

Efecto de la oclusión de un bronquio y la restricción alimenticia en pollos de engorda

Effect of bronchial occlusion and feed restriction on broiler chickens

Leodan Tadeo Rodríguez-Ortega¹, Arturo Pro-Martínez², Eliseo Sosa-Montes³, Filogonio Jesús Hernández-Guzman⁴, Sergio Iban Mendoza-Pedroza², Hector Leyva-Jimenez⁵

¹Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, km 2, carretera Tepatepec-San Juan Tepa, CP. 42660. Tepatepec, Hidalgo, México.
²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, km 36.5, carretera México-Texcoco, CP. 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México.

³Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km. 38.5, CP. 56230. Chapingo, Estado de México, México.

⁴Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km. 38.5, CP. 56230. Chapingo, Estado de México, México.

⁵United Animal Health, 322 S Main St., Sheridan, 46069. Indiana, Estados Unidos de América.

*Autor de correspondencia: ing.leyva531@gmail.com

Artículo científico

Recibido: 19 de marzo 2024 **Aceptado**: 15 de octubre 2025

RESUMEN. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la oclusión de un bronquio (OB, a 21 días de edad) y la restricción de alimento; RA (12 horas día-1) sobre la actividad antioxidante y variables relacionados con la ascitis en pollos criados a 2,278 m de altitud. Los tratamientos fueron: conOB-conRA, conOB-sinRA, sinOB-conRA, sinOB-sinRA. El hematocrito (Hct %) se evaluó en dos periodos (periodo uno y dos: 10 y 16 días después de la oclusión). En el periodo 2: 10 pollos por tratamiento se sacrificaron de forma humanitaria, para evaluar la relación peso del ventrículo derecho entre el peso ventricular total (RV:TV). La actividad antioxidante (AO) se evaluó en el corazón, pulmón e hígado. Los pollos sinOB-conRA tuvieron el menor (P < 0.05) Hct% en los dos periodos evaluados (33.1 y 37%). La menor mortalidad por ascitis se observó en las aves sinOB-conRA y la mayor mortalidad en las aves conOB-sinRA (5% y 52%, respectivamente). Las aves sinOB-conRA presentaron la menor (P < 0.05) relación RV:TV comparado con todos los tratamientos. Los pollos sinOB-conRA tuvieron la mayor (P < 0.05) AO en el corazón (P < 0.05), pulmón (P < 0.05) e hígado (P < 0.05) con respecto a los otros tratamientos. En conclusión: la restricción alimenticia 12 horas día-1 reduce la mortalidad debida a ascitis. La oclusión de un bronquio primario es un método efectivo para desarrollar ascitis de manera experimental en pollos de engorda criados a 2 278 m de altitud. La alimentación ad libitum es un factor que impulsa el desarrollo de ascitis.

Palabras clave: Ascitis, actividad antioxidante, oxidación lipídica.

ABSTRACT. The objective of the present study was to evaluate the effect of bronchial occlusion (BO, at 21 days of age) and feed restriction (RA, 12 hours day-1) on antioxidant activity and variables related to ascites in broiler chickens raised at 2,278 m altitude. The treatments were: with BO-with RA, with OB-without RA, without OB-with RA, and without OB-without RA. Hematocrit (Hct%) was evaluated in two periods (period one and two: 10 and 16 days after occlusion). In period 2: 10 chickens per treatment were euthanized humanely to evaluate the right ventricular weight relationship with the total ventricular weight (RV:TV). Antioxidant activity (AO) was evaluated in the heart, lung, and liver. Chickens without OB-with RA had the lowest (P < 0.05) Hct% in the two periods evaluated (33.1 and 37%). The lowest mortality from ascites was observed in birds without OB-with RA, and the highest mortality in the birds with OB-without RA (5% and 52%, respectively). Birds without OB-with RA had the lowest (P < 0.05) RV:TV ratio compared to all treatments. Chickens without OB-with RA had the highest (P < 0.05) AO in the heart (P < 0.05), lung (P < 0.05), and liver (P < 0.05), compared to the other treatments. In conclusion, dietary restriction 12 hours a day-1 reduces mortality due to ascites. Occlusion of a primary bronchus is an effective method to develop ascites experimentally in broilers raised at 2,278 m altitude. Ad libitum feeding is a factor driving the development of ascites.

Keywords: Ascites, antioxidant activity, lipid oxidation.



INTRODUCCIÓN

La altitud disminuye la presión parcial de oxígeno (PO₂) en la sangre arterial, lo que genera hipoxemia (Cristancho 2012), induciendo hipoxia tisular (Oliver y González 2009) y esta a su vez, ocasiona vasoconstricción en el pulmón, lo que limita el flujo sanguíneo en los capilares (Schumacker 2011); disminuye la tasa de transporte de electrones e incrementa la posibilidad de generar el radical superóxido (O₂-) (Poyton *et al.* 2009), en la revisión de literatura realizada se encontró poca información publicada sobre la actividad antioxidante y el daño oxidativo en el corazón, hígado y pulmones de pollos de engorda con ascitis criados en altitudes elevadas. Por ejemplo, el Municipio de Texcoco, Estado de México que se encuentra a 2 278 m de altitud, con presión atmosférica de 581.1 mm Hg, PO₂ de 122 mm Hg [PO₂ = presión atmosférica x 0.21 (concentración de oxígeno)] (Vázquez y Pérez 2000), bajo estas condiciones la disminución de PO₂ genera estado de hipoxia en el pollo de engorda.

