

Estado oxidativo hepático y comportamiento productivo en pollos de engorda, alimentados con dos fuentes de selenio y niveles altos de vitaminas E y C

José Mauro Arrieta Acevedo*
Antonio Díaz Cruz**
Ernesto Ávila González*
Raquel Guinzberg Perrusquia***
Enrique Piña Garza***

Abstract

The effect of supplementing high doses of vitamins E, C, and two sources of selenium (selenomethionine and sodium selenite) in diets on broiler chicks' performance and liver oxidative injury were evaluated looking for a relationship between both events. Seven hundred and twenty one day old unsexed Arbor Acres broilers, housed in pens with wood shaving litter and standard equipment, were used in a completely randomized design and divided in three treatments: 1. conventional diet; 2. conventional diet plus 75 IU of vitamin E per kilogram and 400 ppm of vitamin C; and 3. diet as number 2, but including selenomethionine as a supplementary source of selenium. Results obtained for weight gain, feed consumption, feed conversion and mortality due to ascites were similar among treatments ($P > 0.05$). Hepatic levels of total glutathione (TG) showed a significant variation in relation to the age of the birds, and were not affected by the experimental diets. The hepatic lipid peroxidation (LP) was reduced in the treatments with high vitamin E and C levels, regardless of the selenium source. An inverse relationship between TG and LP hepatic levels was found. It was not possible to find a correlation between the hepatic oxidative status nor regarding the broiler performance.

Key words: TOTAL GLUTATHIONE, LIVER LIPID PEROXIDATION, VITAMIN E, VITAMIN C, SELENOMETHIONINE, BROILER PERFORMANCE.

Resumen

Se evaluó la adición de dosis elevadas de vitaminas E y C, y dos fuentes de selenio (selenometionina y selenito de sodio) en la dieta, sobre el estado oxidativo hepático y los principales indicadores productivos comerciales en pollos de engorda, explorando una posible relación entre ambos fenómenos. Se utilizaron 720 pollos mixtos de un día de edad, alojados en una caseta de ambiente natural, con equipo estándar. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 3 tratamientos: 1. Dieta convencional, 2. dieta convencional con 75 UI de vitamina E/kg de alimento y 400 ppm de vitamina C suplementarias, 3. dieta semejante a la anterior, pero con selenometionina como fuente suplementaria de selenio a dosis convencional. No se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$) en ganancia de peso, conversión alimentaria, consumo de alimento, mortalidad general o mortalidad por síndrome ascítico, entre los diferentes tratamientos. Los niveles de glutatión total hepático (GT) no se modificaron significativamente ($P > 0.05$) entre tratamientos, pero sí en función del tiempo. La lipoperoxidación hepática (LP) disminuyó significativamente en las aves de los dos últimos tratamientos, respecto de las del primer tratamiento; paralelamente se encontró una relación inversa

Recibido el 12 de marzo de 1999 y aceptado el 3 de diciembre de 1999.

* Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Salvador Díaz Mirón s/n, 13209, México, D.F.

** Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

*** Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

entre los niveles de GT y de LP. Finalmente no se pudo establecer una relación entre el estado oxidativo hepático y el comportamiento productivo de las aves.

Palabras clave: GLUTATIÓN TOTAL, LIPOPEROXIDACIÓN HEPÁTICA, VITAMINA E, VITAMINA C, SELENOMETIONINA, POLLOS DE ENGORDA.

Introducción

En todos los organismos aerobios se presenta una producción constante de sustancias potencialmente oxidantes, denominadas genéricamente especies reactivas al oxígeno y especies reactivas al nitrógeno (ROS y RNS, por sus siglas en inglés, respectivamente), éstas son los subproductos normales del metabolismo del oxígeno y su efecto dañino es limitado por la presencia de diversos mecanismos antioxidantes que mantienen un equilibrio o balance oxidativo. Los antioxidantes pueden ser enzimáticos (catalasas, glutatión peroxidases, etc.) o no enzimáticos (vitaminas E y sC, glutatión, etc.).

