

Respuesta a una maniobra inductora de estrés y al tratamiento con un producto hepatoprotector en pollos de engorde*

Juan Carlos Terraes**
Gladis Lilia Sandoval***
Ricardo Juan Fernández**
Fernando Augusto Revidatti**

Abstract

Stress impact produced in fattening chicken is assessed in this study (400 broilers in total, 50% of each sex). Immobilization and inversion manoeuvre to induce changes compatible with the stress syndrome, and the effects of the continuous hepatic protection (HP) using a product with the following effects: lipotropic, choleric-cholagogic, hypocholesteremizing and hypotriglyceremizing and hepatic regeneration enhancing were studied. A factorial experimental model in blocks (four lots) to two roads was used. Four groups (1 = with stress and HP, 2 = with HP, 3 = with stress, 4 = control) were formed. Dependent variables registered during 45 days of the cycle were: body weight, daily gain of weight, feed intake, conversion ratio, absolute weight of the liver, weight of the corrected liver, glucose, triglycerides, total protein, albumins, and globulins. Comparing Group 3 with the Control one, liver weight was 28.02 and 26.68 g, respectively. Body weight presented an opposite relation (2 266 and 2 438 g, $P < 0.01$). These findings coincide with those of other authors who highlight similar behavior of these variables. Birds of Group 1 presented body weight, daily gain of weight and triglycerides significantly superior to Group 3, and their weight of the corrected liver went significantly smaller to that of the other groups. The behavior of these last two variables could constitute indications to corroborate that the lipotropic action can be attributed to the used product.

Key words: PHYSICAL STRESS, LIVER, BROILER CHICKENS.

Resumen

Se evalúa aquí el impacto que ejercen en pollos de engorde (400 aves de raza Broiler, 50% de cada sexo): a) una maniobra de inmovilización y volteo para inducir cambios compatibles con el síndrome de estrés, y b) los efectos de la hepatoprotección continua (HP) con un producto con acciones: Lipotrópica, colerético-colagoga, hipocolesteremiante e hipotrigliceremiante y favorecedora de la regeneración hepática. Se utilizó un modelo experimental factorial en bloques (cuatro lotes) a dos vías. Se asignaron al azar a cuatro grupos experimentales, cuatro tratamientos (tratamiento 1, con estrés y HP; tratamiento 2, con HP; tratamiento 3, con estrés, y tratamiento 4, testigo). Las variables dependientes registradas a los 45 días del ciclo fueron: Peso vivo corporal (PC), ganancia diaria de peso (GD), consumo de alimento, conversión alimentaria, peso absoluto del hígado, peso del hígado corregido (HC), glucosa, triglicéridos (TG), proteínas totales, albúminas y globulinas. Al comparar el grupo 3 con el grupo testigo, HC fue 28.02 y 26.68 g, respectivamente. El PC tuvo una relación inversa (2 266 y 2 438 g, $P < 0.01$). Estos hallazgos coinciden con los de otros autores, quienes destacan comportamiento similar de estas variables. Las aves del grupo 1 presentaron PC, GD y TG circulantes significativamente superiores al grupo 3 y su HC fue significativamente menor al de los otros grupos. El comportamiento de estas dos últimas variables (HC y TG) podría constituir indicios que corroboren la acción lipotrópica atribuida al producto utilizado.

Palabras clave: ESTRÉS FÍSICO, HÍGADO, POLLOS DE ENGORDE.

Recibido el 17 de enero de 2001 y aceptado el 22 de junio de 2001.

* Trabajo subsidiado por la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste (PI 554), efectuado por docentes de las cátedras de Granja y Química Biológica de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Sargento Cabral 2139, C.P. 3400, Corrientes, Argentina, telefax 54-0783-25753, E-mail: granja@vet.unne.edu.ar o bloquim@vet.unne.edu.ar

** Cátedra Granja, Departamento Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Sargento Cabral 2139, C.P. 3400, Corrientes, Argentina.