La ascitis (SA) o síndrome de hipertensión pulmonar (SHP), es una enfermedad metabólica que ocurre principalmente en pollos de rápido crecimiento (Kalmar *et al.* 2013). Es una de las principales causas de muerte en la producción de pollo de engorda (Aftab y Khan 2005). La enfermedad puede aparecer desde la primera semana de edad y causar elevada mortalidad durante el ciclo de producción (Abdulazeez 2023). La etiología central de la ascitis es una condición de hipoxia (Kalmar *et al.* 2013). La alta tasa metabólica de las líneas de pollos actuales, causa mayor demanda de oxígeno en el sistema cardiaco-respiratorio que no logran abastecer, y el resultado es hipoxia tisular (Aftab y Khan 2005). La hipoxia incrementa la probabilidad de generar O₂- (Poyton *et al.* 2009). El radical O₂-reacciona con el óxido nítrico (NO) para producir un oxidante tóxico: peroxinitrito (ONOO-) (Chirino *et al.* 2006). El ONOO- es un poderoso vasoconstrictor capaz de dañar células endoteliales (Pacher *et al.* 2007), es degradado a dióxido de nitrógeno (NO₂) y radical hidroxilo (OH-) (Oka *et al.* 2000).

La oclusión de un bronquio primario, con un clip de plata, es un método experimental efectivo para generar de manera experimental ascitis en pollos de engorda. Ya que la oclusión de un bronquio genera de forma inmediata hipoxia sistémica, hipertensión pulmonar, hipoxemia, hipercapnia (aumento de la presión parcial de dióxido de carbono en sangre) e incrementa la relación peso ventricular derecho entre peso ventricular total (RV:TV) (Wideman *et al.* (1997). A nivel celular, la mitocondria genera aproximadamente 90% del ATP celular (Lemeshko 2018), en su membrana interna se realiza la cadena de transporte de electrones (CTe-), la CTe- es el origen más importante de especies reactivas de oxígeno (ROS), entre 2 y 4% de oxígeno consumido por las mitocondrias es convertido a O₂-como resultado de las fugas de electrones de la CTe- (Bottje y Carstens 2008).

La restricción alimenticia (RA) es una estrategia utilizada en campo, para disminuir la prevalencia de ascitis en la crianza de pollo de engorda. Así mismo, se han reportado diversos estudios que apoyan el uso de la RA. Por ejemplo, Pan *et al.* (2005) observaron que la RA temprana (fase de iniciación) disminuyó la peroxidación lipídica medida a través de la concentración de malondialdehído en plasma sanguíneo y esta se relacionó con una menor incidencia de ascitis. Así mismo, Balog *et al.* (2000) reportaron que la RA es una técnica útil para disminuir la incidencia de ascitis en pollo de engorda a través del uso de una cámara hipobárica para simular condiciones de altitud elevada e inducir la ascitis.



Tomando en cuenta lo anterior, se espera que, bajo el modelo de inducción de ascitis, la elevada altitud del Valle de México, la oclusión de un bronquio primario y la alimentación a libre acceso tendrán efectos aditivos que incrementarán la mortalidad, ocasionarán oxidación lipídica y afectarán la actividad antioxidante en el corazón, pulmones e hígado. Las aves con oclusión de un bronquio y sin restricción alimenticia tendrán valores elevados de hematocrito y RV:TV. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la oclusión de un bronquio primario y la restricción de alimento sobre la capacidad antioxidante y la oxidación lipídica en el corazón, pulmón e hígado y variables relacionadas con ascitis en pollos criados a 2 278 m de altitud.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y tratamientos experimentales

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones avícolas del Colegio de Postgraduados ubicado en Montecillo, Texcoco, México a 2 278 m de altitud (Vázquez y Pérez 2000). Se utilizaron 85 pollos machos Ross 308 de un día de edad, cuando los pollos cumplieron 21 días de edad se asignaron de forma aleatoria a los siguientes tratamientos: Pollos con oclusión de un bronquio primario con restricción alimenticia durante 12 horas día-1 (conOB-conRA); con oclusión de un bronquio primario sin restricción alimenticia (conOB-sinRA); testigo, sin oclusión de un bronquio con restricción alimenticia durante 12 horas día-1 (sinOB-conRA); sin oclusión de un bronquio sin restricción alimenticia (sinOB-sinRA). Los pollos conOB-conRA y conOB-sinRA fueron ocluidos de un bronquio primario, de acuerdo con el procedimiento quirúrgico desarrollado por Wideman *et al.* (1996) a los 21 días de edad con el objetivo de generar hipoxia tisular y desarrollar ascitis. Los procedimientos experimentales siguieron los estándares de ética, bioseguridad y bienestar para el uso de animales en investigación que señala la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (SENASICA 2001, Gutiérrez-Torres *et al.*2023).

Instalaciones y alimentación

Se ofreció alimento comercial para pollo de engorda en crecimiento, su aporte nutricional marcado en la etiqueta mencionó que contenía: 19% de proteína, 4% grasa cruda, 4% fibra cruda, 5.5% cenizas, 12% humedad, 59. 50% extracto libre de nitrógeno por diferencia y 3100 kcal de EM kg⁻¹ de alimento, este alimento fue ofrecido durante todo el periodo experimental (1 a 37 días). El programa de temperatura y ventilación dentro de la caseta siguió los lineamientos comerciales para asegurar el confort de las aves a lo largo del experimento. La restricción alimenticia (RA) se realizó durante 12 horas/día, de 6:00 p.m. a 6:00 a.m. no recibieron alimento, los comederos se retiraron del corral, en las aves sin RA el alimento se ofreció alimento *ad libitum*. El agua de bebida estuvo disponible durante todo el periodo experimental.

Hematocrito y RV:TV

El hematocrito se evaluó en dos periodos: Periodo 1, 10 días después de la oclusión, cuando los pollos tenían 31 días de edad; periodo 2, 16 días después de la oclusión, cuando los pollos tenían 37 días de edad, en ambos periodos se colectaron 3 mL de sangre de 10 pollos, por tratamiento, la sangre se colocó en tubos con EDTA, se centrifugaron a 1 000 RPM x g por 10 min y se midió el





porcentaje de hematocrito (Hct). El día 37 de edad (periodo 2) 10 pollos por tratamiento fueron pesados y se mataron de forma humanitaria por dislocación cervical de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995 (SENASICA 2015, Gutiérrez-Torres *et al.*2023), se removió y se pesó corazón, pulmones e hígado, el peso de estos órganos fue expresado como peso relativo. El corazón se diseccionó para calcular la relación peso del ventrículo derecho entre el peso ventricular total (RV:TV), los órganos se almacenaron a -46 °C para analizar la actividad antioxidante y la oxidación lipídica.