Estas moléculas no actúan de manera independiente, más bien tienden a trabajar en cooperación y en forma de cascada;¹⁻³ por ejemplo, se ha descrito en la literatura que la vitamina C tiene un efecto de ahorro sobre la utilización del glutatión,^{4,5} y que este último y la vitamina E parecen ser interdependientes en su actividad para limitar la toxicidad celular inducida por agentes oxidantes.⁶

El balance oxidativo puede perderse en favor de las ROS y RNS, generando un estado conocido como estrés oxidativo.^{3,7,8} Los ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos, ácidos grasos y los carbohidratos son susceptibles al ataque de los citados agentes oxidantes; en este sentido la acción sobre los ácidos grasos insaturados de las membranas celulares y subcelulares, induce hacia el fenómeno denominado lipoperoxidación (LP). Aunque esta última ocurre naturalmente en los sistemas biológicos y es requerida para muchas funciones útiles; por ejemplo, la síntesis de prostaglandinas. Por otro lado, la producción excesiva de peróxidos lipídicos se ha relacionado con problemas inflamatorios, así como con el envejecimiento, problemas cardiovasculares y distintos trastornos degenerativos en general.^{1-3,7}

La LP genera una variedad de compuestos carbonílicos tóxicos como el malondialdehído, que se pueden determinar con cierta facilidad en el laboratorio debido a su capacidad para reaccionar con el ácido tiobarbitúrico. La cuantificación de estos compuestos TBARS (*thiobarbituric acid-reactive substances*) constituye la forma más común de evaluar el fenómeno de lipoperoxidación.^{8,9}

En pollos de engorda que padecen el síndrome de hipertensión pulmonar o síndrome ascítico (SA), que es una causa importante de pérdidas económicas en la avicultura mundial, se ha documentado la presencia de daños oxidativos o reducciones en la capacidad antioxidante.¹⁰⁻¹³ Por otro lado, se ha informado que las reservas antioxidantes en el pollo parecen tener relación con su comportamiento productivo.^{12,14} A pesar de esto último, no ha podido establecerse de manera clara una relación entre el balance oxidativo de los pollos y su eficiencia productiva.

Por otra parte, el hígado representa la glándula de mayor tamaño en el organismo y tiene un lugar central en el metabolismo de proteínas, grasas y carbohidratos, participa de manera importante en la inactivación de sustancias dañinas (es reconocido como el principal sitio para la síntesis de agentes antioxidantes, como el glutatión),⁴ el almacenamiento de vitaminas (regulación de los niveles de vitamina E), etc. De hecho los grandes avances en la selección genética (mayor velocidad de crecimiento y eficiencia alimentaria) debieron haber estado asociados con incrementos en la actividad metabólica hepática.¹⁵

Con estos antecedentes, se planteó el presente estudio para evaluar el efecto de la inclusión de una fuente de selenio de alta biodisponibilidad, así como de dosis importantes de vitaminas E y C en una dieta convencional para pollo de engorda; sobre el comportamiento productivo y el estado oxidativo hepático; explorando además una posible relación entre ambos fenómenos.

Material y métodos

El presente trabajo se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, que se localiza al sureste de la ciudad de México, en un área semirrural, a 2 250 msnm, paralelo 19° 15' latitud Oeste, bajo condiciones de clima templado subhúmedo; enero es el mes más frío y mayo el más caluroso, la temperatura media anual es de 16°C, con 747 mm de precipitación pluvial media anual.¹⁶

Para la realización de este trabajo se utilizaron 720 pollos mixtos, de un día de edad (Arbor Acres ' Arbor Acres). Las aves se alojaron en una caseta de ambiente

Cuadro 1

COMPOSICIÓN DE LAS DIETAS BASE USADAS EN EL ESTUDIO

Ingrediente	Iniciación	Finalización
Sorgo (9%)	535.10	565.60
Pasta de soya (44%)	344.00	303.20
Gluten de maíz (60%)	30.00	30.00
Aceite vegetal mixto	41.96	52.00
Carbonato de calcio	15.65	13.90
Ortofosfato de calcio	19.99	18.60
Premezcla*	13.30	16.70
Total de kilogramos	1000.00	1000.00
<hr/>		
Nutriamento	Análisis calculado	
Proteína cruda (%)	22.38	20.97
Energía metab. (Kcal/kg)	3,000	3,100
Lisina (%)	1.22	1.10
Metionina (%)	0.57	0.52
Met + cist (%)	0.93	0.85
Treonina (%)	0.80	0.74
Calcio total (%)	1.10	1.00
Fósforo asimilable (%)	0.50	0.47
Sodio (%)	0.18	0.18
Cloro (%)	0.21	0.21