*** Cátedra de Química Biológica, Departamento Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

Introducción

La exteriorización del estado de estrés en todos los animales se produce por ajustes en la fisiología o el comportamiento, como respuesta a factores externos e internos.¹ Con mucha frecuencia la homeostasis tiende a alterarse manifestándose cambios hematológicos,^{2,3} metabólicos, hormonales^{4,5} y productivos. En *Gallus domesticus* sometidos a estrés mediante calor y deshidratación, se ha notificado elevación de la retención de hormonas tiroideas y de la temperatura corporal.⁶ En experimentos con pollos se evidenció qué estímulos variados (corte de pico, coccidiosis, choques eléctricos y calor) con excepción del ruido, provocaron estrés con disminución en la ganancia de peso, menor consumo de alimento y peor conversión alimentaria.⁷ El mal manejo de los pollitos al inicio del ciclo constituye una forma de estrés, que repercute de manera negativa en las ganancias.⁸ Las aves de alto nivel de productividad son más susceptibles a las condiciones de estrés.⁹

Bajo nivel de productividad, presencia de enfermedad clínica o subclínica o muerte¹⁰⁻¹² indican fracaso en el intento por proveer y mantener las condiciones ideales del ambiente externo¹³ y del medio interno de las aves.⁸

Durante la reacción de alarma, en las aves se liberan adrenalina, noradrenalina, corticosterona y un factor de liberación de ACTH.^{1,14,15} Los glucocorticoides constituyen sustancias que aceleran la degradación proteínica de músculos, tejidos linfoides y conjuntivo e inhiben la captación de aminoácidos, así como la síntesis de proteínas en tejidos extrahepáticos; de este modo los depósitos de proteína corporales pueden ser seriamente reducidos.¹⁶ En el hígado, los corticoides aumentan el metabolismo del glucógeno y la gluconeogénesis por mayor actividad de las desaminasas y aminotransferasas a expensas de aminoácidos.¹⁷ La hiperglucemia consecuente con dicha gluconeogénesis no incrementa la utilización de glucosa por los tejidos periféricos.¹⁷ El glucagón representa una hormona relacionada con estados de estrés en aves (mayor producción pancreática), siendo responsable de la activación del eje hipotálamo-hipofisoadrenocortical.¹⁸ Las elevaciones de glucagón disminuyen los aminoácidos disponibles y su déficit los aumenta.¹⁸

El síndrome del hígado y riñón grasos son dos desarreglos metabólicos de gran importancia comercial en avicultura, caracterizados por la presentación de depósitos grasos. Afecta principalmente a las aves jóvenes, comprometiendo la gluconeogénesis hepática.^{19,20} Cuando la lipogénesis hepática no puede eliminar los triglicéridos en forma de lipoproteínas, éstos se acumulan causando esteatosis.²¹⁻²³

* BEDGEN-40 Premix[®]. Producto proporcionado por el Laboratorio Bedson, S.A., Argentina.

La medición sistemática de los niveles de estrés es requisito indispensable para evaluar objetivamente sus efectos en la productividad de las aves.^{18,24} Al obtener una medida de los cambios ocurridos en el animal ante determinadas situaciones de estrés (combinaciones de temperatura y humedad para el alojamiento de las aves), es posible predecir el manejo de los factores de confort que conduzca a un mínimo estrés. Mitchell et al.²⁵ comprobaron que la magnitud del estrés que sufren los pollitos durante el viaje se puede evaluar por medio de los cambios de peso corporal, sodio, ácidos grasos no esterificados y triglicéridos en el plasma y que éstos varían en forma proporcional a los cambios de la temperatura interna del cuerpo. Por lo tanto, se pueden determinar las condiciones óptimas de transporte a partir de las respuestas fisiológicas de las aves.

En el presente trabajo se empleó un método de sujeción, inmovilización y volteo de las aves, semejante a otros,^{26,27} practicado en forma periódica durante el ciclo productivo, con el propósito de inducir modificaciones compatibles con una reacción de adaptación crónica a dicho estímulo y estudiar su impacto sobre la productividad, los cambios bioquímicos relacionados con el perfil hepático que propicia, así como los efectos de un tratamiento de hepatoprotección continua.