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante (AO) de cada órgano se midió por triplicado y reportada como porcentaje de inhibición del radical 2,2 difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). Para medir la actividad antioxidante se utilizó la técnica de Brand-Williams *et al.* (1995) adaptada por Rodríguez-Ortega *et al.* (2017) para hígado, pulmones y corazón de pollos de la siguiente manera: Se pesó 1 g de hígado, 1 g de pulmón y 1 g de corazón crudos; cada órgano se mezcló con 5 mL de metanol (Sigma Aldrich), se trituró en un mortero y se incubó durante 30 min a 30 C, las muestras se agitaron en un vortex cada 10 min. Después de la incubación las muestras se centrifugaron a 1 342 RPM x g durante 10 min. El extracto de metanol fue filtrado a través de papel Whatman número cuatro. Se tomaron: 20 μ L de hígado, 100 μ L de pulmón y 180 μ L de corazón y de forma individual se mezcló con 500 μ L de metanol más 1.5 mL de DPPH (0.0042 g de DPPH, Sigma Aldrich + metanol, aforados a 100 cm³), se agitaron vigorosamente durante 10 seg y se dejaron reposar en un cuarto obscuro a temperatura ambiente durante 20 min finalmente; se leyó la absorbancia en espectrofotómetro (Thermo Scientific, modelo 10S VIS) a 515 nm, simultáneamente se realizó blanco (sin extracto). La actividad antioxidante de los órganos se calculó utilizando la siguiente ecuación:

Actividad antioxidante (%) =
$$\frac{absorbancia\ del\ DPPH\ -\ absorbancia\ de\ la\ muestra}{absorbancia\ del\ DPPH}*100$$

Oxidación lipídica

La oxidación lipídica (OL) como concentración de malondialdehído (MDA) fue determinado según la metodología de Bouge y Aust (1978) ajustada por Rodríguez-Ortega *et al.* (2017), de la siguiente manera: 10 g de tejido (pulmones, corazón e hígado; cada muestra se analizó individualmente por triplicado) fueron mezclados con 30 mL de agua grado HPLC (Sigma Aldrich) y 0.2 mL de butilhidroxitolueno (BHT, Sigma Aldrich, 7.2% m/v). La mezcla se homogeneizó en un mortero y se dejó reposar durante 15 min en la oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente, se extrajo 1 mL de la muestra y se mezcló con 2 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA, 0.02 M) en ácido tricloroacético al 15% (TCA, Sigma Aldrich). La mezcla se incubó a 80 C durante una hora (Ulu, 2004), posterior a la incubación las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y fueron centrifugadas a 1 342 RPM × g durante 10 min. Finalmente se leyó el sobrenadante en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Modelo 10S Vis, EE. UU.) a 530 nm. La oxidación lipídica se expresó como nmol MDA g-1 de tejido.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial (2x2) de tratamientos; los factores principales fueron la oclusión de un bronquio (OB: con y sin oclusión) y la restricción alimenticia





(RA: con y sin restricción). Cada pollo fue una unidad experimental. Los efectos principales OB, RA y la interacción BO*RA fueron evaluados para todas las variables (Hct, RV:TV, mortalidad, peso relativo de los órganos, actividad antioxidante y oxidación lipídica) con el procedimiento Proc GLM del paquete estadístico SAS 9.0 (SAS 2006). Se evaluó la normalidad de los datos registrados como porcentajes con el procedimiento Proc Univariate Normal y la prueba de Bartlett (SAS 2006), cuando el P-valor de la prueba de Shapiro-Wilk fue mayor a 0.05 los datos presentaron normalidad, si los datos no presentaron normalidad fueron transformados con raíz cuadrada (SQRT), logaritmo (LOG). Las medias fueron comparadas con la prueba de Tukey, esta fue significativa cuando se observó un P < 0.05. Los efectos principales OB, RA y la Interacción: BO*RA fueron evaluados con el procedimiento Proc GLM de SAS 9.0.

RESULTADOS

Hematocrito

El mayor porcentaje (P < 0.05) de Hct a 31 días de edad (10 días después de la oclusión) se observó en el grupo conOB-conRA comparado con sinOB-conRA y sinOB-sinRA. A 37 días de edad (16 días después de la oclusión), el porcentaje de Hct fue mayor (P < 0.05) en conOB-conRA y conOB-sinRA comparados con sinOB-sinRA. Por el contrario, los pollos sinOB-conRA mostraron el menor (P < 0.05) porcentaje de Hct en los dos periodos analizados (Tabla 1).

Tabla 1. Porcentaje de hematocrito (Hct) en los periodos 1 y 2, relación ventrículo derecho entre peso ventricular total (RV:TV) y mortalidad por ascitis en pollos de engorda.

| Tratamiento | Hct (%) Periodo 1 | Hct (%) Periodo 2 | RV:TV | Mortalidad (%) |
|--------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------------|
| conOB-conRA | 46.1a | 45.1ª | 0.30a | 18 (4/22) |
| conOB-sinRA | 42.2ab | 43.9a | 0.33a | 52 (11/21) |
| sinOB-conRA | 33.1 ^c | 37.0 ^b | 0.22 ^b | 5 (1/21) |
| sinOB-sinRA | $40.0^{\rm b}$ | 42.0 ^{ab} | 0.33a | 29 (6/21) |
| *EEM | 1.414 | 1.364 | 0.017 | 0.570 |
| P-valor | | | | |
| RA | 0.3024 | 0.1697 | 0.0002 | 0.0101 |
| ОВ | < 0.0001 | 0.0007 | 0.0202 | 0.0887 |
| RA*OB | 0.0005 | 0.0305 | 0.0383 | 0.5494 |
| Shapiro-Wilk | 0.0614 | 0.0514 | 0.0915 | 0.0500 |

^{a, b, c} Medias con diferente letra en cada columna son diferentes (Tukey, P < 0.05). *Error estándar de la media. Hct: hematocrito periodo 1; 10 días después de la oclusión, cuando los pollos tenían 31 días de edad, periodo 2; 16 días después de la oclusión, cuando los pollos tenían 37 días de edad. RV:TV fue evaluada en el periodo 2. RA: restricción alimenticia, OB: oclusión de un bronquio primario, Mortalidad. Entre paréntesis se indica el número de pollos muertos entre el número de pollos que iniciaron el experimento.





