



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS Y VETERINARIAS

Tesis

**IDENTIFICACIÓN DE LESIONES HEPÁTICAS Y RENALES  
CAUSADAS A LAS GALLINAS DE POSTURA POR EL CONSUMO  
CRÓNICO DE AFLATOXINAS Y SU INTERACCIÓN CON TRES  
AGENTES QUIMIOPROTECTORES**

Presenta

**MVZ. ELIZABETH DE SANTIAGO DÍAZ**

Para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS VETERINARIAS**

Tutor

**DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES**

Comité Tutorial

**DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN  
DRA. MARÍA CAROLINA DE LUNA LÓPEZ**

Aguascalientes, Ags., junio de 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

**Dr. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ**  
DECANO DEL CENTRO DE AGROPECUARIAS  
P R E S E N T E

Por medio del presente como Tutor designado de la egresada **ELIZABETH DE SANTIAGO DÍAZ** con ID 232056, quien realizó la tesis titulada: **IDENTIFICACIÓN DE LESIONES HEPÁTICAS Y RENALES CAUSADAS A LAS GALLINAS DE POSTURA POR EL CONSUMO CRÓNICO DE AFLATOXINAS Y SU INTERACCIÓN CON TRES AGENTES QUIMIOPROTECTORES**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir mi **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
*"Se Lumen Proferre"*  
Aguascalientes, Ags., a 14 de junio de 2019

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'AG'.

**Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores**  
Tutor de tesis

c.c.p.- Interesado  
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado  
c.c.p.- Consejero Académico  
c.c.p.- Minuta Secretario Técnico





UNIVERSIDAD AUTONOMA  
DE AGUASCALIENTES

**Dr. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ**  
DECANO DEL CENTRO DE AGROPECUARIAS  
P R E S E N T E

Por medio del presente como integrante del Comité Tutorial designado de la egresada **ELIZABETH DE SANTIAGO DÍAZ** con ID 232056, quien realizó la tesis titulada: **IDENTIFICACIÓN DE LESIONES HEPÁTICAS Y RENALES CAUSADAS A LAS GALLINAS DE POSTURA POR EL CONSUMO CRÓNICO DE AFLATOXINAS Y SU INTERACCIÓN CON TRES AGENTES QUIMIOPROTECTORES**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir mi **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 14 de junio de 2019

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Teódulo Quezada Tristán'.

**DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN**  
Integrante del Comité Tutorial de tesis

c.c.p.- Interesado  
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado  
c.c.p.- Consejero Académico  
c.c.p.- Minuta Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

**Dr. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ**  
DECANO DEL CENTRO DE AGROPECUARIAS  
P R E S E N T E

Por medio del presente como integrante del Comité Tutorial designado de la egresada **ELIZABETH DE SANTIAGO DÍAZ** con ID 232056, quien realizó la tesis titulada: **IDENTIFICACIÓN DE LESIONES HEPÁTICAS Y RENALES CAUSADAS A LAS GALLINAS DE POSTURA POR EL CONSUMO CRÓNICO DE AFLATOXINAS Y SU INTERACCIÓN CON TRES AGENTES QUIMIOPROTECTORES**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir mi **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

*"Se Lumen Proferre"*

Aguascalientes, Ags., a 14 de junio de 2019

**DRA. MARÍA CAROLINA DE LUNA LÓPEZ**  
Integrante del Comité Tutorial de tesis

c.c.p.- Interesado  
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado  
c.c.p.- Consejero Académico  
c.c.p.- Minuta Secretario Técnico





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES  
CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

OF. NO. CCA-D-11-15-069-19

**DRA. EN ADMÓN. MARÍA DEL CARMEN MARTÍNEZ SERNA**  
DIRECTORA GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
P R E S E N T E.