*Incluye: sal común: 0.2%, NaHCO₃: 0.2% vitaminas y minerales traza para pollo: 0.35%, DL-metionina 99: 0.23 y 0.19%, L-lisina HCl 98: 0.1 y 0.09%, cloruro de colina 60: 0.1 y 0.08%, bacitracina de zinc: 0.05%, fungicida mold x: 0.05%, nicarbazina o lasalocid: 0.05 y 0.06%, yavelut amarillo: 0 y 0.4%, para iniciación y finalización, respectivamente.

natural; en pisos de cemento con cama de aserrín, con equipo convencional de iniciación y finalización. El experimento constó de 3 tratamientos, cada uno con 6 repeticiones de 40 pollos (240 aves por tratamiento). La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales (corral con 40 pollos) fue completamente aleatoria.

Los tratamientos consistieron en la utilización de diferentes niveles de vitaminas E, C y dos fuentes de selenio, en dietas de tipo práctico a base de sorgo y pasta de soya, considerando 2 etapas en el ciclo productivo del pollo: iniciación (0 a 21 días de edad) y finalización (22 a 49 días de edad), de acuerdo con las recomendaciones señaladas por Cuca *et al.*¹⁷ (Cuadros 1 y 2).

S llevó registro de la ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimentaria, mortalidad general y mortalidad por SA, durante el ciclo completo de las aves. Por otra parte, se hicieron determinaciones de

Cuadro 2
CARACTERÍSTICAS DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES
DE INICIACIÓN Y FINALIZACIÓN*

Dieta (tx)	Vitamina E	Vitamina C	Se con selenito de sodio	Se con selenometionina
1	30 UI/kg	—	0.1 ppm	—
2	105 UI/kg	400 ppm	0.1 ppm	—
3	105 UI/kg	400 ppm	—	0.1 ppm

*El resto de las vitaminas y minerales se incluyeron a niveles iguales en las tres dietas, de acuerdo a lo recomendado por Cuca *et al.*¹⁷

glutatión total (GT) con el método de Akerboom¹⁸ y de lipoperoxidación con el método descrito por Zentella *et al.*¹⁹ en hígados de 5 aves de cada tratamiento, los días 7, 14, 21, 28, 35 y 42 de edad. En el día 1 de edad se determinaron los niveles de GT en 5 hígados de pollo antes de ser asignados a cualquiera de los tratamientos; asimismo, se determinaron los TBARS en una mezcla de 5 hígados de aves de un día de edad.

A los datos de las variables en estudio, se les aplicó un análisis de varianza conforme al diseño empleado y cuando se encontraron diferencias significativas, se compararon las medias con la prueba de Tukey. Previo a su análisis estadístico, los porcentajes de mortalidad general y por SA fueron transformados a la forma raíz cuadrada arco seno.²⁰

Resultados

Variables productivas

Los resultados promedio obtenidos para las variables productivas en estudio de 1 a 49 días se encuentran en el Cuadro 3. Se puede observar que no existieron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) para ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimentaria, mortalidad general ni mortalidad por SA, entre los diferentes tratamientos.

Glutatión total hepático

En el Cuadro 4 se presentan las concentraciones de GT hepático (micromoles por g de peso húmedo) por tratamiento, independientemente de la semana; se puede apreciar que los tratamientos no tuvieron efecto significativo sobre esta variable, no obstante a mayor nivel de antioxidantes, existió una tendencia a la elevación en los niveles del tripeptido.

Los niveles de GT hepático por semana, independientemente del tratamiento, se presentan en el Cuadro

Cuadro 3
COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO EN POLLOS (1-49 DÍAS) ALIMENTADOS CON DOS FUENTES DE SELENIO
Y DISTINTOS NIVELES DE VITAMINAS E Y C

Parámetro	TX 1	TX 2	TX 3
Consumo de alimento (g)	4 228 \pm 91.70 ^a	4 170 \pm 214.40 ^a	4 157 \pm 155.80 ^a
Ganancia de peso (g)	2 224 \pm 74.60 ^a	2 218 \pm 140.70 ^a	2 311 \pm 67.70 ^a
Conversión alimentaria	1.900 \pm 0.09 ^a	1.880 \pm 0.13 ^a	1.81 \pm 0.10 ^a
Mortalidad por SA (%)	9.680 \pm 6.39 ^a	13.65 \pm 6.09 ^a	11.33 \pm 6.43 ^a
Mortalidad general (%)	14.30 \pm 7.79 ^a	19.75 \pm 4.06 ^a	18.53 \pm 4.86 ^a

* Valores promedio \pm el error estándar. ** Valores con la misma literal en el mismo renglón son iguales estadísticamente ($P > 0.05$).