Relación RV:TV

Las aves sinOB-conRA presentaron la menor (P < 0.05) relación RV:TV comparado con todos los tratamientos. Mientras que los pollos conOB-conRA, conOB-sinRA y sinOB-sinRA no mostraron diferencias entre ellos (P > 0.05) en la relación RV:TV (Tabla 1).

Mortalidad

La menor mortalidad por ascitis se observó en las aves sinOB-conRA (5%) y las mayores (52 y 29%) en los pollos conOB-sinRA y sinOB-sinRA (Tabla 1). Ambos tratamientos con RA resultaron con menor (P < 0.05) porcentaje de mortalidad independientemente de la oclusión del bronquio.

Peso vivo y peso relativo de órganos

Los pollos conOB-conRA tuvieron el menor (P < 0.05) peso vivo (Figura 1), mientras que, los pollos sinOB-sinRA mostraron el mayor (P < 0.05) peso vivo, las aves conOB-sinRA y sinOB-conRA tuvieron similar peso vivo (P > 0.05; Figura 1). Estos resultados confirman que el pollo de engorda está diseñado para incrementar su peso vivo en un corto tiempo; sin embargo, la elevada tasa de crecimiento lo hace más propenso a sufrir ascitis.

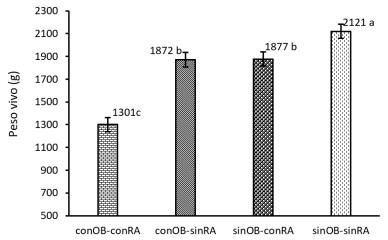


Figura 1. Peso vivo (g) a 37 días de edad (16 días después de la oclusión), medias con diferente letra son diferentes; (Tukey, P < 0.05), OB: oclusión de un bronquio primario, RA: restricción alimenticia.

La interacción OB*RA no fue significativa (Tabla 2), sin embargo, el peso relativo del corazón fue menor (P < 0.05) en los pollos sin OB (sin OB = $0.60 \pm 0.01\%$ vs conOB = 0.640.01%) independientemente de RA. El peso relativo del pulmón no se afectó (P > 0.05; Tabla 2). En el peso relativo del hígado la interacción OB*RA fue significativa (P < 0.05), se observó que el peso relativo del hígado en los pollos conOB-conRA y sinOB-conRA fue menor (P < 0.05) comparado con el hígado de las aves conOB-sinRA y sinOB-sinRA.



Tabla 2. Peso relativo (%) del corazón, pulmones e hígado de pollos con y sin oclusión de un bronquio primario y restricción alimenticia.

| Tratamiento | Corazón (%) | Pulmón (%) | Hígado (%) |
|--------------|-------------|------------|-------------------|
| conOB-conRA | 0.67a | 0.57a | 2.34 ^b |
| conOB-sinRA | 0.66^{a} | 0.68a | 2.78ª |
| sinOB-conRA | 0.57^{a} | 0.57a | 2.46 ^b |
| sinOB-sinRA | 0.62ª | 0.64^{a} | 2.84ª |
| *E.E.M. | 0.02 | 0.03 | 0.10 |
| P-valor | | | |
| RA | 0.1192 | 0.0510 | 0.0315 |
| OB | 0.0477 | 0.8186 | 0.7890 |
| OB*RA | 0.3554 | 0.8868 | 0.0079 |
| Shapiro-Wilk | 0.0511 | 0.0546 | 0.1753 |

^{a, b}Medias con diferente letra en cada columna son significativamente diferentes (Tukey, P < 0.05). *Error estándar de la media. RA: restricción alimenticia, OB: oclusión de un bronquio primario, en el periodo 2; 16 días después de la oclusión, el peso relativo de los órganos se evaluó cuando los pollos tenían 37 días de edad (16 días después de la oclusión).

Actividad antioxidante

La mayor actividad antioxidante en el corazón se observó en los pollos sinOB-conRA, respectivamente (Figura 2). La actividad antioxidante en el corazón de las aves sinOB-conRA fue mayor (P < 0.05) que en las aves sinOB-sinRA (78 vs 44%). Mientras que, en los pollos conOB-conRA la actividad antioxidante fue ligeramente mayor que en los pollos conOB-sinRA (50 vs 47%) (Figura 2). Lo que confirma la hipótesis, que la restricción alimenticia mantiene estable la actividad antioxidante en el corazón.

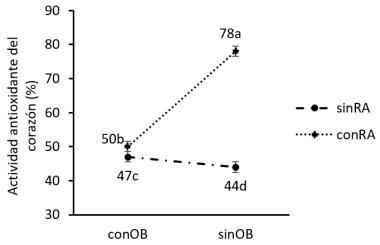


Figura 2. Actividad antioxidante del corazón (%), medias con diferente letra son diferentes (Tukey, P < 0.05). OB: oclusión de un bronquio primario, RA: restricción alimenticia, la interacción OB*RA (P < 0.05).



Los pollos conOB-sinRA presentaron menor (P < 0.05) actividad antioxidante en el pulmón comparados con los pollos sinOB-conRA (47 vs 64%, Figura 3). Mientras que, los pollos sinOB-sinRA tuvieron menor (P < 0.05) actividad antioxidante que las aves sinOB-conRA (31 vs 64%) (Figura 3).

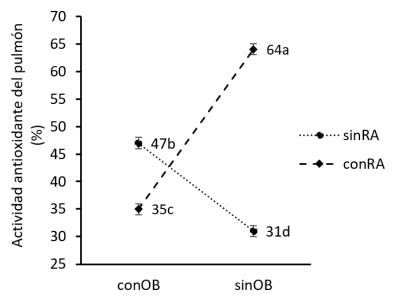


Figura 3. Actividad antioxidante del pulmón (%), medias con diferente letra son diferentes; Tukey; (P < 0.05). OB: oclusión de un bronquio primario, RA: restricción alimenticia, la interacción OB*RA (P < 0.05).

