21, 35, 42 y 49 de edad, se realizó la necropsia de tres pollos por tratamiento; utilizando una cámara de saturación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) se llevó a cabo la insensibilización y posteriormente, la eutanasia mediante dislocación cervical (*Human Slaughter Association*, 2013), luego se abrió la cavidad celómica para obtener el lóbulo hepático derecho de cada pollo. Finalmente, fueron recolectados 36 lóbulos, cada uno se cortó en dos porciones para las pruebas bioquímicas e inmunológicas.

Una de las dos porciones de hígado por animal fue inmediatamente conservada en nitrógeno líquido para la evaluación bioquímica de estrés oxidativo mediante la técnica de TBARS (De León & Borgues, 2020) (Anexo 3). La otra porción fue conservada en formalina bufferada para después pasar a ser incluida en parafina y cortada a un grosor de 7  $\mu\text{m}$  y así evaluar la expresión de IL-6 mediante Inmunofluorescencia (IF) (Pérez-Campos et al., 2017) (Anexo 5).

### 5.4 Parámetros productivos

Para tener un control de la cantidad de alimento (kg/ave) que se ofreció a los corrales, los pollos muertos con lesiones aparentes a SA fueron descontados de los registros diariamente. La proporción de mortalidad por ascitis semanal y general se obtuvo mediante una regla de tres, comparando el número de aves iniciales con el de aves actuales por tratamiento.

El peso vivo promedio se obtuvo por los pesajes semanales (7, 14, 21, 28, 35, 42 y 49) de 20 pollos por corral ó 40 por tratamiento. Este manejo se repitió en los 6 corrales dando un total de muestra de 120 pollos semanales. El peso promedio por tratamiento se dividió entre los 49 días productivos del ave para determinar la ganancia diaria de peso. La conversión alimenticia se obtuvo dividiendo la cantidad total de alimento ofrecido durante los 49 días entre el peso promedio final de los tratamientos.

## 5.5 Evaluación bioquímica de reacciones pro-oxidantes

El ensayo de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) se utiliza como una métrica genérica de la peroxidación de lípidos en muestras biológicas, donde la interacción de los productos finales de la LP, principalmente el MDA, con el ácido tiobarbitúrico (TBA) conducen a la formación de MDA-TBA, dos aductos llamados TBARS, que producen un color rosa rojizo. Posteriormente, el color se midió con ayuda de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 532 nm y el valor se expresó en Nanomolas de TBARS por mg de proteína (De León & Borgues, 2020). Se ha establecido que el daño oxidativo que produce el oxígeno está directamente relacionado con la inflamación en diversos tejidos (Cotesse, 2010). También se producen ROS que han sido ligados a la inflamación, además de numerosas patologías como hepatitis crónica e hipertensión (Carbajal Carbajal, 2019). Por lo que considerar su valoración en el tiempo y ante un proceso metabólico como el SA nos ayuda a prevenir la muerte súbita de los pollos (Céspedes & Castillo, 2008).

## 5.6 Evaluación Inmunológica de inflamación

La inmunofluorescencia (IF) es una técnica que se basa en la especificidad y afinidad de la reacción antígeno-anticuerpo; mediante el empleo de anticuerpos específicos se puede determinar la expresión de citocinas; la respuesta de fase aguda es inducida por la IL-6 producida por células T, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, adipocitos y otras. Esta técnica puede emplearse sobre tejidos fijados en formol e incluidos en parafina, permitiendo evaluar de manera simultánea el metabolismo de los hepatocitos. Esta interacción se pone en evidencia mediante anticuerpos antiinmunoglobulina de otra especie, los cuales van dirigidos hacia las fracciones constantes de las inmunoglobulinas del ave, para este experimento, se utilizó anticuerpo monoclonal recombinante de conejo (D5W4V XP® (EEUU) Rabbit mAb) generado contra IL-6 a una concentración de 1:100 con PBST (Anexo 2). Estos anticuerpos antiinmunoglobulina están conjugados con un fluoróforo (Alexa Fluor 488) para indicar la expresión de IL-6 bajo una coloración verde brillante. Las interacciones del reconocimiento de antígenos por los autoanticuerpos presentes en hígado de pollo se evaluaron en el laboratorio de microscopia en la Instituto de

Neurobiología de la UNAM mediante fotografías, tomadas por un microscopio de fluorescencia Nikon®, Japón y el resultado se cuantificó utilizando el software ImageJ®, EEUU (Pérez-Campos et al., 2017).

### 5.7 Análisis estadístico

Para las variables productivas se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 3X7, tomando en cuenta como variables dependientes los parámetros semanales (días 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49) y como variables independientes las 3 reducciones de consumo (1, 2, 3).

Para el análisis de las pruebas de TBARS e IF se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 4x3, tomando en cuenta como variables dependientes la concentración de nanomolas de TBARS/mg de proteína y las UAF respectivamente para cada prueba en las 4 edades del pollo (día 21, 35, 42, 49) y como variables independientes los tratamientos 1, 2 y 3 (reducciones de consumo 0%, 8.82% y 17.58%).

Las medias fueron comparadas utilizando la prueba de Tukey con diferencias consideradas estadísticamente diferentes con una  $P \leq 0.05$ , utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (Steel & Torrie, 1997; SAS 2008).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Reacciones pro-oxidantes

Existen diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) entre tratamientos con respecto a la concentración de Nanomolas de TBARS y la densidad óptica de dienos conjugados (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Resultados estadísticos de TBARS y Dienos conjugados por tratamiento.

	Tratamiento			P	EEM
	1	2	3		
<b>Dieno</b>	0.20 <sup>a</sup>	0.17 <sup>b</sup>	0.21 <sup>a</sup>	**	0.0021
<b>Lipo</b>	0.32 <sup>a</sup>	0.25 <sup>b</sup>	0.30 <sup>a</sup>	**	0.0018

Dieno: Densidad óptica de dienos conjugados/mg proteína; Lipo: Nanomolas de TBARS/mg proteína; Tratamiento: 1 (Control), 2 (Reducción 8.82%), 3 (Reducción 17.58%); <sup>ab</sup>: Diferentes literales en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ); *P*: Probabilidad estadística; \*\*  $P < 0.01$ ; EEM: Error estándar de la media.

Contrario a lo planteado en la hipótesis de este experimento, las reducciones en el consumo de alimento no siempre disminuyeron las reacciones pro-oxidantes. A pesar de que los pollos del tratamiento 3 consumieron 17.58% menos alimento que los del tratamiento 1, los resultados de las pruebas bioquímicas mostraron una concentración de Nanomolas de TBARS y densidad óptica de DC estadísticamente similares en ambos grupos. Según los trabajos de Wallin et al., (1993) y De León & Borgues, (2020), la técnica de TBARS cuantifica la susceptibilidad de los lípidos a la LP; siguiendo esta lógica, podríamos sugerir que los consumos elevados de alimento hacen que los lípidos sean tan susceptibles a la LP como lo hacen las grandes reducciones en el consumo.

El estudio realizado por Niu et al., (2009) muestra el efecto que tienen las dietas altamente energéticas sobre el metabolismo de los pollos de engorda; resulta que cuando el consumo de carbohidratos excede las necesidades energéticas del ave,



el exceso de glucosa en sangre se convertirá en ácidos grasos y triglicéridos a través de una serie de reacciones bioquímicas conocidas como lipogénesis (Osorio & Flórez, 2011; Tortora et al., 2022). Para que el proceso de lipogénesis pueda llevarse a cabo correctamente, es necesario exigir más energía a las mitocondrias a través de la fosforilación oxidativa, lo que a su vez incrementará la formación de ROS y las reacciones pro-oxidantes en el hígado (Forman, 2006; Sindik, 2008; Osorio & Flórez, 2011; Alarcón, 2021). Esto explica el incremento en las reacciones pro-oxidantes de los pollos que recibieron una gran cantidad de alimento durante su crecimiento, pero ¿por qué estos resultados son estadísticamente similares para los que consumieron menos alimento?