Por medio de la presente me permito comunicarle a usted que la tesis titulada "IDENTIFICACIÓN DE LESIONES HEPÁTICAS Y RENALES CAUSADAS A LAS GALLINAS DE POSTURA POR EL CONSUMO CRÓNICO DE AFLATOXINAS Y SU INTERACCIÓN CON TRES AGENTES QUIMIOPROTECTORES", de la alumna **ELIZABETH DE SANTIAGO DÍAZ**, egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, respeta las normas y lineamientos establecidos institucionalmente para su elaboración y su autor cuenta con el voto aprobatorio de su tutor y comité tutorial.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
Jesús María, Ags., 14 de junio del 2019  
"SE LUMEN PROFERRE"

**Dr. Raúl Ortiz Martínez**  
Decano del Centro



c.c.p. Jefa del Departamento de Control Escolar  
c.c.p. Sección de Certificados y Títulos  
c.c.p. Secretario Técnico  
c.c.p. Estudiante  
c.c.p. Archivo

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes, por brindarme la oportunidad de realizar este posgrado, por poner todos los medios para que lo llevara a cabo y por expandir mis horizontes hacia algo mejor.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por facilitar el recurso económico para poder realizar este posgrado, por medio de la beca 825944.

Al Laboratorio de Patología Animal, de la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia perteneciente a mi *alma mater*, la Universidad Autónoma de Zacatecas, por permitir la realización de la fase experimental de la investigación que lleve a cabo durante el posgrado. En especial a la MVZ. Esp. Cert. Miriam Damián Sandoval por su apoyo y acompañamiento en la interpretación de las lesiones histopatológicas y a la H.T. Rosa Blanca Martínez Flores por su asesoría en el desarrollo de la técnica histológica.

Al comité que encabezó el Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores, por tener la confianza y darme la oportunidad de realizar esta investigación, por el tiempo invertido y por las enseñanzas compartidas, muchas gracias Doctor. Al Doctor Teódulo Quezada Tristán, por tener siempre la disposición para aclarar dudas, como profesor y como parte de este comité, por sus aportaciones concretas siempre, gracias Doctor. A la Doctora María Carolina de Luna López, por proporcionarme la información y material para poder desempeñarme durante el posgrado, gracias Doctora.

Al Doctor Antonio de Jesús Meraz Jiménez, secretario técnico de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, por su apoyo a lo largo de la realización de este posgrado y al final del mismo, por estar pendiente de mi situación profesional. Muchas gracias Doctor.

## DEDICATORIAS

A Dios, por su infinita misericordia hacia mí.

A mi mamá, Martha Díaz que toda mi vida ha creído en mí y me ha apoyado en cada decisión que he tomado, por su constante oración y por alentarme siempre en cada etapa de mi vida. De igual manera a mi papá Tomás De Santiago, por su apoyo y sabios consejos siempre. Gracias a los dos por educarme con su ejemplo.

A “las De Santiago”, por estar en todo momento con mi ser. Margarita, gracias por todo tu apoyo incondicional, por darme la oportunidad de crecer en lo profesional y por apoyarme siempre en todo lo que he decidido emprender, mil gracias Margot. A mi Lucecita por ser mi complemento perfecto desde que llegué a este mundo. Por siempre ponerme los pies en la tierra y por quererme tanto. A Paula por ser mi ejemplo de valentía y de coraje para realizar tu vocación.

A mi querido profesor Jesús De Santiago, por enseñarme a dividir y siempre confiar en mí. A mi Tomás De Santiago por apoyarme siempre, por escucharme, por permitirme estar.

A Tadeo, Fernandita y Leo, por abrazarme siempre y hacerme sentir grande, y de su edad a la vez.

A mi querida mentora y amiga, Doctora Miriam, gracias por su guía, aliento y apoyo pero sobre todo por su entrañable amistad.

A mi dúo diabólico, por hacer de esta etapa hidrocálida, más llevadera, por su cálida amistad, por tanto recuerdo que construimos a lo largo de la maestría y por seguir estando, si, les estoy hablando a Ustedes Alejandra y Karla, Karla y Alejandra.

A SNI (Sergio), Pepe, Rufino, Chava, Paulina, Melisa y Alberto. Gracias a cada uno porque juntos la supimos hacer y resistimos.

A la M. en C. Araceli Mendieta, por ser mi pensadero en los tiempos difíciles, cuando no lograba encajar las piezas de mi rompecabezas; por tu apoyo, por creer y confiar en mí, por tus palabras y por compartir tu magia olorística conmigo. Gracias totales Aracheli, ¡si pude!.