Los pollos sinOB-conRA tuvieron la mayor (P < 0.05) actividad antioxidante en el hígado (Figura 4). Sin embargo, los pollos conOB-conRA mostraron ligeramente mayor actividad antioxidante que los pollos conOB-sinRA (59 *vs* 42%; Figura 4). Los pollos sinOB-sinRA tuvieron similar actividad antioxidante en el hígado que los pollos conBO-conRA (58 *vs* 59%). La oclusión de un bronquio pulmonar y la alimentación *ad libitum* reducen la actividad antioxidante de los pollos a 37 días de edad, la elevada tasa metabólica incrementa la formación de radicales libres.

Oxidación lipídica (MDA)

La oxidación lipídica (nmol de MDA g^{-1} de tejido) en el corazón fue mayor (P < 0.05) en los pollos sinOB-sinRA (Figura 5). Las aves conOB-sinRA y conOB-conRA presentaron similar oxidación lipídica en el corazón (91 nmol de MDA g^{-1} de tejido vs 98 nmol de MDA g^{-1} de tejido; Figura 5). Los pollos sinOB-conRA tuvieron la menor (P < 0.05) oxidación lipídica (Figura 5). Estos resultados demostraron que la oclusión de un bronquio primario y la alimentación ad libitum ocasionan oxidación lipídica en órganos internos.

La mayor (P < 0.05) oxidación lipídica en el pulmón se observó en los pollos conOB-sinRA, conOB-conRA y sinOB-sinRA (Figura 6), mientras que, la menor (P < 0.05) oxidación lipídica se observó en los pollos sinOB-conRA. Con estos resultados se comprobó la hipótesis: el pulmón de los pollos con oclusión de un bronquio primario sufriría mayor daño oxidativo que las aves sin oclusión de un bronquio.

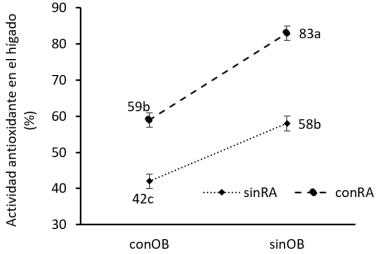


Figura 4. Actividad antioxidante del hígado, medias con diferente letra son diferentes (Tukey, P < 0.05). OB: oclusión de un bronquio primario, RA: restricción alimenticia, la interacción OB*RA (P < 0.05).

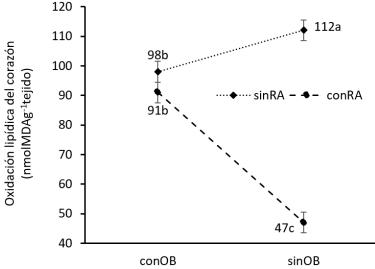


Figura 5. Oxidación lipídica del corazón (nmol de MDA g^{-1} de tejido), medias con diferente letra son diferentes (Tukey, P < 0.05), OB: oclusión de un bronquio primario, RA: restricción alimenticia, la interacción OB*RA (P < 0.05).

En el hígado no fue significativa la interacción (P > 0.05) solo los efectos principales OB y RA (P < 0.05). Los pollos conOB-sinRA tuvieron la mayor oxidación lipídica en el hígado, los pollos sinOB-sinRA y conOB-conRA tuvieron similar oxidación lipídica (44 nmol de MDA g^{-1} de tejido vs 42 nmol de MDA g^{-1} de tejido). Los pollos sinOB-conRA mostraron la menor oxidación lipídica (Figura 7).

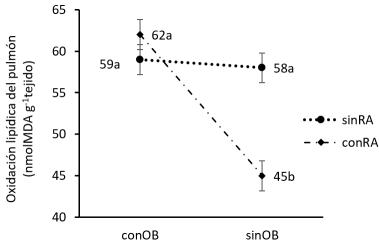


Figura 6. Oxidación lipídica del pulmón (nmol de MDA g⁻¹ de tejido), medias con diferente letra son diferentes; (Tukey, P < 0.05). OB: oclusión de un bronquio primario, RA: restricción alimenticia, la interacción OB*RA (P < 0.05).

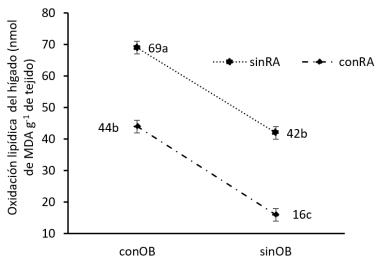


Figura 7. Oxidación lipídica del hígado (nmol de MDA g^{-1} de tejido), medias con diferente letra son diferentes (Tukey, P < 0.05). OB: oclusión de un bronquio primario, RA: restricción alimenticia, la interacción OB*RA (P < 0.05).

DISCUSIÓN

Hematocrito

En el presente estudio, el elevado hematocrito que se observó en los pollos conBO-sinRA, conOB-conRA en los dos periodos evaluados fue ocasionado por la hipoxia tisular (falta de oxígeno en los tejidos) generada por la oclusión del bronquio primario y a la altitud. Al respecto, Wideman *et al.* (1997) observaron que la oclusión de un bronquio genera hipoxemia de forma inmediata, mientras que, el elevado hematocrito en los pollos sinOB-sinRA pudo deberse a la alimentación *ad libitum* y