El hecho de que las grandes reducciones de consumo de alimento también incrementen las reacciones pro-oxidantes tiene que ver con la producción de ROS, los cuales aumentan en respuesta a un desequilibrio energético (Nava, 2010; Emami, 2020; Lai et al., 2022); En este caso, cuando los pollos no alcanzan a cubrir sus necesidades energéticas a través de la dieta se activa un estado de balance energético negativo (Zhao & Kim, 2017; Tortora et al., 2022). Durante este estado se movilizan los ácidos grasos desde el tejido adiposo hacia el hígado, en donde serán oxidados para generar energía a través de una serie de reacciones bioquímicas conocidas como  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos (Paguay & Parra, 2016; Zhao & Kim, 2017; Suárez et al., 2020; Tortora et al., 2022). Cuando el consumo de alimento permanece limitado, el balance energético negativo provoca un exceso de ROS y el incremento de las reacciones pro-oxidantes (Forman, 2006; Sindik, 2008; Osorio & Flórez, 2011; Alarcón, 2021).

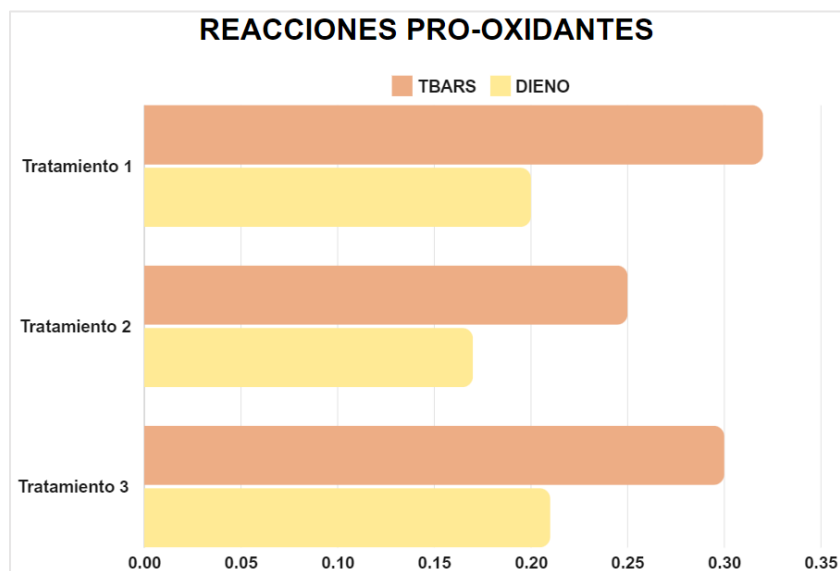
Además de lo anterior, considerando la genética de los pollos de engorda y su crecimiento acelerado, un bajo consumo de alimento también puede aumentar en el hígado la producción de cuerpos cetónicos como vía compensatoria a las demandas energéticas del cerebro y los músculos, incrementando también la producción de ROS y reacciones pro-oxidantes (Fernández, 2002; Kato, 2011; Biwas, 2019; Alarcón, 2021).

Por su parte, los pollos del tratamiento 2 mostraron tener concentraciones de TBARS y densidad de DC estadísticamente diferentes a las del tratamiento 1 y 3 (Figura 4), lo que indica que los lípidos de membrana tienden a presentar una menor susceptibilidad a ser oxidados cuando los pollos son alimentados con reducciones intermedias de consumo de alimento.

Marmesat et al., (2009) explican que la evaluación de la densidad óptica de DC ayuda a complementar la técnica de TBARS, de esta manera se puede mejorar la interpretación de los resultados de reacciones pro-oxidantes; los DC evidencian el daño inicial a las membranas celulares y este daño inicial a su vez, indicaría que las reacciones pro-oxidantes continúan siendo correctamente moduladas por los sistemas antioxidantes del pollo.

Una concentración de Nanomolas de TBARS no muy por encima de la densidad óptica de DC en una muestra, indicaría una buena respuesta antioxidante, pues los productos generados durante la reacción de LP continúan siendo reducidos a una estructura menos reactiva sin llegar al término de la reacción (Baxter et al., 2019). Mantener el balance entre la capacidad de amortiguamiento de los sistemas antioxidantes y la formación de RL, ayuda a frenar la formación de productos finales de la LP que ya no son reversibles, tales como el MDA, cuyo contacto con el TBA aumentaría la concentración de Nanomolas de TBARS en las muestras analizadas (Forman et al., 2006; Contesse, 2010; De León & Borgues, 2020).

Con base en todo lo anterior los resultados obtenidos a partir de la evaluación de TBARS y DC, indican que la reducción del 8.82% del tratamiento 2 fue más efectiva para disminuir las reacciones pro-oxidantes que la reducción de 17.58% del tratamiento 3 (Figura 3).



**Figura 3.** Estadísticos de las reacciones pro-oxidantes por tratamiento. Relación de los promedios de TBARS y DC.

## 6.2 Reacciones inflamatorias

Existe una interacción ( $P < 0.001$ ) entre la edad y el tratamiento con respecto a las Unidades Arbitrarias de Fluorescencia (UAF) para IL-6 en las pruebas de IF (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Resultados de prueba de Inmunofluorescencia por tratamiento.

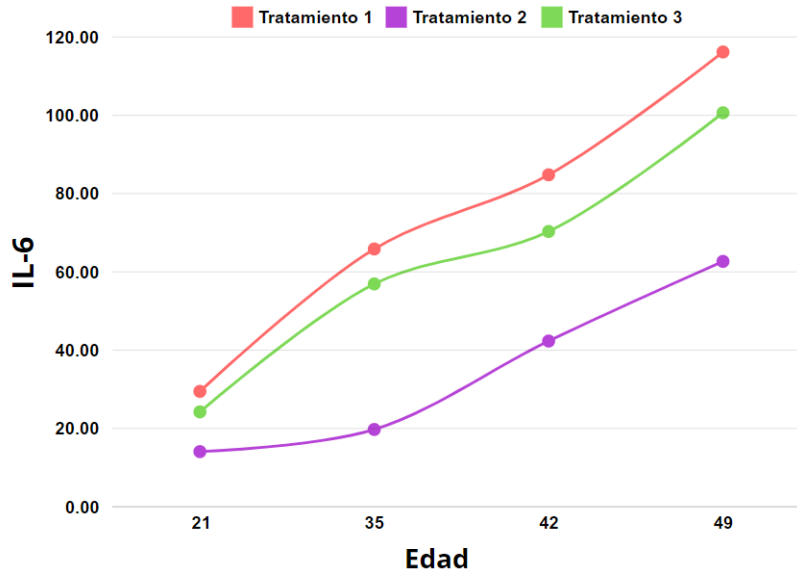
	Tratamientos												P			EEM	
	1				2				3				E	T	ExT		
<b>Edad</b>	21	35	42	49	21	35	42	49	21	35	42	49					
<b>IL-6</b>	29.5 <sup>h</sup>	65.8 <sup>e</sup>	84.8 <sup>c</sup>	116.2 <sup>a</sup>	14.1 <sup>k</sup>	19.7 <sup>j</sup>	42.3 <sup>g</sup>	62.7 <sup>e</sup>	24.2 <sup>i</sup>	56.9 <sup>f</sup>	70.3 <sup>d</sup>	100.6 <sup>b</sup>	***	***	***		3.9

Edad: Días; IL-6: Unidades arbitrarias de fluorescencia; Tratamientos: 1 (Control), 2 (Reducción 8.82%), 3 (Reducción 17.58%); <sup>abcdefghijkl</sup>: Diferentes literales en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas con respecto al tratamiento; *P*: Probabilidad estadística; E: Edad; T: Tratamiento; ExT: Interacción edad por tratamiento; EEM: Error estándar de la media.

Estadísticamente, durante las edades 35, 42 y 49 los hígados del tratamiento 1 y 3 expresaron más UAF que el tratamiento 2. Este resultado está directamente relacionado con las reducciones en el consumo de alimento; para el día 49 el tratamiento 2 provocó en los pollos un incremento de las UAF (62.7) estadísticamente similar al que alcanzó el tratamiento 1 desde el día 35 (65.8), es decir, que la reducción intermedia en el consumo de alimento retrasó los efectos inflamatorios ocasionados por los altos niveles de carbohidratos en la dieta.