“No se puede conectar los puntos mirando hacia adelante; sólo puedes conectarlos mirando hacia atrás”.  
Steve Jobs

## ÍNDICE GENERAL

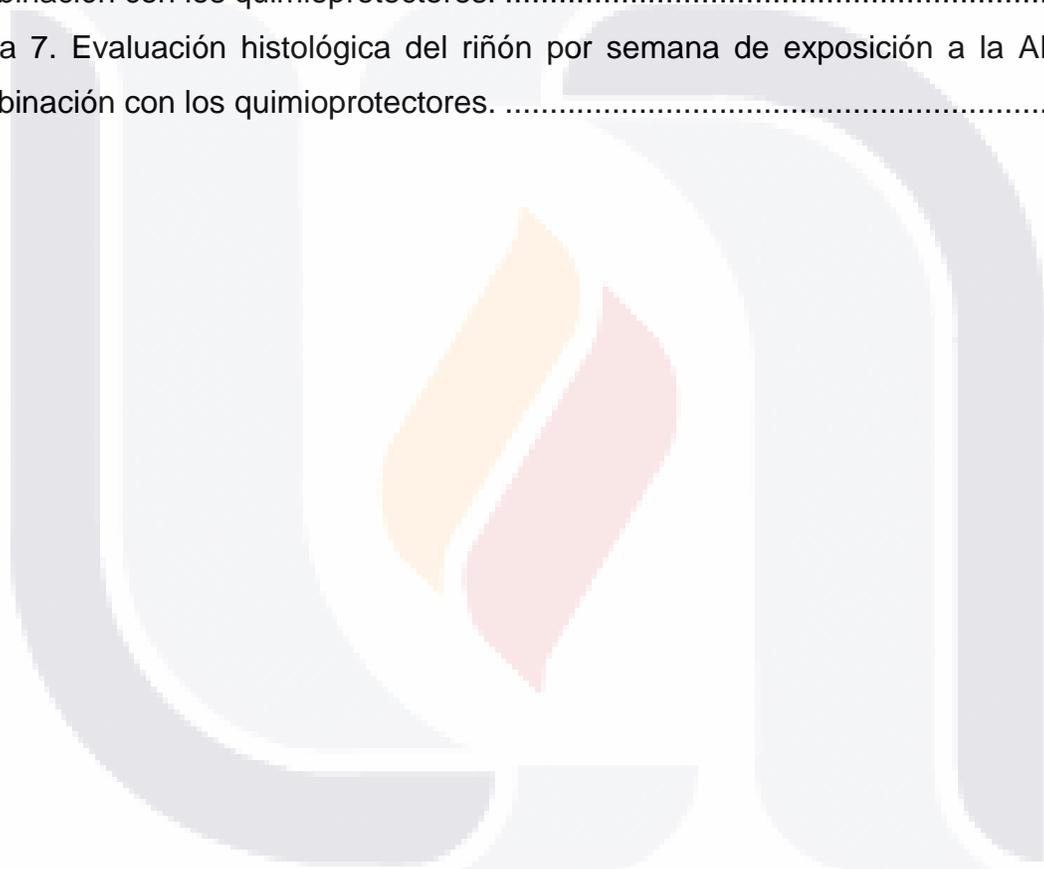
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	<b>1</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>3</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>4</b>
<b>ACRÓNIMOS</b> .....	<b>3</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>4</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>6</b>
<b>1. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>7</b>
<b>1.1 EVOLUCIÓN DE LA AVICULTURA</b> .....	<b>7</b>
1.1.2 Importancia económica y social de la avicultura.....	7
1.1.3 Situación actual de la avicultura en México y Aguascalientes .....	9
<b>1.2 Aves de postura</b> .....	<b>10</b>
<b>1.3 HONGOS PRODUCTORES DE MICOTÓXINAS</b> .....	<b>11</b>
1.3.1 Micotoxinas de importancia veterinaria .....	11
1.3.2 Biología de <i>Aspergillus</i> sección <i>Flavi</i> .....	13
1.3.3 Producción de aflatoxinas .....	14
1.3.4 Contaminación de productos vegetales .....	16
1.3.5 Biotransformación y eliminación de las aflatoxinas .....	17
<b>1.4 Mecanismos patogénicos inducidos por las aflatoxinas (estrés oxidativo)</b> .....	<b>22</b>
<b>1.5 Hígado</b> .....	<b>26</b>
<b>1.6 Riñones</b> .....	<b>28</b>
<b>1.7 Cambios anatomopatológicos causados por las aflatoxinas</b> .....	<b>31</b>
1.7.1 Lesiones macroscópicas .....	32
1.7.2 Lesiones microscópicas .....	32
<b>1.8 MÉTODOS DE CONTROL DE LA AFLATOXICOSIS</b> .....	<b>35</b>
1.8.1 Métodos físicos .....	35
1.8.2 Métodos químicos .....	36
1.8.3 Métodos biológicos.....	37
1.8.4 Quimiopreención y antioxidantes .....	38
<b>1.9 Agentes quimioprotectores</b> .....	<b>40</b>
1.9.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	42
1.9.2 N-Acetilcisteína .....	43
1.9.3 Etoxiquina.....	44
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>46</b>
<b>2.1 Hipótesis de investigación</b> .....	<b>47</b>
<b>2.2 Objetivo</b> .....	<b>47</b>
2.2.1. Objetivo general .....	47
2.2.2 Objetivos específicos .....	48
<b>2.3 Justificación</b> .....	<b>48</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>50</b>
<b>3.1 Lugar de estudio</b> .....	<b>50</b>
<b>3.2 Material biológico</b> .....	<b>50</b>
3.2.1 Contaminación del maíz .....	51
3.2.2 Declaración ética.....	52
<b>3.3 Quimioprotectores</b> .....	<b>52</b>
<b>3.4 Diseño general de la investigación</b> .....	<b>55</b>
<b>3.5 Evaluación histopatológica del hígado y los riñones</b> .....	<b>56</b>
<b>3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	<b>57</b>
3.6.1 Datos cuantitativos .....	57