la elevada altitud, la elevada altitud genera hipoxemia (Cristancho 2012) y esta induce hipoxia tisular. La hipoxemia es el principal estímulo hiperproductor de eritropoyetina, hormona que estimula la eritropoyesis en la médula ósea y el aumento de los eritrocitos en sangre periférica, con el propósito de mejorar el aporte de oxígeno a los tejidos (Oliver y González 2009). La elevada altitud es otro factor que incrementa el hematocrito, Villafuerte et al. (2022) observaron que la elevada altitud incrementa los niveles de hematocrito. Las bajas temperaturas aumentan la presencia de ascitis y elevan el hematocrito, Luger et al. (2003) reportan que exponer pollos de engorda a abajas temperaturas induce la presencia de ascitis, se eleva el hematocrito (49.8%) y los niveles de corticoesterona (30.2 ng*mL-1) como respuesta al estrés por frío. Los valores de hematocrito (49.8%) encontrados por Luger et al. (2003) fueron similares a los encontrados en los pollos conOB-conRA y conOB-sinRA de esta investigación (Tabla 1). Los valores de hematocrito de pollos sanos fueron reportados por Wang et al. (2012), quienes observaron que pollos sanos tienen hematocrito menor a 36% y pollos con ascitis tienen hematocrito superior a 36%, de acuerdo con los valores anteriores de hematocrito; los pollos conOB-conRA, conOB-sinRA y sinOB-sinRA presentaron un grado de ascitis, mientras que, las aves sinOB-conRA se encontraban en estado saludable (Tabla 1).

Relación RV:TV

La causa de la elevada relación RV:TV en los pollos conOB-conRA, conOB-sinRA y sinOB-sinRA (0.30, 0.33 y 0.33 \pm 0.017, respectivamente) se debe a la viscosidad de la sangre por el aumento del hematocrito para satisfacer los niveles de oxígeno (O2) y la vasoconstricción del endotelio pulmonar por la formación de peroxinitrito (ONOO-) proveniente de la reacción del óxido nítrico NO- con el radical O2- limitan el flujo sanguíneo (Schumacker 2011), por lo que aumentan el gasto cardiaco y la hipertrofia del ventrículo derecho, mientras que, la hipoxia ocasionada por la oclusión de un bronquio incrementó la relación RV:TV y mortalidad por ascitis (RV:TV; 0.412 y mortalidad; 55%, Wideman *et al.* 1997), la relación RV:TV en pollos sanos fue registrada por Wideman *et al.* (2001), observaron valores entre 0.15 y 0.27, mientras que pollos con hipertensión pulmonar su relación es superior a 0.28. De acuerdo con los intervalos anteriores la relación RV:TV de los pollos conOB-conRA, conOB-sinRA y sinOB-sinRA (0.30, 0.33 y 0.33 \pm 0.017) fue mayor a 0.28, lo que indica que estos pollos sufrieron ascitis, mientras que, los pollos sinOB-conRA tuvieron 0.22 lo que indica que no presentaron ascitis.

Mortalidad y peso vivo

El pollo de engorda ha sido seleccionado genéticamente para desarrollar rápido crecimiento, aumentar masa muscular; en particular pechuga y muslos; sin embargo, corazón, hígado y pulmones no se desarrollan de forma similar que los músculos anteriores, por lo que su oxigenación y flujo sanguíneo se ven comprometidos (Hassanzadeh et~al.~2005). En el presente trabajo de investigación se observó que los pollos conOB-sinRA, conOB-conRA, sinOB-sinRA presentaron elevada mortalidad debida a ascitis (52, 18 y 29 \pm 0.57%, respectivamente). Los pollos sinOB-sinRA tuvieron el mayor peso vivo (2121 \pm 62g), los pollos conOB-sinRA tuvieron peso similar a los pollos sinOB-conRA (1877 y 1872 \pm 62g), estos resultados comprueban la hipótesis, que la oclusión de un bronquio y la alimentación ad~libitum~aumentan la susceptibilidad a desarrollar ascitis en el pollo de engorda. Los pollos sinOB-sinRA y conOB-sinRA tuvieron el mayor peso relativo del corazón,



pulmón he hígado, lo que demuestra que sufrieron hipertrofia de estos órganos al tratar de regular su oxigenación y flujo sanguíneo, mientras que, los pollos sinOB-conRA redujeron su tasa metabólica y desarrollo corporal, lo que comprueba la hipótesis, que la restricción alimenticia evita la hipertrofia del corazón, hígado y pulmones; así como la susceptibilidad a desarrollar ascitis. Los pollos sinOB-conRA tuvieron el menor peso relativo del hígado ($2.46 \pm 0.1\%$) con respecto a los otros tratamientos, esto sugiere que el hígado de estas aves se encontraba saludable, los pollos con ascitis presentaron el hígado de mayor tamaño (conOB-sinRA: $2.78 \pm 0.1\%$ y sinOB-sinRA: $2.84 \pm 0.1\%$)

Actividad antioxidante

La hipoxia por la oclusión de un bronquio, la alimentación ad libitum y la hipoxia generada por la altitud aumentan la producción de especies reactivas de oxígeno en el pollo de engorda, Rodríguez-Ortega et al. (2017) observaron que pollos criados a 2250 m de altitud con alimentación ad libitum mostraron bajos niveles de glutatión peroxidasa y elevados niveles de malondialdehído en plasma. La primera línea de defensa contra los radicales libres son los antioxidantes endógenos, las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa son las primeras en actuar contra las especies reactivas de oxígeno, los antioxidantes exógenos derivan principalmente de la dieta (Nooris 2012). La actividad antioxidante es reportada como porcentaje de inhibición del radical 2,2 difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), el DPPH es radical libre estable que acepta un hidrogeno de un donador correspondiente (antioxidante), la cantidad de antioxidantes de un compuesto que reaccionan con el DPPH se expresa como disminución de la absorbancia del DPPH (Tirzitis y Bartoz 2010). Los pollos conOB-conRA, conOB-sinRA y sinOB-sinRA tuvieron menor actividad antioxidante en el corazón (50, 47, 44 ± 0.56%), pulmón (35, 47, 31 ± 0.62%) e hígado (59, 42, 58 ± 0.80%) respecto a las aves sinOB-conRA (corazón: 78 ± 0.56%, pulmón: 64 ± 0.62%, hígado: 83 ± 0.80%), confirmando la hipótesis que la oclusión de un bronquio y alimentación ad libitum ocasionan incremento de especies reactivas de oxígeno y generan menor actividad antioxidante en órganos internos de pollos de engorda criados a elevada altitud.