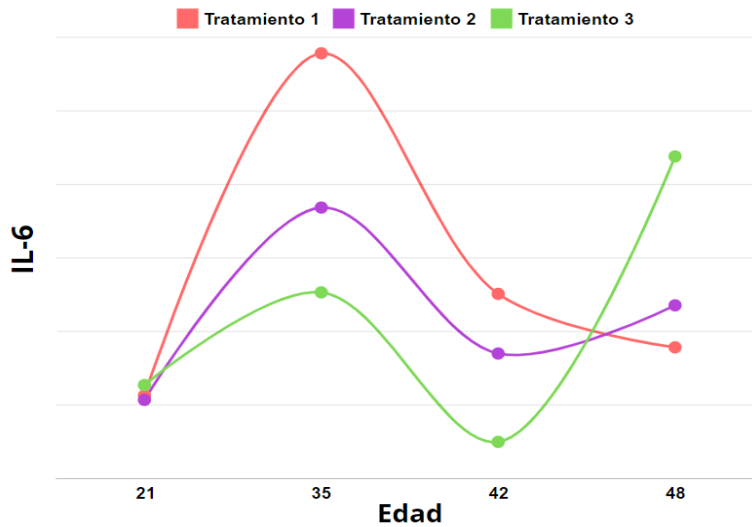
Durante este experimento, el contenido de Kcal de EM/Kg de alimento fue la misma para todos los tratamientos (Cuadro 2), de esta manera, una forma práctica para el manejo del consumo de energía en los pollos durante su engorda fue la reducción del consumo de alimento per se (Valdes & Suárez, 2015; Paguay & Parra, 2016; Suárez et al., 2020). Al reducir un 8.82% la cantidad de alimento que se ofreció a los pollos con respecto al grupo control, se redujo también la cantidad de Kcal de EM que consumió cada ave durante su engorda y en respuesta, la expresión de IL-6 hepática fue menor (López et al., 2016, Paguay & Parra, 2016; Morales, 2019).

Sin embargo, con base en lo discutido durante el punto 6.1, grandes reducciones de consumo de alimento, como la aplicada en el tratamiento 3, provocan un incremento en las reacciones pro-oxidantes y favorecen condiciones dañinas para las células hepáticas (Emami, 2020); el daño activa vías de señalización proinflamatorias, como el factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), que a su vez promueve la liberación de citocinas pro-inflamatorias como la IL-6 (Suárez et al., 2020). Lo que explica el efecto de los tratamientos 2 y 3 sobre el comportamiento de las UAF (Figura 4) y sugiere que las reducciones de consumo de alimento deberán de ser moduladas con respecto al contenido de Kcal de EM para evitar que su efecto, resulte contrario a lo que inicialmente se planteó en la hipótesis de este trabajo e incremente las reacciones prooxidantes y la inflamación hepática en vez de reducirlas.



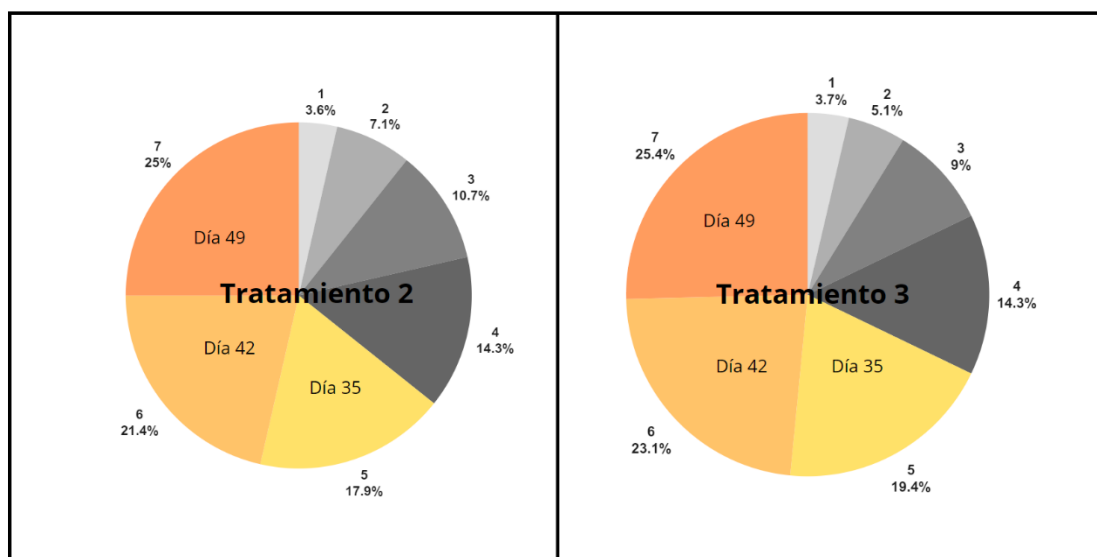
**Figura 4.** Interacción de la edad y el tratamiento con respecto a las UAF de IL-6.

Adicionalmente, llama la atención un súbito incremento en el promedio de UAF que tuvo el tratamiento 3 en la última edad (Figura 5); Dicho incremento es atípico con respecto al comportamiento observado en edades previas y supera por mucho los niveles de inflamación a esa edad por parte de los tratamientos 1 y 2.



**Figura 5.** Comportamiento del promedio de las UAF por edad por tratamiento.

Para detallar la perspectiva de este análisis, con ayuda de gráficas de pastel se representó la proporción de alimento que consumieron los pollos del tratamiento 2 y 3 durante las 7 semanas de engorda (Figura 6); gracias a este análisis se puede entender que, a pesar de ser el tratamiento 3 el que tuvo el consumo acumulado más bajo (4.931 kg/ 49 días), la cantidad de alimento que recibió durante las últimas semanas fue proporcionalmente mayor que la que recibió el tratamiento 2 durante el mismo periodo de tiempo.



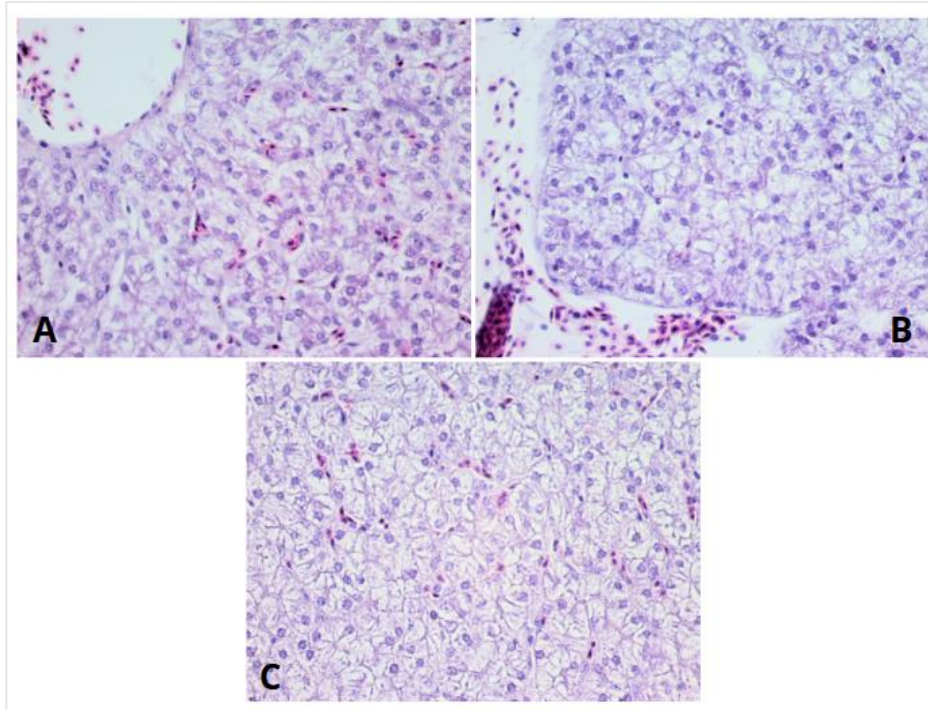
**Figura 6.** Alimento consumido (%) semanalmente durante la engorda.

Proporcionalmente y en un periodo más corto de tiempo, las aves del tratamiento 3 consumieron el 68% del total de su dieta. Este repentino incremento en el consumo de alimento elevó los niveles de glucosa en sangre, de tal manera que se activaron diversas vías de señalización, induciendo la expresión de IL-6 (Kahn et al., 2019; Liu et al., 2020). La IL-6 favorece la transición de una reacción inflamatoria aguda a una de fase crónica (Lai et al., 2022); durante procesos de inflamación crónicos se incrementa la producción de ROS (Nava, 2010) y la síntesis de más IL-6. (Flores et al., 2011); coincidiendo nuevamente con lo discutido en el punto 6.1 Reacciones pro-oxidantes.