Material y métodos

A grupos de 100 pollos (400 en total, 50% de cada sexo), individualizados por anillado en las patas, se les asignaron los tratamientos que se detallan posteriormente para analizar el impacto que ejercen:

a) Una maniobra de inmovilización y volteo. La inmovilización se logró con la captura e introducción de las aves en una jaula en condiciones de hacinamiento, manteniéndolas durante 15 minutos. Luego las jaulas se invirtieron dos veces en forma manual. Estas operaciones, semejantes a las empleadas por otros autores^{26,27} para inducir cambios compatibles con el síndrome de estrés, fueron repetidas día por medio hasta el final del ciclo de producción (día 45).

b) Los efectos de hepatoprotección continua (HP) de un suplemento comercial hepatoprotector* cuya composición es: Cloruro de colina, 30 g; extracto seco de cynara, 15 g; fracción antitóxica de hígado de cerdo, 2 g; y carbonato de calcio, c.s.p. 100 g. Con la cantidad adecuada del producto para una dosis de 5 g cada 10 kg de alimento final, se preparó una premezcla con 10 kg de balanceado que se distribuyó en el total de lo consumido por los grupos tratados. El suplemento fue suministrado durante todo el ciclo de producción.

A este producto comercial se le adjudica una combinación de acciones: Lipotrópica (cloruro de colina),^{28,29} colerético-colagoga, hipocolesteremiante e hipotrigli-

Componentes	Terminador	Iniciador	Crecimiento
Proteínas (%)	21.98	20.98	18.51
Energía metabolizable (kcal)	2 951	2 953	2 999
TND (%)	72.78	71.38	69.82
Grasa (%)	5.36	4.52	4.31
Fibra (%)	3.15	3.16	3.45
Calcio (%)	1.00	1.00	0.95
Fósforo total (%)	0.75	0.69	0.71
Fósforo disponible (%)	0.50	0.45	0.45

ceremiante,^{30,31} así como un conjunto de sustancias (aminoácidos, núcleo-derivados, coenzimas y vitaminas del grupo B como tiamina, riboflavina y cianocobalamina) contenidas en el extracto de hígado de cerdo que favorecerían la regeneración del tejido hepático.²⁸

Todas las aves fueron alojadas en un galpón semiabierto con producción a piso y cama de cáscara de arroz. Las características del alimento balanceado utilizado en el ensayo se aprecian en el Cuadro 1.

Las variables dependientes registradas al momento del sacrificio (yugulación sin insensibilización, a los 45 días) incluyeron peso vivo corporal (PC), ganancia diaria de peso (GD = PC/45 días), consumo de alimento acumulado (CON), conversión alimentaria (CA = CON/PC), peso absoluto del hígado (PH), peso del hígado corregido (HC), según la siguiente ecuación aplicada a los valores de cada grupo (ver resultados): $HC \text{ en g} = PH \text{ en g} - (R^2 \text{ en } \% \times PH/100)$; como surge de la fórmula, esta última variable explica el cambio de peso hepático no dependiente del peso corporal. Los correspondientes PC y PH se obtuvieron con balanza electrónica digital.

Por métodos espectrométricos automatizados se cuantificaron glucosa (Glc, enzimático[®]), triglicéridos (TG, GPO/PAP[®]), proteínas totales (PT, Biuret[®]), albúminas (Alb, BSF[®]) y globulinas (Glob, por diferencia) en el suero sanguíneo.

PC, PH, HC y las variables bioquímicas se registraron en forma individual a diez animales tomados al azar de los 25 que conformaban cada grupo, mientras que los datos de GD, CON y CA se obtuvieron en promedio por grupo en cada lote.

[®] Nombres registrados para las técnicas de triglicéridos de Laboratorio Boehringer y glucosa, proteínas totales y albúminas (Proti 2) de Laboratorio Wiener, S.A., de Argentina.

Tratamiento estadístico de los resultados

Con un modelo experimental factorial en bloques (cuatro lotes) a dos vías,³² combinando dos niveles de ambos factores, se asignaron al azar a cuatro grupos experimentales (100 pollos por grupo), cuatro tratamientos (tratamiento 1, con estrés y HP; tratamiento 2, con HP; tratamiento 3, con estrés; y tratamiento 4, testigo).