Oxidación lipídica

Los pollos con ascitis presentan bajos niveles de antioxidantes, al respecto Cawthon et~al.~(2001) observaron que los niveles de glutatión y α -tocoferol están disminuidos en la mitocondria de los pollos con ascitis, lo que sugiere que las especies reactivas de oxígeno son producidas de forma endógena en las mitocondrias. Sin embargo, con los resultados observados en los pollos sinOB-conRA se observó que la restricción de alimento disminuyó la oxidación lipídica y mantuvo estable la actividad antioxidante (corazón: 47 ± 3.5 nmol MDAg-1 tejido, pulmón: 45 ± 1.8 nmol MDAg-1 tejido, hígado: 16 ± 2.0 nmolMDAg-1 tejido, respectivamente). La restricción de alimento es una estrategia eficaz para disminuir las muertes por ascitis, Pan et~al.~(2005) observaron que pollos con restricción alimenticia tuvieron menores concentraciones de MDA en el plasma y mayor actividad de enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en comparación con las aves alimentadas ad~libitum. En este estudio la restricción de alimento 12 horas día-1 mantuvo estable la actividad antioxidante en los órganos de los pollos sinOB-conRA. La hipoxia induce incremento de especies reactivas de oxígeno dentro de las paredes vasculares (Paddenberg et~al.~2003), el radical superóxido (O_2 -) es el precursor de varias especies de oxígeno: peróxido de



hidrogeno (H₂O₂), radical hidroxilo (OH) uno de los oxidantes más fuertes en la naturaleza, el radical O₂- puede reaccionar con óxido nítrico (NO·) y formar peroxinitrito (OONO·), un oxidante muy potente, con papel prominente en el desarrollo de ascitis (Belik *et al.* 2010). Tanto el OH· y OONO· son oxidantes fuertes que reaccionan indiscriminadamente con ácidos nucleicos, lípidos y proteínas (Turrens 2003), el estrés oxidativo y la peroxidación lipídica juegan un papel importante en la patología de ascitis en pollos de engorda (Pan *et al.* 2007, Rodríguez-Ortega *et al.* 2017). Por otra parte, las bajas temperaturas inducen ascitis en el pollo de engorda, Wang *et al.* (2012) observaron que pollos expuestos a 17 C durante el día y 14 C durante la noche presentaron ascitis y daño oxidativo en el hígado (MDA: 0.31nmol*mg de proteína-¹) con respecto a pollos sanos (MDA: 0.27 nmol*mg de proteína-¹). Los resultados del presente experimento soportan las hipótesis que la oclusión de un bronquio y la alimentación *ad libitum* incrementa la mortalidad por ascitis y el daño oxidativo en el corazón, pulmón e hígado como se observó en los pollos conOB-sinRA y sinOB-sinRA, por lo tanto, la oclusión de un bronquio y la alimentación *ad libitum* se pueden utilizar como modelo para el estudio de ascitis.

CONCLUSIONES

La restricción alimenticia reduce la mortalidad por ascitis. Los pollos sin oclusión de un bronquio con restricción alimenticia tuvieron la mayor actividad antioxidante en el corazón, pulmones e hígado. La oclusión de un bronquio primario es un método efectivo para desarrollar ascitis en pollos de engorda criados a 2 278 m de altitud, la alimentación *ad libitum* es un factor que impulsa el desarrollo de ascitis. Los pollos con oclusión de un bronquio sin restricción alimenticia tuvieron la mayor mortalidad por ascitis y la mayor oxidación lipídica en el hígado y pulmón, estos resultados apoyan que la ascitis está relacionada con el estrés oxidativo.

AGRADECIMIENTOS

El autor Rodríguez-Ortega L. T. expresa su agradecimiento al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por la beca otorgada para realizar estudios de doctorado, al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo.

CONFLICTO DE INTERÉS

Todos los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

LITERATURA CITADA

Abdulazeez ET (2023) Ascites in broiler: Updates. Journal of Applied Veterinary Sciences 8(2): 23-29. https://doi.org/10.21608/javs.2023.175426.1195