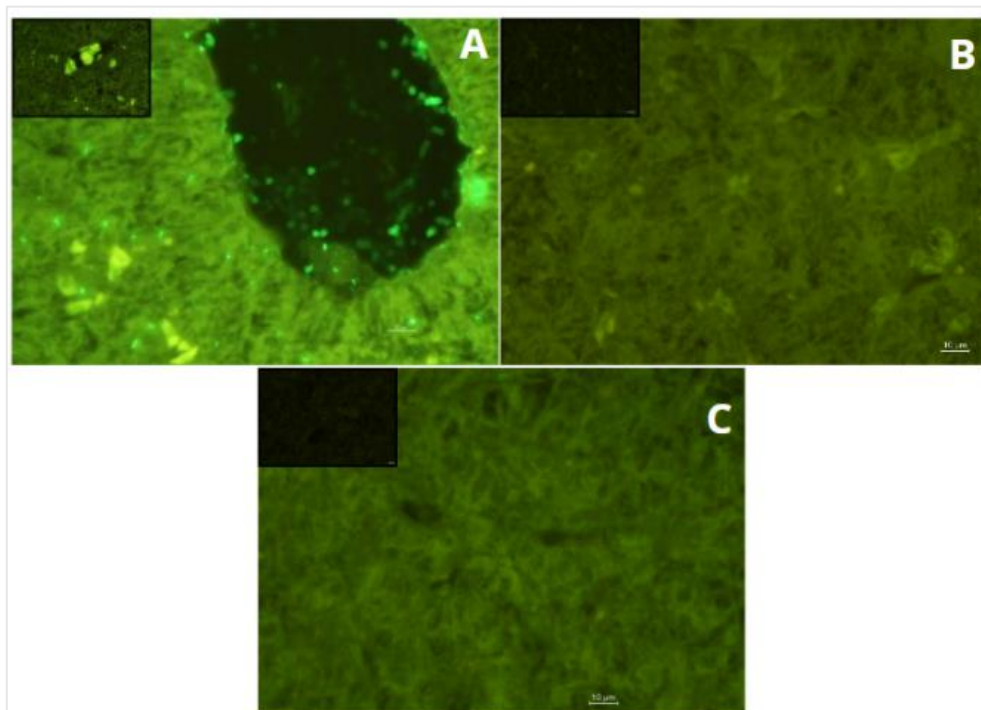
Cabe destacar que durante las primeras semanas de engorda, el tratamiento 3 sí recibió una proporción de alimento menor a la del tratamiento 2; las grandes

reducciones del consumo de alimento pueden reducir los niveles de ciertos nutrientes como la vitamina E, vitamina C, selenio y zinc, los cuales son necesarios para un buen desempeño de los sistemas de defensa antioxidante del pollo (González-Torres et al., 2000; Paredes et al., 2018; Borda & Hilbert, 2022). Esta reducción probablemente disminuyó la capacidad del hígado para neutralizar los radicales libres y otros compuestos oxidantes (Forman et al., 2006; Emami, 2020). Por lo que, el súbito incremento de consumo de alimento durante las últimas semanas y las condiciones nutrimentales desfavorecieron el papel de los sistemas antioxidantes para este tratamiento, elevando el daño oxidativo por la producción de ROS e induciendo una mayor expresión de IL-6.

Características propias del transporte de lípidos en las aves, también incrementan la deposición de reservas grasas en el tejido hepático y la tendencia a desarrollar hígado graso (Fernández, 2002; Alarcón, 2021). El hígado graso es un factor importante a considerar durante la evaluación de los resultados, ya que las dietas experimentales en los 3 tratamientos consistieron en formulaciones comerciales con altos niveles de inclusión de maíz amarillo como principal fuente de EM (Cuadro 1 y 2). Todos los hígados evaluados presentaron, en mayor o menor grado, dicha enfermedad (Figura 7). El hígado graso provoca un estado inflamatorio que se caracteriza por la expresión de IL-6 (Maldonado et al., 2012; Emami, 2020; Xu et al., 2020), esto ocurre porque al incrementar la actividad hepática, los hepatocitos se vuelven más susceptibles al daño celular e inducen la transcripción de genes proinflamatorios (Emami, 2020). Con base en lo anterior, independientemente del tratamiento, la expresión hepática de IL-6 por efecto de las reducciones en el consumo de alimento siempre fue evidente (Figura 8).



**Figura 7.** Alimento consumido (%) semanalmente durante la engorda.

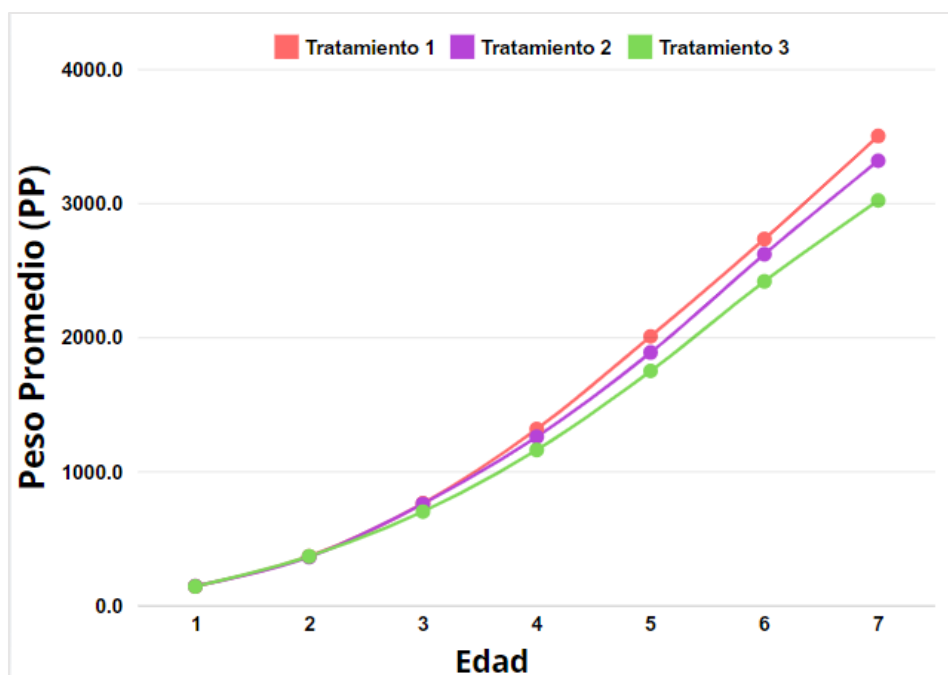


**Figura 8.** Tinción de inmunofluorescencia (IF) para IL-6 en hígado de pollo a edad 4 (día 49); A: Tratamiento 1; B: Tratamiento 2; C: Tratamiento 3.