3.6.2 Modelo estadístico .....	59
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>61</b>
<b>5. DISCUSIÓN .....</b>	<b>94</b>
<b>6. CONCLUSIONES .....</b>	<b>98</b>
<b>GLOSARIO .....</b>	<b>99</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>103</b>



### ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales géneros productores de micotoxinas. ....	12
Tabla 2. Alteraciones causadas a las macromoléculas por los RL.....	24
Tabla 3. Dieta a las que les sometió a las aves .....	51
Tabla 4. Diseño experimental.....	53
Tabla 5. Tratamientos a los que se sometieron las aves. ....	54
Tabla 6. Evaluación histológica del hígado por semana de exposición a la AF en combinación con los quimioprotectores. ....	63
Tabla 7. Evaluación histológica del riñón por semana de exposición a la AF en combinación con los quimioprotectores. ....	64



**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Principales países productores de huevo..... 8

Figura 2. Biotransformación y eliminación de la aflatoxina B<sub>1</sub>. .... 21

Figura 3. Hígado, histología normal.. ..... 27

Figura 4. Riñón, histología normal..... 31

Figura 5. Flujograma de las actividades a realizar.. ..... 55

Figura 6. Frascos con los órganos en formol al 10%.. ..... 56

Figura 7. A. Riñón; primer día de intoxicación, semana 0 de intoxicación.. ..... 61

Figura 8. Riñón; 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación. .... 62

Figura 10. Diagrama de barras para la esteatosis según las semanas de intoxicación y el grado de severidad. .... 65

Figura 9. Diagrama de barras para la esteatosis según las semanas de intoxicación. 65

Figura 11. Diagrama de barras para la hepatitis linfocítica según las semanas de intoxicación. 66

Figura 12. Diagrama de barras para la hepatitis linfocítica según las semanas de intoxicación y el grado de severidad. .... 67

Figura 13. Diagrama de barras para la nefritis linfocítica según las semanas de intoxicación. 67

Figura 14. Diagrama de barras para la nefritis linfocítica según las semanas de intoxicación y el grado de severidad. .... 68

Figura 15. Diagrama de barras para la degeneración tubular según las semanas de intoxicación. 69

Figura 16. Diagrama de barras para la degeneración tubular según las semanas de intoxicación y el grado de severidad. .... 70

Figura 17. Esteatosis en el hígado. AF con EQ. Según prueba LSD protegida. ... 71

Figura 18. Hígado. 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación..... 72

Figura 19. Esteatosis en el hígado. Aflatoxina B<sub>1</sub> con N-acetilcisteína: 800 mg/kg/pc. Según prueba LSD protegida de Fisher..... 73