Debido a la imposibilidad de la crianza simultánea de todos los animales se trabajó con distintos lotes, por lo cual se consideró a éstos como bloques en el análisis estadístico. Asimismo y dada la fuerte injerencia que tiene el sexo sobre las variables analizadas, este factor fue incorporado como otra fuente de variación en el modelo de análisis estadístico.

Los datos fueron procesados con software Statistix para windows. Se aplicó análisis de la varianza (ANOVA) en bloques al azar.³² Se evaluaron las diferencias en las variables dependientes analizadas entre tratamientos y las relaciones (correlación de Pearson) entre ellas, considerando límite un nivel de significancia del 5%. El análisis post-ANOVA se efectuó por medio contrastes ortogonales.³²

Resultados

Las variables de producción (PC, GD, CON, CA) y el peso absoluto (PH) y corregido del hígado (HC) para cada grupo se exponen en el Cuadro 2.

En el grupo 3, PC y GD fueron significativamente menores ($P < 0.05$) que en el grupo 1 y testigos. El mayor CON fue hallado en las aves del grupo 3 y del testigo, en tanto, la peor CA correspondió al grupo 3.

Debido a la significativa correlación positiva ($P < 0.001$) hallada entre PH y PC, el primero sólo fue considerado para expresar dicha relación; esa influencia fue variable según los grupos (1 = 73%; 2 = 34%; 3 = 44%; y 4 = 52% del peso del hígado explicado por el PC); así, mientras PH del grupo testigo fue mayor que el de los otros grupos ($P < 0.05$), al considerar HC las aves del grupo 3 y testigo presentaron valores superiores al grupo 1 ($P < 0.05$) e inferiores al grupo 2 ($P < 0.05$).

En el Cuadro 3 se presentan los promedios y desvío estándar (DE) de las variables bioquímicas analizadas. No se detectaron diferencias significativas para los distintos tratamientos en las tasas séricas de Glc, PT, Alb y Glob. El grupo 1 presentó valores superiores de TG respecto de los demás grupos ($P < 0.05$).

Del análisis de las correlaciones entre variables (sin discriminar por tratamientos) se desprende que las aves más pesadas presentaron mayor peso del hígado ($R = 0.68$, $P < 0.0001$) y mayores concentraciones de TG ($R = 0.26$, $P < 0.001$) y Glc ($R = 0.21$, $P < 0.0001$) circulantes. El HC correlacionó positivamente con Glc

(R = 0.20, P < 0.05) y TG (R = 0.44, P < 0.0001) y negativamente con PT (R = -0.25, P < 0.01), Alb (R = -0.32, P < 0.0001) y Glob (R = -0.22, P < 0.001). Además, hubo relación positiva de Glc con TG (R = 0.44, P < 0.0001) y negativa de ella con las Glob (R = -0.21, P < 0.01); se registraron correlaciones positivas (P < 0.0001) entre las PT y sus fracciones (R = 0.86 con Alb, R = 0.98 con Glob), y negativas de los TG séricos con todas las proteínas, con mayor significancia para las Alb (R = -0.42, P < 0.0001).

Discusión

Comparando las aves del grupo 3 y los testigos se obtuvieron valores muy diferentes de PC, GD y CA en favor de estos últimos. Estos resultados coinciden con aquellos obtenidos en trabajos anteriores³³ y responderían al mecanismo descrito para el estrés físico,²⁷ que permite la supervivencia de las aves con el sacrificio de su nivel productivo.^{10,12} Puvadolpirod y Thaxton²⁴ hallaron pérdidas de peso corporal del orden de 4% en aves inoculadas con ACTH en forma continua, que alcanzaron 20% al cabo de una semana de concluido el tratamiento; la ganancia de peso cayó a 30% en el inicio, llegó a 80% en la mitad del periodo de estrés y

se mantuvo en 23% por debajo de los testigos una semana después del estrés. En la misma experiencia, otros parámetros fisiológicos regresaron a sus valores normales a una semana del estrés, excepto el peso vivo y limpio, ya que la pérdida de proteína del músculo esquelético requiere de un periodo prologando para su completo restablecimiento, en coincidencia con la recuperación del peso corporal.²⁴ La pérdida de peso puede atribuirse, además, a la inhibición de la síntesis de proteína.³⁶ La reducción del peso corporal inducida por administración de ACTH exógena tuvo una correlación negativa con la dosis empleada.²⁴