### 6.3 Mortalidad y variables productivas

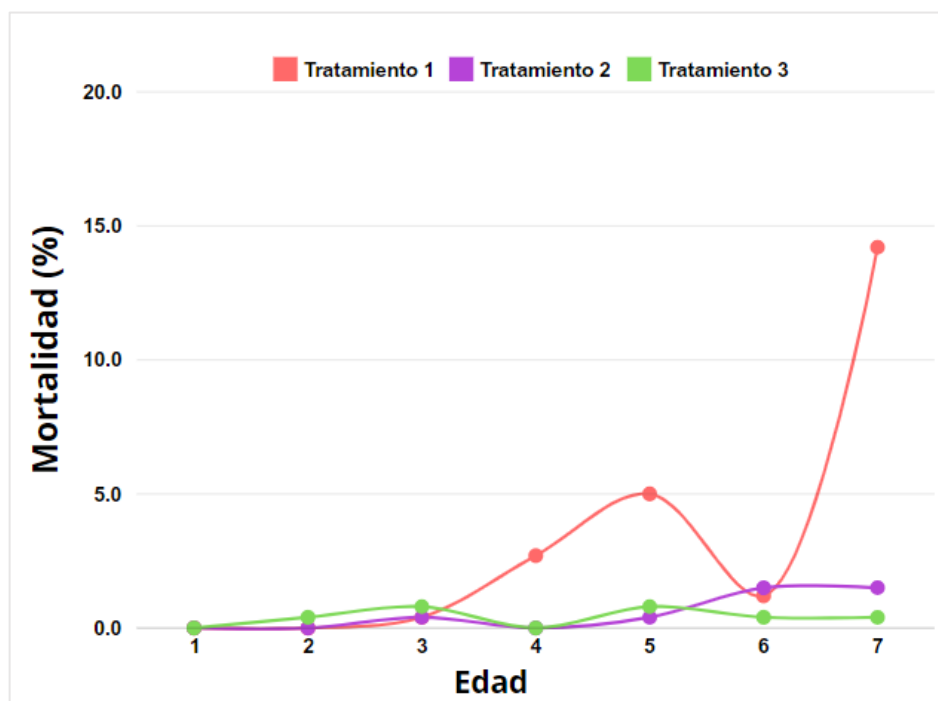
El peso vivo promedio (PP), la ganancia diaria de peso (GDP) y la ganancia diaria de peso semanal (GDPS) mostraron tener diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) (Cuadro 6). Para discutir el efecto de los tratamientos durante esta prueba, observamos los resultados de Zhao & Kim, (2017) en donde los pollos que fueron alimentados con bajos consumos de energía utilizaron el poco aporte energético (Kcal EM/Kg) que recibían para cubrir sus requerimientos de mantenimiento y redujeron su tasa de crecimiento. Tal como se observó en los resultados productivos de este experimento, los pollos ganaron peso de manera proporcional a la cantidad de alimento que recibieron (Figura 9). De esta manera, se infiere que durante 7 semanas los pollos del tratamiento 3 fueron metabólicamente menos eficientes para crecer, de manera que los recursos de EM para el desarrollo muscular fueron mayores en los tratamientos 1 y 2 (Figura 9).



**Figura 9.** Comportamiento del peso promedio (gr) semanal por tratamiento.

Teniendo en cuenta la relación entre el aporte de Kcal de EM y el consumo de alimento (kg) sobre la tasa de crecimiento diaria del pollo, Domínguez, (2016) menciona que la disminución del crecimiento ayuda a reducir el requerimiento

metabólico de oxígeno y con ello la hipertensión pulmonar y la muerte asociada al síndrome serán menores; se mostró una interacción entre la edad y el tratamiento ( $P < 0.05$ ) con respecto a la mortalidad asociada al SA (Cuadro 6), de manera que los resultados indican que las reducciones en el consumo de alimento reducen la mortalidad y que los altos consumos de EM incrementan significativamente la incidencia del síndrome en relación al porcentaje de mortalidad observado durante las últimas semanas de engorda (Figura 10).



**Figura 10.** Mortalidad semanal asociada al SA por tratamiento.

De lo anterior, surge la necesidad de generar estrategias sustentables para el control del SA, pues como lo mencionan Rojas & Vásquez, (2013) en los últimos años, el calentamiento global y la industrialización de los sistemas de producción han convertido al SA en una de las principales causas de pérdidas económicas por mortalidades súbitas en granjas de engorda (Domínguez, 2016; FAO,2022).

Los trabajos realizados por Valdes & Suárez (2015); Paguay & Parra (2016) y Suárez et al. (2020), refuerzan la idea de considerar la restricción alimenticia como la principal estrategia nutricional para la prevención y el control del SA. El presente

trabajo contrasta lo efectivo que resulta relacionar las reacciones pro-oxidantes e inflamatorias con el contenido de EM/kg de alimento como un método práctico para disminuir la mortalidad por SA sin perder de vista la eficiencia productiva de los pollos de engorda. Con base en los resultados, se plantea que el alto consumo de alimento incrementó el aporte de EM y por ende los requerimientos de oxígeno, lo que agudizó el estrés metabólico y agravó la patogenia del síndrome ascítico; consiguiendo mejoras en las variables productivas PP, GDP y GDPS pero incrementando la mortalidad (Figura 10), es preciso considerar el efecto del consumo de alimento sobre la mortalidad asociada al SA para ajustar el aporte de EM/kg de alimento que no afectara negativamente el crecimiento del pollo, maximizando la eficiencia productiva de las líneas de engorda.

**Cuadro 6.** Parámetros productivos semanales por tratamiento.

	Tratamientos																					P			EEM
	1							2							3							EDAD	TTM	EDAD*TTM	
Edad	7	14	21	28	35	42	49	7	14	21	28	35	42	49	7	14	21	28	35	42	49				
PP	146.9 <sup>q</sup>	370.2 <sup>o</sup>	765.3 <sup>m</sup>	1318.4 <sup>j</sup>	2010.6 <sup>g</sup>	2736.9 <sup>d</sup>	3504.6 <sup>a</sup>	147.8 <sup>q</sup>	364.6 <sup>p</sup>	761.9 <sup>m</sup>	1262.6 <sup>k</sup>	1889.4 <sup>h</sup>	2623.2 <sup>e</sup>	3320.8 <sup>b</sup>	145.2 <sup>q</sup>	370.9 <sup>o</sup>	703.7 <sup>n</sup>	1162.6 <sup>l</sup>	1751.2 <sup>j</sup>	2421.1 <sup>f</sup>	3023.8 <sup>c</sup>	***	***	***	46.700
GDP	21.0 <sup>m</sup>	26.4 <sup>l</sup>	36.4 <sup>j</sup>	47.1 <sup>g</sup>	57.4 <sup>d</sup>	65.2 <sup>b</sup>	71.5 <sup>a</sup>	21.1 <sup>m</sup>	26.0 <sup>l</sup>	36.3 <sup>j</sup>	45.1 <sup>h</sup>	54.0 <sup>e</sup>	62.5 <sup>c</sup>	67.8 <sup>b</sup>	20.7 <sup>m</sup>	26.5 <sup>l</sup>	33.5 <sup>k</sup>	41.5 <sup>i</sup>	50.0 <sup>f</sup>	57.6 <sup>d</sup>	61.7 <sup>c</sup>	***	***	***	1.340
GDPS	15.3 <sup>o</sup>	31.9 <sup>n</sup>	56.4 <sup>l</sup>	79.0 <sup>i</sup>	98.9 <sup>d</sup>	109.8 <sup>a</sup>	109.7 <sup>a</sup>	15.4 <sup>o</sup>	31.0 <sup>n</sup>	56.8 <sup>l</sup>	71.5 <sup>j</sup>	89.5 <sup>f</sup>	104.8 <sup>b</sup>	99.7 <sup>c</sup>	15.0 <sup>o</sup>	32.2 <sup>n</sup>	47.5 <sup>m</sup>	65.6 <sup>k</sup>	84.1 <sup>h</sup>	95.7 <sup>e</sup>	86.1 <sup>g</sup>	***	***	***	2.052
CONS	175.0 <sup>f</sup>	289.0 <sup>p</sup>	526.0 <sup>m</sup>	837.0 <sup>j</sup>	1133.0 <sup>f</sup>	1350.0 <sup>b</sup>	1483.0 <sup>a</sup>	175.0 <sup>f</sup>	267.0 <sup>q</sup>	479.0 <sup>n</sup>	760.0 <sup>k</sup>	1030.0 <sup>h</sup>	1226.0 <sup>d</sup>	1348.0 <sup>c</sup>	175.0 <sup>f</sup>	246.0 <sup>q</sup>	432.0 <sup>o</sup>	684.0 <sup>l</sup>	927.0 <sup>i</sup>	1104.0 <sup>g</sup>	1213.0 <sup>e</sup>	***	***	*	13.598
IC	1.2	1.3	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.2	1.2	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.2	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	***	NS	NS	0.014
MORT	0.0 <sup>h</sup>	0.0 <sup>h</sup>	1.0 <sup>g</sup>	7.0 <sup>c</sup>	13.0 <sup>b</sup>	3.0 <sup>e</sup>	37.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>h</sup>	0.0 <sup>h</sup>	1.0 <sup>g</sup>	0.0 <sup>h</sup>	1.0 <sup>g</sup>	4.0 <sup>d</sup>	4.0 <sup>d</sup>	0.0 <sup>h</sup>	0.0 <sup>h</sup>	2.0 <sup>f</sup>	0.0 <sup>h</sup>	2.0 <sup>f</sup>	1.0 <sup>g</sup>	1.0 <sup>g</sup>	**	***	*	0.003

Edad: edad en semanas; PP: Peso promedio semanal (g); GDP: Ganancia diaria de peso (g); GDPS: Ganancia diaria de peso semanal (g); CONS: Consumo acumulado (g); IC: Conversión alimenticia semanal; MORT: Mortalidad asociada a ascitis (%); Tratamientos: 1 (control), 2 (reducción 8.82%), 3 (reducción 17.58%); <sup>abcd</sup>: Diferentes literales en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas; P: probabilidad estadística; \*P < .05; \*\*P < .01; \*\*\*P < .001; NS: No significativo; EEM: Error estándar de la media.