Figura 20. Esteatosis en el hígado. AF con NAC. 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación.. 74

Figura 21. Esteatosis en el hígado. AF con *Saccharomyces cerevisiae*. Según prueba LSD protegida de Fisher ..... 75

Figura 22. Hígado. Esteatosis en el hígado. AF con Sc; 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación..... 76

Figura 23. Hepatitis linfocítica en el hígado. AF con EQ: 500 mg/kg/pc. Según prueba LSD protegida de Fisher. .... 77

Figura 24. Hígado. Hepatitis linfocítica en el hígado. AF con EQ. 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación..... 77

Figura 25. Hepatitis linfocítica en el hígado. AF con NAC. Según prueba LSD protegida de Fisher. .... 78

Figura 26. Hígado. Hepatitis linfocítica en el hígado AF con NAC... ..... 79

Figura 27. Hepatitis linfocítica en el hígado AF Sc. Según prueba LSD protegida de Fisher. 80

Figura 28. Hígado. Hepatitis linfocítica en el hígado. AF con Sc..... 81

Figura 29. Nefritis linfocítica en el riñón. AF con EQ. Según prueba LSD protegida de Fisher. 82

Figura 30. Riñón. Nefritis linfocítica en el riñón. AF con EQ..... 83

Figura 31. Nefritis linfocítica en el riñón de AF con NAC. Según prueba LSD protegida de Fisher. .... 83

Figura 32. Riñón. Nefritis linfocítica en el riñón AF con NAC. .... 84

Figura 33. Nefritis linfocítica en el riñón. AF con SC. Según prueba LSD protegida de Fisher. 85

Figura 34. Riñón. Nefritis linfocítica en el riñón AF con Sc..... 86

Figura 35. Degeneración tubular en el riñón. AF con EQ. Según prueba LSD protegida de Fisher 86

Figura 36. Riñón. Degeneración tubular en el riñón. AF con EQ..... 87

Figura 37. Degeneración tubular en el riñón. AF con NAC. Según prueba LSD protegida de Fisher. .... 88

Figura 38. Riñón. Degeneración tubular en el riñón. AF con NAC.. ..... 89

Figura 39. Degeneración tubular en el riñón. AF con Sc. Según prueba LSD protegida de Fisher. .... 89

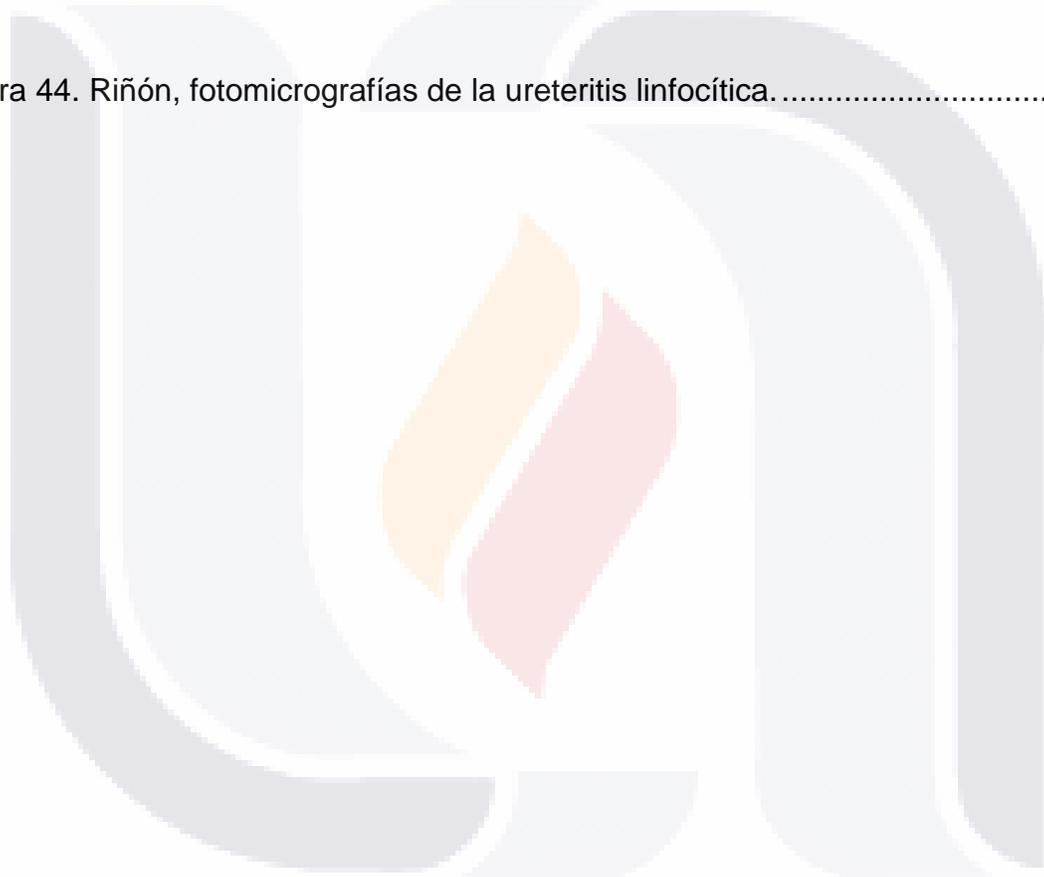
Figura 40. Degeneración tubular en el riñón. AF con Sc..... 90