La significativa disminución en la CA del grupo 3 se produjo principalmente como consecuencia del bajo peso corporal alcanzado por las aves y no por el incremento en el consumo de alimento, ya que éste fue similar al del testigo. Otros autores observaron que en aves inoculadas con ACTH, el consumo de alimento se elevó durante los primeros días, registrándose posteriormente un descenso significativo del mismo al concluir el tratamiento.²⁴ La conversión alimentaria empeoró en las aves con estrés a lo largo de toda la experiencia.²⁴

Distintos estudios sugieren que durante el estrés el incremento en el consumo de alimento se acompaña

Cuadro 2
PROMEDIOS Y DE DE LAS VARIABLES DE PRODUCCIÓN Y PESO DEL HÍGADO (TOTAL Y CORREGIDO) AL SACRIFICIO

Variable/Grupo	1	2	3	4
Peso corporal (g)	2 346 ± 121.04 ^a	2 331 ± 181.22 ^{ab}	2 265 ± 139.91 ^b	2 438 ± 160.70 ^c
Consumo alimento (g)	4 354 ± 377.53 ^a	4 445 ± 499.68 ^{ab}	4 458 ± 476.45 ^{ab}	4 547.3 ± 514.38 ^b
Conversión alimentaria	1.80 ± 0.1042 ^{ab}	1.90 ± 0.1490 ^{abc}	1.96 ± 0.0983 ^c	1.86 ± 0.1608 ^b
Ganancia de peso (g/día)	52.14 ± 2.69 ^a	51.80 ± 4.02 ^{ac}	50.33 ± 3.11 ^c	54.16 ± 3.57 ^b
Peso del hígado (g)	51.50 ± 9.8 ^a	50.53 ± 10.5 ^a	50.03 ± 11.4 ^a	55.58 ± 11.3 ^b
Hígado corregido (g)	13.90 ± 2.67 ^a	33.29 ± 6.95 ^b	28.02 ± 6.39 ^c	26.68 ± 5.43 ^c

^{abc}Sistema a-b-c para indicar diferencias significativas. Nivel de significancia de 5%. (Según Test T pareado).

Cuadro 3
PROMEDIOS Y DE DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS

Variable/ Grupo	1	2	3	4
Glucosa (g/L)	2.08 ± 0.40 ^a	2.07 ± 0.39 ^a	2.10 ± 0.44 ^a	2.11 ± 0.32 ^a
Triglicéridos (g/L)	0.55 ± 0.26 ^a	0.45 ± 0.21 ^b	0.45 ± 0.22 ^b	0.47 ± 0.27 ^b
Proteínas (g/dl)	4.60 ± 0.92 ^a	4.59 ± 0.93 ^a	4.46 ± 1.06 ^a	4.52 ± 1.30 ^a
Globulinas (g/dl)	2.84 ± 0.79 ^a	2.79 ± 0.68 ^a	2.72 ± 0.88 ^a	2.68 ± 0.91 ^a
Albúminas (g/dl)	1.75 ± 0.23 ^a	1.80 ± 0.31 ^a	1.74 ± 0.27 ^a	1.84 ± 0.44 ^a

^{abc}Sistema a-b-c para indicar diferencias significativas. Nivel de significancia de 5%. (Según Test T pareado).

con descenso en la tasa de digestión de proteínas y carbohidratos, permaneciendo sin cambios la digestibilidad de la grasa dietaria.³⁵

Algunos autores señalan que la pérdida de peso corporal y el aumento del peso relativo del hígado, constituyen cambios característicos de los cuadros de estrés crónico en los que estas variables permanecen modificadas por un lapso prolongado. El mayor peso del hígado se debe al acúmulo de lípidos como consecuencia de la acción de la hormona corticosterona.^{24,34} En el presente trabajo, la media del peso de HC del grupo 3 fue algo superior a la del grupo testigo.