## VII. CONCLUSIÓN

La reducción del consumo de alimento en un 8.82% (Tratamiento 2; 5.455 kg/49 días) mantuvo un equilibrio adecuado entre las reacciones pro-oxidantes y la capacidad de los sistemas antioxidantes hepáticos, modulando eficazmente la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y previniendo el daño irreversible por lipoperoxidación (LP). En contraste, la reducción del 17.58% (Tratamiento 3; 4.931 kg/49 días) provocó una alteración en el metabolismo energético hepático, induciendo la movilización de reservas para satisfacer las demandas energéticas derivadas del rápido crecimiento. Este cambio metabólico resultó en un aumento de las reacciones pro-oxidantes y una mayor expresión de IL-6, reflejando una respuesta inflamatoria estadísticamente similar a la del grupo control (Tratamiento 1; 5.983 kg/49 días).

Además, la reducción controlada del consumo de alimento ajustada a las distintas fases de crecimiento permitió regular de manera práctica la ingesta de alimento y el contenido de EM ampliando la comprensión del impacto de estas restricciones sobre las reacciones pro-oxidantes e inflamatorias, lo cual estuvo relacionado con una reducción de la mortalidad por síndrome ascítico (SA). Un manejo adecuado de la restricción alimentaria favoreció la capacidad adaptativa de los sistemas antioxidantes, reduciendo la demanda corporal de oxígeno y permitiendo a los pollos enfrentar mejor la patogenia del SA, disminuyendo la mortalidad asociada.

En resumen, los resultados indican que las reducciones intermedias del consumo de alimento disminuyeron la mortalidad asociada al SA y ayudaron a reducir las reacciones pro-oxidantes y la inflamación. Por lo que se concluye que las reducciones bien administradas de consumo de alimento son una estrategia de manejo sustentable y eficaz para mejorar el bienestar de los pollos. El bienestar de los animales se refleja en buenos parámetros productivos y la reducción de mortalidad, lo que contribuiría a la reducción de desechos biológicos por ciclo de engorda y a mantener estables los precios en el mercado.

## **Implicaciones.**

Para futuros trabajos, sería conveniente revisar alguna de las enzimas antioxidantes que participan durante la LP para entender más sobre su papel en el desarrollo del síndrome. Además, centrar el estudio a la fracción mitocondrial de los hepatocitos ayudaría a monitorear de manera más precisa las reacciones pro.oxidantes por medio de la evaluación de TBARS y DC. Dicho fraccionamiento también mejoraría la implementación de la técnica de LP previniendo el exceso de grasa en las muestras.

Conocer la composición de las dietas ayuda al productor a modular el consumo de EM que ofrecerá a los pollos y a mantener la salud de la parvada reduciendo la inflamación y procurando la homeostasis entre las reacciones pro-oxidantes y el sistema antioxidante, lo cual resulta ser crucial para evitar tanto las bajas ganancias de peso por un pobre aporte energético como las altas mortalidades por un gran aporte de energía.

Al reducir el estrés metabólico también se procura el bienestar animal de los pollos y una menor mortalidad disminuye los desechos orgánicos por parvada. Sensibilizar a la sociedad sobre el origen de los productos cárnicos y los efectos de la industrialización sobre las especies animales puede contribuir significativamente a un cambio hacia un consumo más responsable.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

Ah-Ng, T. (2016). *Inflammation, Oxidative Stress, and Cancer: Dietary Approaches for Cancer Prevention*.

Alarcón, M., C. (2021). *Determinación del Índice de Confort Mediante el Uso de Termohigrómetros en el Área de Recepción de Pollo de Engorde en la Planta de Beneficio*. Universidad de Santander. Bucaramanga.

Araneda, O. (2012). *Daño oxidativo pulmonar inducido por ejercicio aeróbico prolongado evaluado a través del análisis del aire espirado condensado*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.

Bagnato, C. (2013). *Técnicas biofísicas para el estudio de lípidos y membranas*. Libros de Cátedra.

Bardaji, M. & Grupo, A. (2000). *Anatomía y fisiología de las aves*.

Barker, C., Dufour, S., Dicker, A., & McGowan, M. (2021). "Obesity-induced inflammation and insulin resistance: The role of interleukin-6." *Frontiers in Nutrition*, 8, 619123.

Baxter M., Latorre, J., Dridi S., Merino, R., Hernandez, X., Hargis, B., & Tellez, G. (2019). Identification of Serum Biomarkers for Intestinal Integrity in a Broiler Chicken Malabsorption Model. *Front. Vet. Sci.* 6:144.

Biswas, A. (2019). Pulmonary hypertension syndrome in broiler chickens: a review. *Veterinarski arhiv*, 89(5), 723-734.

Borda, B., & Hilbert, J. (2022). Efecto de la restricción alimenticia en la incidencia del Síndrome de Ascitis y el rendimiento productivo de tres líneas comerciales de pollos de engorde a 2980 msnm en el Centro Experimental de Huariaca–UNDAC.

Calagua, M. (2019). Ascitis en pollos de engorda. *avipecuaria. Actualidad Aviperuaria*, Perú, pp.1-3. Recuperado de <https://actualidadavipecuaria.com/ascitis-en-pollos-de-engorda/>

Carvajal Carvajal C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91-100.

Céspedes, E., & Castillo, J. (2008). La peroxidación lipídica en el diagnóstico del estrés oxidativo del paciente hipertenso: Realidad o mito. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 27(2), 0-0.

Contesse, B. (2010). Evaluación de la lipoperoxidación in vitro, a través de las reacciones del 3-metil-2-benzotiazolidon hidrazona (MBTH) y del ácido tiobarbitúrico (TBARS). Universidad de Chile.

Cuevas, A., Contreras, A., & González, E. (2006). Productividad y mortalidad por síndrome ascítico en pollos de engorda alimentados con dietas granuladas o en harina. *Técnica pecuaria en México*, 44(2), 0.

De León, J., Borgues, C. (2020). Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (159).

Domínguez, N., E., (2016). Hipertensión Pulmonar Arterial:(Ascitis) En Pollos De Engorda. Palibrio. Recuperado de [https://books.google.com.mx/books?id=ljnPDAAAQBAJ&lpg=PT3&ots=whnbf8pcm\\_&dq=%E2%80%A2%09%C3%81vila%2C%20N.%20E.%20D.%20\(2016\).%20Hipertensi%C3%B3n%20Pulmonar%20Arterial%3A\(Ascitis\)%20En%20Pollos%20De%20Engorda.%20&lr&hl=es&pg=PT3#v=onepage&q=%E2%80%A2%09%C3%81vila,%20N.%20E.%20D.%20\(2016\).%20Hipertensi%C3%B3n%20Pulmonar%20Arterial:\(Ascitis\)%20En%20Pollos%20De%20Engorda.&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=ljnPDAAAQBAJ&lpg=PT3&ots=whnbf8pcm_&dq=%E2%80%A2%09%C3%81vila%2C%20N.%20E.%20D.%20(2016).%20Hipertensi%C3%B3n%20Pulmonar%20Arterial%3A(Ascitis)%20En%20Pollos%20De%20Engorda.%20&lr&hl=es&pg=PT3#v=onepage&q=%E2%80%A2%09%C3%81vila,%20N.%20E.%20D.%20(2016).%20Hipertensi%C3%B3n%20Pulmonar%20Arterial:(Ascitis)%20En%20Pollos%20De%20Engorda.&f=false)

Emami, N. K., Jung, U., Voy, B., Dridi, S. (2020). Radical Response: Effects of Heat Stress-Induced Oxidative Stress on Lipid Metabolism in the Avian Liver. *Antioxidants*, 10(1), 35.

FAO, (2022). Producción y productos avícola. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Ganadería. Recuperado de <https://www.fao.org/poultry-production-products/production/es/>



Fernández, L. B., & Romero, H. (2002). Una revisión del metabolismo ácido-base y su relación con la nutrición en aves. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 15(2), 198-206.