- Aftab U, Khan AA (2005) Strategies to alleviate the incidence of ascites in broilers: a review. Brazilian Journal of Poultry Science 7(4): 199-204. https://doi.org/10.1590/S1516-635X2005000400001
- Balog JM, Anthony NB, Cooper MA, Kidd BD, Huff GR, Huff WE, Rath NC (2000) Ascites syndrome and related pathologies in feed restricted broilers raised in a hypobaric chamber. Poultry Science 79(3): 318-323.
- Balog JM (2003) Ascites syndrome (Pulmonary Hypertension Syndrome) in broiler chickens: ¿Are we seeing the light at the end of the tunnel? Avian and Poultry Biology Reviews 14(3): 99 -126.
- Belik J, Stevens D, Pan J, McIntyre BAS, Kantores C, Ivanovska J, Xu EZ, Ibrahim C, Panama BK, Backx PH, McNamara PJ, Jankov RP (2010) Pulmonary vascular and cardiac effects of peroxynitrite decomposition in newborn rats. Free Radical Biology and Medicine 49(8): 1306-1314.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie 28: 25-30.
- Bottje WG, Carstens GE (2008) Association of mitochondrial function and feed efficiency in poultry and livestock species. Journal Animal Science 87: E48-E63. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1379
- Bouge J, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymology 52: 302-310. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6
- Cawthon D, Beers K, Bottje WG (2001) Electron transport chain defect and inefficient respiration may underlie pulmonary hypertension syndrome (ascites)-associated mitochondrial dysfunction in broilers. Poultry Science 80(4): 474-484. https://doi.org/10.1093/ps/80.4.474
- Chirino IY, Orozco-Ibarra M, Pedraza-Chaverri J (2006) Evidencias de la participación del peroxinitrito en diversas enfermedades. Revista de Investigación Clínica 58(4): 350-358.
- Cristancho GW (2012) Fisiología respiratoria. 3a. Edición. Editorial Manual Moderno. México. 242p.
- Gutiérrez-Torres JA, Pinto-Ruiz R, Crosby-Galván MM, Pérez-Olvera MA, Hernández-Sánchez D (2023) Marco regulatorio de la carne de bovino en México: normativa para un estándar de certificación de calidad e inocuidad. Nacameh 17(2): 85-100.
- Hassanzadeh M, Gilanpour H, Charkhkar S, Buyse J, Decuypere E (2005) Anatomical parameters of cardiopulmonary system in three different lines of chickens: further evidence for involvement in ascites syndrome. Avian Pathology 34(3): 188-193. http://dx.doi.org/10.1080/03079450500096372
- Kalmar ID, Vanrompay M, Janssens GPJ (2013) Broiler ascites syndrome: Collateral damage from efficient feed to meat conversion. Veterinary Journal197(2): 169-174. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.03.011
- Lemeshko VV (2018) El papel de la membrana mitocondrial externa en el control del metabolismo energético celular. Revista de la academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 42(162): 6-21. https://doi.org/10.18257/raccefyn.549
- Luger D, Shinder D, Wolfenson D, Yahav S (2003) Erythropoiesis regulation during the development of ascites syndrome in broilers chickens. Journal Animal Science 81(3): 784-790. https://doi.org/10.2527/2003.813784x
- Noori S (2012) An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. Open Access Scientific Reports 1(8): 1-9. http://dx.doi.org/10.4172/scientificreports.413
- Oka M, Hirouchi M, Itoh Y, Ukai Y (2000) Involvement of peroxynitrite and hydroxyradical generated from nitric oxide in hypoxia/reoxygenation injury in rat cerebrocortical. Neuropharmacology 39: 1319-1330. https://doi.org/10.1016/s0028-3908(99)00197-5
- Oliver JMR, González GAE (2009) Síndrome hipoxémico crónico. Revista Española de Cardiología 9: 13E-22E. https://doi.org/10.1016/S1131-3587(09)73293-5
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L (2007) Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. Physiological Reviews January 87(1): 315-424. https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2006
- Paddenberg R, Ishaq B, Goldenberg A, Faulhammer P, Rose F, Weissmann N, Braun-Dullaew RC, Kummer W (2003) Essential role of complex II of the respiratory chain in hypoxia-induced ROS generation in





- the pulmonary vasculature. American Journal Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology 284: L710–L719. https://doi.org/10.1152/ajplung.00149.2002
- Pan J-Q, Li J-C, Tan X, Sun W-D, Wang J-Y, Wang X-L (2007) The injury effect of oxygen free radicals in vitro on cultured pulmonary artery endothelial cells from broilers. Research in Veterinary Science 82: 382-387. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.08.001
- Pan, JQ, Tan X, Li JC, Sun WD, Wang XL (2005) Effects of early feed restriction and cold temperature on lipid peroxidation, pulmonary vascular remodelling and ascites morbidity in broilers under normal and cold temperature. British Poultry Science 46(3): 374-381. https://doi.org/10.1080/00071660500098152
- Poyton RO, Ball KA, Castellano RP (2009) Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. Trends in Endocrinology and Metabolism 20(7): 332-340. https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.04.001
- Rodríguez-Ortega LT, Juárez-Juárez G, Pro-Martínez A, Sosa-Montes E, Bautista-Ortega J, González-Cerón F, Vargas-Galicia AJ, Chan-Díaz D, Moreno-Medina D, Gallegos-Sánchez J, Rodríguez-Ortega A (2017) Lipid peroxidation in the plasma, lungs, heart and liver of broilers fed a grape seed extract and raised at 2278 m of Altitude. Brazilian Journal of Poultry Science 19(3): 465-470. http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0408
- SAS (2006) Language guide for personal computers. Release. 9th ed. Cary: SAS Institute. 1028p.
- Schumacker TP (2011) Lung cell hypoxia. Role of mitocondrial reactive oxigen species signaling in triggering responses. Proceedings of the American Thoracic Society: 8(6): 477-484.
- SENASICA (2015) NOM-033-ZOO-1995. Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres. Norma Oficial Mexicana. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Diario Oficial de la Federación. México. Fecha de publicación: 16 de junio de 1996, fecha de la última modificación: 26 de agosto de 2015.
- SENASICA (2001) NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Norma Oficial Mexicana. Ciudad de México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Diario Oficial de la Federación. México. Fecha de publicación: 06 de diciembre de 1999, fecha de la última modificación: 22 de agosto de 2001.
- Tirzitis G, Bartoz G (2010) Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. Acta biochimica polonica 57(1915): 1-4.
- Turrens JF (2003) Mitochondrial formation of reactive oxygen species. Journal of Physiology 552: 335–344.
- Vázquez GJC, Pérez PR (2000) Valores gasométricos estimados para las principales poblaciones y sitios a mayor altitud en México. Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias México 13(1): 6-13.
- Villafuerte FC, Simonson T, Bermudes D, León-Velarde F (2022) Hight-altitude erythrocytosis of adaptive and maladaptive responses. Physiology 37: 175-186. https://doi.org/10.1152/physiol.00029.2021
- Wang Y, Guo Y, Ning D, Peng Y, Cai H, Tan J, Yang Y, Liu D (2012) Changes of hepatic biochemical parameters and proteomics in broilers with cold-induced ascites. Journal of Animal Science and Biotechnology 3(1/41): 1-9. https://doi.org/10.1186/2049-1891-3-41
- Wideman RF, Kirby YK, Tackett CD, Marson NE, Tressler CJ, McNew RW (1996) Independent and simultaneous unilateral occlusion of the pulmonary artery and extra-pulmonary primary bronchus in broilers. Poultry Science 75(11): 1417-1427. https://doi.org/10.3382/ps.0751417
- Wideman RF, Kirby YK, Owen RL, French H (1997) Chronic unilateral occlusion of an extrapulmonary primary bronchus induces pulmonary hypertension syndrome (ascites) in male and female broilers. Poultry Science 76: 400-404.
- Wideman RF (2001) Pathophysiology of heart/lung disorders: Pulmonary hypertension syndrome in broiler chickens. World's Poultry Science Journal 57: 289-301. https://doi.org/10.1079/WPS20010021