Cuadro 4

GLUTATIÓN TOTAL HEPÁTICO (MICRÓMOLES/G DE TEJIDO HÚMEDO), EN POLLOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE ANTIOXIDANTES

Tratamiento	Glutatión total
1	2.125 \pm 0.38 ^a
2	2.272 \pm 0.48 ^a
3	2.290 \pm 0.43 ^a

*^aValores con la misma literal son iguales estadísticamente ($P > 0.05$).

Cuadro 5

GLUTATIÓN TOTAL HEPÁTICO (MICRÓMOLES/G DE TEJIDO HÚMEDO) EN POLLOS, DURANTE LAS PRIMERAS 6 SEMANAS DE VIDA

Semana	Glutatión total
0 (día 1)	0.792 \pm 0.16 ^c
1	2.473 \pm 0.32 ^a
2	2.245 \pm 0.21 ^a
3	2.243 \pm 0.39 ^a
4	1.594 \pm 0.16 ^b
5	2.190 \pm 0.40 ^a
6	2.450 \pm 0.33 ^a

*^{a,b,c}Valores con distintas literales son diferentes estadísticamente ($P < 0.01$).

dro 5, en éste se observa que en la semana 0 (día 1) se presentaron los niveles más bajos del tripéptido, seguidos por los de la semana 4 ($P < 0.01$); para el resto de las semanas analizadas, los niveles fueron estadísticamente iguales entre sí ($P > 0.01$).

Lipoperoxidación hepática

Las concentraciones de TBARS en hígado de pollo por efecto de los tratamientos, independientemente de la semana, se exhiben en el Cuadro 6; se puede observar que el tratamiento 2 (dieta con niveles elevados de vitaminas E y C, y selenito de sodio como fuente suplementaria de selenio) fue el más efectivo para reducir el grado de lipoperoxidación ($P < 0.05$), siendo su efecto estadísticamente igual al del tratamiento 3 (dieta similar a la 2, pero con selenometionina como fuente suplementaria de selenio) y diferente del tratamiento 1 (dieta con el nivel más bajo de antioxidantes).

En el Cuadro 7 se presentan los niveles de TBARS encontrados en hígados de pollo, durante las primeras 6 semanas de vida, independientemente del tratamiento, así como los niveles determinados el día 1 de edad. Se puede observar que la lipoperoxidación más elevada se presentó en la semana 4 ($P < 0.01$), seguida por la encontrada en el día uno de edad. El siguiente nivel más alto se encontró en la semana 6, siendo estadísticamente diferente respecto del nivel de la semana 2, en donde se obtuvo el nivel más bajo de TBARS. La lipoperoxidación en las semanas 1, 3 y 5 fue estadísticamente igual entre sí ($P > 0.01$).

Discusión

Variables productivas

La respuesta observada en consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimentaria y mortalidad, coincide con lo referido por González-Vega *et al.*²¹ quienes utilizaron niveles muy similares de esas vitaminas en dietas prácticas para pollo de engorda, aunque bajo condiciones diferentes. También Bartov y Frigg²² encontraron que niveles de vitamina E de 24,

Cuadro 6

TBARS EN HÍGADO (NANOMOLES/MG DE PROTEÍNA), EN POLLOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE ANTIOXIDANTES

Tratamiento	TBARS
1	0.181 ± 0.077 ^a
2	0.139 ± 0.043 ^b
3	0.166 ± 0.038 ^a

*a,b Valores con distintas literales son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$).