Flores, C., Márquez, Y., Vilanova, L., & Mendoza, C. (2011). Dienos conjugados y malondialdehído como indicadores de lipoperoxidación en semen de toros "Carora". *Revista Veterinaria*, 22(2), 91-94.

Forman, H. J., Fukuto, J. M., & Torres M., 2006. *Signal Transduction by Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Pathways and Chemical Principles*. Alemania: Springer Netherlands.

Gómez, S., Angeles, M., Maguey, J. (2021). Respuesta productiva y balance de nitrógeno en pollos adicionados con sustancias húmicas en el agua de bebida. *Abanico veterinario*. 11:1-15.

Gonzales, K., (2018). Alimentación en pollos de engorde. *Zoovet es mi pasión* Recuperado de <https://zoovetespasion.com/avicultura/pollos/alimentacion-del-pollo-de-engorde>

González-Torres, M., Betancourt-Rule, M., & Ortiz-Muñiz, R. (2000). Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica*, 25(1), 3-9.

Guillamón, E. (2018). Efecto de compuestos fitoquímicos del género *Allium* sobre el sistema inmune y la respuesta inflamatoria. *Ars Pharmaceutica*. 59:185-196.

Hermes-Lima, M. (2004). Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. *Functional metabolism: regulation and adaptation*, 1, 319-66.

Hernández M., (2000). *Manual para el análisis bromatológico y biológico en nutrición animal*. Universidad Autónoma de Querétaro.

Human Slaughter Association. (2013). *Sacrificio práctico de aves de corral*. Recuperado de <https://www.hsa.org.uk/downloads/sacrificiopRACTICodeavesdecorral.pdf>

Jaramillo, S. (2019). Incidencia de Síndrome Ascítico en pollos de engorde, descartados en la planta de sacrificio Paulandia SAS durante los meses de marzo, abril y mayo de 2019, y su relación con la altura sobre el nivel del mar de la granja de procedencia (Doctoral dissertation, Corporación Universitaria Lasallista).

Kabloy, K., Bunyaphatsara, N., Morales, N., & Paraksa, N. (2016). Effect of antibiotic growth promoters on anti-oxidative and anti-inflammatory activities in broiler chickens. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 46(1), 89-95.

Kahn, S., Cooper, M., Del Prato, S., & Sinha, R. (2019). "Interleukin-6 and its role in the pathogenesis of obesity and type 2 diabetes." *Diabetes Care*, 42(7), 1223-1230.

Kato, R., Bertechini, A., Fassani, E., Brito, J., & Castro, S. (2011). Metabolizable energy of corn hybrids for broiler chickens at different ages. *Ciência e Agrotecnologia*, 35, 1218-1226.

Lai, Y., Sun, M., He, Y., Lei, J., Han, Y., Wu, Y., & Zhang, B. (2022). Mycotoxins binder supplementation alleviates aflatoxin B1 toxic effects on the immune response and intestinal barrier function in broilers. *Poultry Science*, 101(3), 101683.

Lin, H., Decuyper, E., & Buyse, J. (2006). Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 144(1), 11-17.

Liu, L., Zhan, Z., Wang, Y., & Sun, C. (2022). "The impact of chronic inflammation on lipid metabolism and obesity: Focus on interleukin-6." *Frontiers in Physiology*, 13, 815558.

López, M., Ibarra, I., Ortiz, E., Favari, L., Sedeño, J., & López, E. (2016). Histopatología del Hígado, Lipoperoxidación e Índices Somáticos de *Fulica americana* en los Humedales de Xochimilco (Urbano) y Tecocomulco (Rural) de la Cuenca de México. *International Journal of Morphology*, 34(2), 522-532.

Maldonado, O., Ramírez S., García S., Ceballos R., & Méndez B. (2012). Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(2), 7-22.

Marmesat, S., Morales, A., Velasco, J., Ruiz Méndez, M., & Dobarganes, M. (2009). Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation.

Moncaleano-Vega, J., Ariza, F., & Hernández, A. (2011). Síndrome de hipertensión pulmonar ¿un origen genético en pollos de engorde?. *Orinoquia*, 15(1), 79-89.

Montecinos, G. (2020). Efecto del estrés calórico sobre el rendimiento zootécnico en dos estirpes de pollo de engorde en el tropico de Cochabamba.

Montecinos, K. (2020). Evaluación del uso de alimento peletizado en etapa inicial para mejorar la eficiencia productiva y economica en pollos parrilleros en la provincia de punata, dpto. de cochabamba.

Morales, A. (2019). Uso de dos dietas alimenticias con diferentes niveles de proteínas sobre los parámetros productivos en pollos parrilleros en fase de inicio.

Naranjo, V. (2023). Papel de nuevos biomarcadores en hipertensión pulmonar SST2 y CA-125 (Doctoral dissertation).

National Research Council. (1994). *Nutrient requirements of poultry* (9th ed.). National Academy Press.

National Research Council. (2012). *Nutrient requirements of swine* (11th ed.). The National Academies Press.

Nava, P., Koch, S., Laukoetter, M., Lee, W, Kolegraff, K., Capaldo, C., & Nusrat, A. (2010). Interferon- $\gamma$  regulates intestinal epithelial homeostasis through converging  $\beta$ -catenin signaling pathways. *Immunity*, 32(3), 392-402.

Niu, Z., Shi, J., Liu, F., Wang, X., Gao, C., & Yao, L. (2009). Effects of dietary energy and protein on growth performance and carcass quality of broilers during starter phase. *International Journal of Poultry Science*, 8(5), 508-511.

Novillo Ayala, L. (2021). Incidencia del Síndrome Ascítico en Pollos Broiler de la Línea Cobb 500. Facultad de Ciencias Pecuarias. Escuela Superior Politécnica de

Chimborazo.

Consultado

en:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15643/1/17T01671.pdf>

Osorio, J., & Flórez, J. (2011). Diferencias bioquímicas y fisiológicas en el metabolismo de lipoproteínas de aves comerciales. *Biosalud*, 10(1), 88-98.

Paguay, C., & Parra, C. (2016). Efecto de la restricción alimenticia cuantitativa y cualitativa sobre la productividad e incidencia de síndrome ascítico en pollos machos COBB 500 a 2664 msnm (Doctoral dissertation, Tesis de licenciatura. Universidad de Cuenca).

Paredes, M., & Vásquez, B. (2020). Crecimiento, características de carcasa, peso de órganos internos y composición proximal de carne de seis genotipos de pollos criados en la región Andina del norte peruano. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 365-374.

Paredes, O., Castillo C., Díaz R., Nieto A., & Méndez D. (2018). Antioxidantes e inhibición de radicales libres: lipoperoxidación y carbonilación. *Mexican journal of biotechnology*, 3(1), 60-72.

Pas, M., Borg, R., Buddiger, N., Wood, B., Rebel, J., van Krimpen, M., Calus, M., Park, J., & Schokker, D. (2020). Regulating appetite in broilers for improving body and muscle development: A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(6), 1819–1834.

Pérez-Campos M., Pérez-Campos, E., & Hernández-Huerta, M. (2022). Anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta. Departamento de bioquímica, UNAM.

Reina M., & Martínez A. 2017. Free radicals interacting with Cu, Ag and Au clusters. *Computational And Theoretical Chemistry*. 1120:24-33.

Rojas, R., & Vásquez, A. (2013). Hipertensión pulmonar y el desarrollo vascular en el pollo comercial. Un modelo experimental. Universidad Nacional de Colombia.

Sami, A., & Fekete, S. (2019). Economic impact of ascitic syndrome on broiler production. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(3), 811-820.