En pollos de engorde inoculados con ACTH, Puvadolpirod y Thaxton²⁴ hallaron aumentos de peso del hígado que pasaron de 3% del peso de la carcasa en los testigos a 5% en aves con estrés, con un incremento del contenido de grasa desde 4% en los testigos a 9% y 12% en los tratados.²⁴ Asimismo, el peso corporal presentó una reducción significativa ($P < 0.005$) en los animales tratados, que persistió durante cuatro semanas;²⁴ paralelamente no se hallaron cambios significativos en las tasas plasmáticas de glucosa y lípidos, que sólo se modificaron al inicio del estrés, regresando a sus valores normales con el transcurso del tiempo.²⁴ Por estas razones, las modificaciones experimentadas en el peso corporal y del hígado son consideradas útiles indicadores de estrés a largo plazo.²⁴

Las respuestas obtenidas en las aves del grupo 3 coinciden en líneas generales con los hallazgos de otros autores,²⁴ ya que se registraron mermas en el peso corporal sin modificaciones en las variables bioquímicas.

Los índices productivos de las aves del grupo 1 fueron significativamente superiores a los del grupo 3. Su mejor CA se debió principalmente a mayor PC que a menor CON.

El peso del HC del grupo 1 fue significativamente menor al de los otros grupos y presentó los mayores niveles de TG circulantes. El comportamiento de estas variables en el grupo 1, podrían constituir indicios que corroboren la acción lipotrópica que se le atribuye al producto utilizado en la experiencia.

Las correlaciones entre todas las variables permitieron inferir que los incrementos del peso del hígado (no dependientes del peso corporal) estuvieron relacionados con elevaciones de las concentraciones séricas de glucosa y triglicéridos, y disminuciones de ambas fracciones de proteínas. Estos resultados constituyen indicios muy importantes de la orientación de las rutas metabólicas de las aves con mayor peso del hígado corregido. Algunos consideran que posiblemente sea la correlación de valores obtenidos por varias vías, la manera más confiable de determinar los niveles de estrés en pollos y gallinas.^{18,24}

Referencias

1. Espinet RG. Los "stress"-su naturaleza- sus reacciones. *Vet Arg* 1987;4:882-888.
2. Bogin E, Weisman Y, Friedman Y. The effect of heat stress on the levels of certain blood constituents in chickens. *Refuah Vet* 1981;38:98-104.
3. Shlosberg A, Bellaiche M, Zeitlin G, Yaacobi M, Cahaner A. Hematocrit values and mortality from ascites in cold stressed broiler from parents selected by hematocrit. *Wild Poultry Sci* 1996;75:1-5.
4. Geraert PA, Padilha JCF, Guillaumin S. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: biological and endocrinological variables. *Br J Nutr* 1996;75:205-216.
5. Hester PY, Muir WM, Craig JV, Albright JL. Group selection for adaptation to multiple-hen cages: haematology and adrenal function. *Poultry Sci* 1996;76:1295-1307.
6. Arad Z, Marder W. Serum electrolyte and enzyme responses to heat stress and dehydration in the fowl (*Gallus domesticus*). *Comp Biochem Physiol* 1983;74:449-453.
7. McFarlane JM, Stanley CE, Shanks RD, Carmer SG. Multiple concurrent stressors in chicks. 1. Effect on weight gain, feed intake, and behavior. *Poultry Sci* 1989;68:501-509.
8. Dekich MA. Influencia del manejo de los pollitos sobre el estado de salud y mortalidad. *Avicult Prof* 1992;9:187-194.
9. Carpenter JR. La complejidad del ambiente de un animal y los factores estresantes. *Rev Tecnol Avipec* 1995;95:41-43.
10. Monsi A, Didi GL. Effects of holding time and temperature on performance in commercial broiler chickens under tropical environment. *Discov Innov* 1996;7:49-55.
11. Nilipour A. Cómo ayudar a las aves a sobrevivir al clima caliente. *Rev Ind Avic* 1993;40:22-30.
12. Saylor WW. Efecto del estrés por calor en el comportamiento productivo y los requerimientos nutricionales de pollos de engorde. *Rev Soja Noticias* 1991;224:18-20.
13. Tegethoff V, Hartung J. A field study on stocking the density and air quality in broiler production and recommendations to avoid heat stress in summer. *Dtsch Tierarzt Wchschr* 1996;103:87-91.
14. Knol BW. Stress and the endocrine hypothalamus-pituitary-testis system: a review. *Vet Q* 1991;3:104-114.
15. Rivier C, Rivest S. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. *Biol Reprod* 1991;45:523-532.
16. Coles EH. *Veterinary clinical pathology*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1986.
17. Ganong WF. *Fisiología médica*. 10a ed. México (D.F.): El Manual Moderno, 1986.
18. Tejeda-Perea A, Téllez-Isaías G, Galindo-Maldonado F. Técnicas de medición de estrés en aves. *Vet Méx* 1997; 28:345-351.
19. Cunningham JG. *Fisiología veterinaria*. México (DF): Interamericana, 1995.
20. Dukes HH, Swenson MJ. *Fisiología de los animales domésticos*. Tomo I. 4a ed. México (D.F.): Aguilar, 1981.
21. Fournier E, Peresson R, Guy G, Hermier D. Relationships between storage and secretion of hepatic lipids in two breeds of geese with different susceptibility to liver steatosis. *Poultry Sci* 1997;76:599-607.
22. Scott ML, Nesheim MC, Joung RJ. *Alimentación de las aves*. Ithaca (NY): GEA, 1969.