Cuadro 7

TBARS HEPÁTICOS (NANOMOLES/MG DE PROTEÍNA) EN POLLOS, DURANTE LAS PRIMERAS 6 SEMANAS DE VIDA

Semana	TBARS
(día 1)	0.204
1	0.135 ± 0.025 ^{bc}
2	0.123 ± 0.047 ^c
3	0.168 ± 0.067 ^{bc}
4	0.228 ± 0.065 ^a
5	0.143 ± 0.027 ^{bc}
6	0.172 ± 0.037 ^b

*a,b,c Valores con distintas literales son diferentes estadísticamente ($P < 0.01$).

100 y 150 UI/kg de alimento proporcionados en diferentes períodos, resultaron en parámetros productivos estadísticamente iguales en pollos de engorda bajo condiciones de ambiente controlado.

En relación con la suplementación elevada de vitamina E, Kennedy *et al.*²³ señalaron que no todas las parradas se benefician en igual magnitud por esta práctica, y que posiblemente cuando ocurren beneficios en la producción, son el resultado de mejoramiento en la actividad inmunocompetente y en la capacidad para resistir los efectos adversos de enfermedades subclínicas.

Por otro lado, aunque los pollos son capaces de sintetizar la vitamina C, existen evidencias de que en animales muy jóvenes o sometidos a diversos factores de estrés, esta capacidad de síntesis puede ser inadecuada; aunado a lo anterior, se ha señalado que la dosis efectiva de vitamina C se encuentra dentro de rangos relativamente estrechos y que las aves responden de modo diferente a la suplementación de esta vitamina, dependiendo del tipo de estrés al que se les someta.^{24,25}

En cuanto al selenio, el empleo de una fuente altamente biodisponible parece relacionarse con mejoramiento en la calidad del emplume, lo que representaría ventajas en época de frío, o bien mejores condiciones en el procesamiento del ave en el rastro.

En el presente trabajo los indicadores productivos más importantes no se vieron afectados por la fuente de selenio utilizada, coincidiendo con algunos estudios que refieren una relación muy irregular entre el nivel de absorción del selenio, la actividad de las enzimas selenio-dependientes y el desempeño productivo de las aves.^{26,27}

Respecto del SA, las observaciones en el presente estudio coinciden con lo referido por López *et al.*,²⁸ pues el nivel de vitaminas E y C, así como el uso de selenometionina, no causaron disminución en la mortalidad provocada por dicho síndrome,²⁸ a diferencia de lo señalado por Bottje *et al.*,¹³ quienes señalaron una relación importante entre el nivel de antioxidantes dietarios (particularmente vitamina E) y la reducción en la presentación del SA, bajo condiciones de laboratorio.

Indicadores bioquímicos del estado oxidativo glutatión total

Se considera que para la síntesis del glutatión, la cisteína (aminoácido azufrado) es el sustrato limitante y que las vitaminas C y E tienen un efecto de ahorro sobre su utilización, además el estatus del tripeptido está sujeto a regulaciones hormonales;^{4,5,18,29} en el presente estudio, se estima que el nivel de aminoácidos azufrados fue igual en todos los tratamientos, por lo que tal nutrimento no afectó las determinaciones de GT. Por otro lado, aunque las aves que consumieron las dietas con una suplementación mayor de vitaminas E y C (T x 2 y T x 3) mostraron un nivel superior de GT, este efecto no fue estadísticamente significativo. Los resultados difieren de las observaciones realizadas por Bottje *et al.*,¹³ quienes refieren un efecto importante de la vitamina E para incrementar los niveles de glutatión reducido (GSH) en pollos de engorda clínicamente sanos, alojados bajo condiciones de ventilación deficiente en el laboratorio.

Con relación al GT hepático por semana sin considerar el tratamiento, destacan las concentraciones relativamente bajas encontradas en el día 1 de vida, así como el notable incremento ocurrido en la primera semana, situación que denota una capacidad muy temprana para la síntesis de tripeptido, por parte del pollito. Asimismo, destaca que este nivel de GT se mantuviera durante el resto del periodo de estudio, con excepción de la cuarta semana en donde existió una disminución significativa de este indicador. Este comportamiento difiere notablemente del referido por Enkvetchakul y Bottje,¹⁴ quienes en pollos de

engorda encontraron que los niveles de GSH se incrementaban con la edad, siendo progresivamente mayores en las semanas 3, 5 y 7 de vida. Para estos investigadores, la tendencia encontrada en los niveles hepáticos de GSH en pollos, les sugirió que a mayor edad se reduce el gasto de GSH para el crecimiento de las plumas y el músculo esquelético, ya que se supone que el tripéptido funciona como una reserva de cisteína para las funciones citadas. Se supone que parte de la explicación para esta divergencia de resultados, se debe a las diferentes condiciones en que fueron explotados los animales.³⁰

Lipoperoxidación hepática

La reducción significativa del daño lipoperoxidativo hepático por efecto de niveles altos de vitaminas E y C, coincide con lo descrito en la literatura para el caso de gallinas³¹ y pollos,³² bajo modelos experimentales diferentes al utilizado en este estudio.