- SAS Institute. 2008. SAS/ETS® 9.2 User's Guide. SAS Institute, Inc., Cary.
- Sindik, M., Terraes, J., Sandoval, L., Revidatti, F., Fernández, R., & Betella, A. (2008). Efectos de diferentes relaciones energía/proteína sobre el comportamiento productivo de pollos parrilleros hembras. *InVet*, 10(1), 37-50.
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H. 1991. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 3rd Edition, McGraw-Hill, New York.
- Suárez, L., Fuentes, J., Torres, M., & López, S. (2020). Efecto de la restricción alimenticia sobre el comportamiento productivo de pollos de engorda. *Revista Agraria Nueva Época*, 1(3), 24-30.
- Tortora, G., Derrickson, B., Tzal, K., de los Ángeles G., & Klajn, D. (2002). Principios de anatomía y fisiología (Vol. 7). OXFORD University press.
- Unión Nacional de Avicultores. (2020). Situación de la avicultura mexicana. Consultado en: <https://una.org.mx/industria>
- Valdes, I. & Suarez, I. (2015). Evaluación del aumento de peso compensatorio en pollos de engorda bajo restricción alimenticia.
- Wallin, B., Rosengren, B., Shertzer, H., & Camejo, G. (1993). Lipoprotein oxidation and measurement of thiobarbituric acid reacting substances formation in a single microtiter plate: its use for evaluation of antioxidants. *Analytical biochemistry*, 208(1), 10-15.
- Xu, H., Feng, W., Xue, Y., & Cheng, X. (2020). "Role of interleukin-6 in metabolic disorders: Insights from animal studies." *Journal of Endocrinology*, 246(3), R157-
- Yang, F., Cao, H., Xiao, Q., Guo, X., Zhuang, Y., Zhang, C., & Liu, P. (2016). Transcriptome analysis and gene identification in the pulmonary artery of broilers with ascites syndrome. *PLoS One*, 11(6), e0156045.
- Zhao, P. & Kim, I. (2017). Effect of diets with different energy and lysophospholipids levels on performance, nutrient metabolism, and body composition in broilers. *Poultry Science*, 96(5), 1341-1347.

## IX. ANEXO 1

Homogenado de hígado de pollo.

Reactivos:	1000ml de buffer	
• Sacarosa	225 mM	77.02g
• Tris/HCL	10mM	1.21g
• EGTA	0.3mM	0.114g

Método:

1. Pesar 1gr de hígado de pollo y enjuaga con un poco de buffer para eliminar el exceso de sangre.
2. Coloca la porción de hígado en un tubo para homogenizar con 9 ml de buffer.
3. Con ayuda de un homogenizador de tejido mezclar durante unos segundos y conservar en viales.
4. Si la muestra no se utilizará inmediatamente, conservar en congelación.

## X. ANEXO 2

Determinación de proteína (Lowry).

Reactivos:	<u>Solución A</u>	<u>500ml</u>	
	• Carbonato de sodio	2%	10g
	• Hidróxido de sodio	0.4%	2g
	• Tartrato disódico	0.16%	0.8g
	• Reactivo de Folin 1N y agua destilada	(1:1)	
	<u>Solución B</u>		
	• Sulfato de cobre pentahidratado	4%	

Método:

1. Mezcla solución A+B (100:1) para obtener solución C.
2. Prepara tubos de ensayo para cada una de tus determinaciones incluyendo uno para el blanco.
3. Coloca 3ml de solución C en los tubos de ensayo y en el blanco.
4. Agrega 1ml de agua desionizada en todos los tubos incluyendo el blanco.
5. Coloca 0.005ml del homogenado de hígado (Anexo 1) en todos los tubos excepto el blanco.
6. Mezcla y espera 10 minutos.
7. Transcurrido el tiempo, agrega 0.3ml de reactivo de Folin en todos los tubos incluyendo el blanco.
8. Vuelve a mezclar y deja incubar en oscuridad y a temperatura ambiente durante 30 min.
9. Una vez que concluyó la incubación, lee a 660nm.
10. Los resultados se expresan en: contenido de proteína( $\mu$ g) en 3 $\mu$ l de hígado.

## XI. ANEXO 3

Sustancias que reaccionan al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Reactivos:	100ml
• Ácido tiobarbitúrico	.8%
• Cloruro de potasio	1.2%
• Ácido acético	20%
• Buffer tris	150 mm (pH7.4)
• Solución piridina-butanol	(1:15)
• Hierro (FeSO <sub>4</sub> )	prepara 500mL a 50 uM

Método:

1. Tomar 10µl de proteína (Anexo 3) y completar a 2ml con buffer tris en un tubo de ensayo.
2. En otro tubo de ensayo coloca 10µl de proteína y agrega 200µl de fierro para completar a 2ml con buffer tris.
3. Incubar en baño maría a 37°C durante 30 min.
4. Transcurrido el tiempo, tomar el incubado y agregar a todos los tubos lo siguiente:
  - ◆ 1.5ml Ácido acético.
  - ◆ 1.5ml Ácido tiobarbitúrico.
  - ◆ 0.5ml Agua desionizada.
5. Incubar a baño maría 92°C durante 45 min.
6. Transcurrido el tiempo, enfriar los tubos al chorro del agua por 5 minutos.
7. Pasar el contenido de los tubos enfriados a otros tubos de mayor volumen cuidando de no incluir la grasa.
8. Agregar a todos los tubos sin grasa 1ml de cloruro de potasio y agitar en vortex.
9. Una vez integrado, procede a añadir 5ml de solución piridina-butanol y vortexea hasta que los colores se integren en la parte superior.
10. A continuación, toma de la fase superior con ayuda de una pipeta Pasteur alrededor de 3.5ml y pasar a otros tubos de menor volumen.
11. Centrifuga la fase superior a 7000rpm durante 5min.
12. Toma 3ml y lee inmediatamente a 532nm en espectrofotómetro.





### XIII. ANEXO 5

Inmunofluorescencia.

Reactivos y materiales:

- Buffer PBST.
- Buffer de Citratos.
- Xilol 100%
- Alcohol 100%
- Leche Svelty 0% grasa (0.5 gr de leche por cada 10 ml de PBST).
- Anticuerpo monoclonal recombinante de conejo (D5W4V XP® (EEUU)) Rabbit mAb) contra IL-6 (preparar solución 1:100 con PBST).
- Alexa Fluor 488 (preparar solución 2.5:1000 con PBST).
- Medio de montaje (AB1041315 Anti-Fade, Fluorescence Mounting, Medium-Aqueous)
- Cámara húmeda oscura.
- Barniz de uñas.

Método:

1. Calentar las laminillas a 60°C durante 24hrs.
2. Transcurrido el tiempo sumergir las laminillas durante 15 minutos en xilol al 100%, después 10 minutos en xilol: alcohol (1:1), otros 10 minutos en alcohol 100% y alcohol al 90% y 70% también por 10 minutos cada uno.
3. Finalizar sumergiendo en agua destilada al menos por otros 10 minutos.
4. Hervir las laminillas en buffer de citratos durante 2-3 minutos utilizando un microondas.
5. Transcurrido el tiempo, dejar enfriar a temperatura ambiente durante 20min.
6. Sacar las laminillas del buffer y colocarlas dentro de una cámara húmeda para agregar inmediatamente 1ml de leche Svelty 0% sobre cada una y dejar cubierto el tejido durante 1 hora.
7. Dejar cubierto el tejido con la leche durante 1 hora, después sacudir bien sobre una sanita para después cubrir con 1ml de PBST durante 5 minutos, sacudir bien sobre una sanita cada laminilla y repetir este procedimiento 3 veces más para un total de 4 lavados con el buffer.

8. Después del último lavado rápidamente hacer un círculo alrededor de cada tejido con el plumón hidrófobo (control positivo y negativo), procurando que quede bien delimitada el área que deseo esté en contacto con el anticuerpo (control positivo).
9. Inmediatamente después de haber hecho el círculo, cubrir el tejido del control positivo con aproximadamente 25- 30µl del anticuerpo y el control negativo con 50-100µl de PBST. Dejar incubar en cámara húmeda a refrigeración durante 24hrs.
10. Transcurrido el periodo de incubación continuar con los siguientes pasos en un cuarto oscuro.
11. Hacer 3 lavados de 5 minutos c/u con PBST y después del último lavado cubrir cada uno de los controles (positivo y negativo) con 100µl de la solución Alexa Fluor 488. Dejar incubar en oscuridad a temperatura ambiente durante 2hrs.
12. Transcurrido el tiempo de incubación, hacer otros 3 lavados por 5 minutos y colocar 1 gota de medio de montaje a lado de cada control para después dejar caer el cubreobjetos evitando formar burbujas.
13. Sellar con esmalte de uñas todo el contorno del cubreobjetos sobre el portaobjetos y dejar secar para después almacenar las laminillas en oscuridad y a refrigeración.
14. Realizar lecturas en microscopio para inmunofluorescencia a 40X con exposición de 3s.