23. Blount WP. Recent advances in poultry therapeutic. *Vet Rec* 1985;67:1087-1097.
24. Puvadolpirod S, Thaxton JP. Model of physiological stress in chickens 1. Response parameters. *Poultry Sci* 2000;79:363-369.
25. Mitchell RD, Edwards HM, McDaniel GR. The effects of ultraviolet light and cholecalciferol and its metabolites on the development of leg abnormalities in chickens genetically selected for a high and low incidence of tibial dyschondroplasia. *Poultry Sci* 1997;76:346-354.
26. Kannan G, Heath JL, Wabeck CJ, Mench JA. Shackling of broilers: effects on stress responses and breast meat quality. *Br Poultry Sci* 1997;38:323-332.
27. Kannan G, Mench JA. Influence of different handling methods and crating periods on plasma corticosterone concentrations in broilers. *Br Poultry Sci* 1996;37:21-31.
28. Colusi A. Un nuevo mecanismo para la salud productiva: hepatoprotección continua. *Rev Avic Empresarial* 1996;2:8-10.
29. Erlinger S. Bile flow. *The liver: biology and pathobiology*. New York: I.M. Raven Press, 1994.
30. Hermier D. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. *J Nutr* 1997;5:805-808.
31. Tilgner H. Protective and therapeutic action of an extract from *Cynara scolimus* L. on rat liver tissue. *Ann Pharm Fr* 1983;29:45-54.
32. Steel R, Torrie J. *Bioestadística: principios y procedimientos*. México, (D.F.): McGraw-Hill/Interamericana, 1988.
33. Sandoval GL, Terraes JC, Fernández RJ, Revidatti FA, Campos-Vaca MV, Quevedo HD. Perfil bioquímico sérico y peso corporal en pollos con estrés físico inducido y hepatoprotección continua. *Memorias del XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura; 1999 septiembre 21-24; Lima, Perú. Lima, Perú: Asociación Latinoamericana de Avicultura, 1999:4-7.*
34. Odedra BR, Bates PC, Millward DJ. Time course of the effect of catabolic doses of corticosterone on protein turnover in rat skeletal muscle and liver. *Biochem J* 1983;214:617-627.
35. Siegel HS, Van Kampen M. Energy relationships in growing chickens given daily injections of corticosterone. *Br Poultry Sci* 1984;25:477-485.
36. King YT, Chen TC. Chemical and physical characteristics of chicken livers following adrenocorticotrophic hormone-induced stress. *J Food Sci* 1998;63:589-591.