En relación con los niveles de TBARS por semana sin considerar los tratamientos, resultó notable que los niveles más elevados mostraron cierta correspondencia con los niveles más bajos de GT (día 1 y semana 4), confirmando la presencia de mayor daño oxidativo en esos momentos.

El daño oxidativo evidenciado en el primer día de vida de los pollos seguramente resultó de la conjunción de varios factores de estrés durante el nacimiento, el transporte y la recepción de las aves en la granja.^{30,33} Por otra parte, la reducción de este fenómeno hacia la primera semana de vida, sugiere que las aves jóvenes tienen la capacidad para absorber (vitamina E y selenio) o en su caso sintetizar una buena cantidad de antioxidantes (GT) a partir de los sustratos dietarios.

Respecto del aumento en el daño oxidativo encontrado en la cuarta semana (- TBARS, - GT), posiblemente sea reflejo de situaciones tales como el cambio de dieta, suprimir el uso de criadoras y realización de pesaje de las aves, entre otras. En todo caso, este efecto fue transitorio, y no tuvo relación con el comportamiento productivo de las aves.

Bajo las condiciones de este estudio, no se encontró efecto de una fuente suplementaria de selenio altamente disponible, ni de niveles altos de vitaminas C y E, sobre los indicadores productivos comerciales más importantes en el pollo de engorda. Por otra parte, existió una tendencia a reducir el daño oxidativo hepático con la inclusión de niveles altos de vitaminas C y E, pero no fue posible correlacionar el estado oxidativo hepático con el desempeño de los animales.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo económico otorgado por el Conacyt (proyecto 26257B) para la realización del

presente trabajo, así como a los laboratorios Syntex-Roche y a la compañía Alltech de México, por la donación de las vitaminas y la selenometionina utilizada en este estudio, respectivamente.

Referencias

1. Aruoma OI. Free radicals and antioxidant strategies in sport. *J Nutr Biochem* 1994;5:370-381.
2. Wiseman H. Dietary influences on membrane function: importance in protection against oxidative damage and disease. *J Nutr Biochem* 1996;7:2-15.
3. Halliwell R. Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev Nutr* 1996;16:1-36.
4. Sen ChK. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. *J Nutr Biochem* 1997;8:660-672.
5. Anderson EM. Glutathione and glutathione delivery compounds. In: Sies H, editor. *Advances in pharmacology*. Vol 38. San Diego (Ca): Academic Press, 1997:65-78.
6. Winkler SB, Orselli MS, Rex ST. The redox couple between glutathione and ascorbic acid: a chemical and physiological perspective. *Free Radic Biol Med* 1994;17:333-349.
7. Jayachandran M, Jayanthi B, Sundaravadivel B, Panneerselvam C. Status of lipids, lipid peroxidation, and antioxidant systems with vitamin C supplementation during aging in rats. *J Nutr Biochem* 1996;7:270-275.
8. Zentella PM, Corona GS, Saldaña BY, Piña GE. Toxicidad del oxígeno: papel de los radicales libres en la peroxidación de los lípidos. *Boletín de Educación de Bioquímica*. México (DF): Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, 1994;13:87-93.
9. Chen JJ, Bertrand H, Byung PY. Inhibition of adenine nucleotide translocator by lipid peroxidation products. *Free Radic Biol Med* 1995;19:583-590.
10. Diaz CA, Nava C, Villanueva R, Serret GM, Guinzberg PR, Piña GE. Hepatic and cardiac oxidative stress and other metabolic changes in broilers with the ascites syndrome. *Poultry Sci* 1996;75:900-903.
11. Lozada CA. Efecto del piroxicam sobre el grado de lipoperoxidación en hígados de pollos con síndrome ascítico y su relación con el comportamiento productivo (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1995.
12. Enkvetchakul B, Bottje GW, Anthony N, Moore WR, Huff W. Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. *Poultry Sci* 1993;72:2272-2280.
13. Bottje GW, Enkvetchakul B, Moore WR, McNew R. Effect of α -tocopherol on antioxidants, lipid peroxidation, and the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers. *Poultry Sci* 1995;74:1356-1369.
14. Enkvetchakul B, Bottje GW. Influence of diethyl maleate and cysteine on tissue glutathione and growth in broiler chickens. *Poultry Sci* 1995;74:864-873.
15. McCormick ChC. Symposium: liver metabolism in the chicken (Introduction). *Poultry Sci* 1990;69:1182.
16. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 2a ed. México (DF): Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, 1973.
17. Cuca GM, Ávila GE, Pró MA. *Alimentación de las aves*. 8a ed. Chapingo, Edo. de México: Universidad Autónoma de Chapingo, 1996.

18. Akerboom TPM, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Met Enzymol* 1981;77:372-382.
19. Zentella PM, Hernandez A, Saldaña BY, Piña GE. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs lower ethanol mediate liver increase in lipids and thiobarbituric acid reactive substances. *Alcoholism J Clin Exp Res* 1993;17: 1228-1232.
20. Gill JL. Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences. Vol 1. Ames (Ia): The Iowa State University Press, 1978.
21. González-Vega AD, Arce MJ, Ávila GE, Morilla GA, Cortez CR. Efecto de la suplementación de las vitaminas C y E en la dieta del pollo de engorda sobre los parámetros productivos y la respuesta inmune. *Vet Méx* 1995;26: 333-340.
22. Bartov Y, Frigg M. Effect of high concentrations of dietary vitamin E during various age periods on performance, plasma vitamin E and meat stability of broiler chicks at 7 weeks of age. *Br Poultry Sci* 1992;33:393-402.
23. Kennedy DG, Rice DA, Bruce DW, Goodall EA, Mc Ilroy SG. Economic effects of increased vitamin E supplementation of broiler diets on commercial broiler production. *Br Poultry Sci* 1992;33:1015-1023.
24. Krautman BA, Gwyther MJ, Peterson LA. Practical applications of ascorbic acid for poultry. Proceedings of the 2nd Symposium of Ascorbic Acid in Domestic Animals; 1990 October 9-12; Kartouze-Ittingen, Switzerland. Kartouze-Ittingen, Switzerland: Hoffmann-La Roche, Inc., 1990:292-313.
25. Gross WB. Effects of ascorbic acid on stress and disease in chickens. *Avian Dis* 1992;36:688-692.
26. Cantor AH, Moorhead PD, Musser MA. Comparative effects of sodium selenite and selenomethionine upon nutritional muscular dystrophy, selenium-dependent glutathione peroxidase, and tissue selenium concentrations of turkey pouls. *Poultry Sci* 1982;61:478-484.
27. Shan AS, Davis RH. Effect of dietary phytate on growth and selenium status of chicks fed selenite or selenomethionine. *Br Poultry Sci* 1994;35:725-741.
28. López CC, Arce MJ, Ávila GE, Hargis B. Manual del productor para el control del síndrome ascítico III. México (DF): US Feed Grains Council, 1994.
29. White CA, Thannickal JV, Fanburg LB. Glutathione deficiency in human disease. *J Nutr Biochem* 1994;5:218-226.
30. Coelho MB, McNaughton JL. Effect of composite vitamin supplementation on broilers. *J Appl Poultry Res* 1995;4:219-229.
31. Wu J, Squires J. The effect of dietary corn oil, vitamin E, and selenium on lipid peroxidation and hemorrhage in chicken liver. *J Nutr Biochem* 1997;8:629-633.
32. Pellet JL, Andersen JH, Chen H, Tappel LA. β -carotene alters vitamin E protection against heme protein oxidation and lipid peroxidation in chicken liver slices. *J Nutr Biochem* 1994;5:479-484.
33. Suárez OME. Factores determinantes de la calidad del pollito. Memorias del XII Ciclo de Conferencias Internacionales sobre Avicultura; 1996 junio 11; Guadalajara, Jalisco. Guadalajara (Jalisco): Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal A.C., 1996:7-13.