Figura 41. Ureteritis linfocítica. AF con EQ. Según prueba LSD protegida de Fisher. 91

Figura 42. Ureteritis linfocítica. AF con NAC. Según prueba LSD protegida de Fisher. 91

Figura 43. Ureteritis linfocítica. AF con Sc. Según prueba LSD protegida de Fisher. 92

Figura 44. Riñón, fotomicrografías de la ureteritis linfocítica..... 93



**ACRÓNIMOS**

<b>AFBO</b>	8,9-epóxido-AFB <sub>1</sub>	<b>L</b>	Litro
<b>AFG<sub>1</sub></b>	Aflatoxina G <sub>1</sub>	<b>Mg</b>	Miligramo
<b>AFM<sub>1</sub></b>	Aflatoxina M <sub>1</sub>	<b>mL</b>	Mililitro
<b>AFM<sub>2</sub></b>	Aflatoxina M <sub>2</sub>	<b>Mm</b>	Milímetro
<b>AFP<sub>1</sub></b>	Aflatoxina P <sub>1</sub>	<b>Nd</b>	Dato no disponible
<b>ANDEVA</b>	Análisis de varianza	<b>Ng</b>	Nanogramo
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico	<b>Nm</b>	Nanómetro
<b>CYP<sub>450</sub></b>	Citocromo P <sub>450</sub>	<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>E.E.</b>	Error estándar	<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>EFSA</b>	European Food Safety Authority	<b>P</b>	Probabilidad de "F" en ANDEVA
<b>et al.</b>	Y colaboradores	<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization	<b>SAS</b>	Statistical Analysis System
<b>GSH</b>	Glutati6n reducido	<b>SIAP</b>	Servicio de Informaci6n Agroalimentaria y Pesquera
<b>H</b>	Hora	<b>UNA</b>	Uni6n Nacional de Avicultores
<b>H&amp;E</b>	Hematoxilina y eosina	<b>µg</b>	Microgramo
<b>kg</b>	Kilogramo		

## RESUMEN

Las aflatoxinas (AF) afectan la salud y los parámetros productivos en las gallinas de postura; la contaminación por AF en los alimentos es mundial y prácticamente inevitable. Por lo que su impacto negativo sobre la salud ha llevado al estudio de estrategias preventivas especialmente el uso de agentes quimioprotectores cuya función es eliminar, inactivar o reducir la biodisponibilidad de toxinas en productos contaminados. El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de agentes quimioprotectores (*Saccharomyces cerevisiae*, etoquinina y N-acetilcisteína), para disminuir las lesiones provocadas por el consumo crónico de aflatoxinas en gallinas de postura. Se adquirieron 240 gallinas de postura Hy-Line W36 de un día de edad. Las aves fueron criadas por procedimientos zootécnicos estándar. Bajo un arreglo factorial de tratamientos, las aves ingirieron alimento que contenía cuatro niveles de las aflatoxinas (0.0, 0.5, 1.0 y 1.5 mg / kg), así como EQ, SC y NAC (500 mg/kg y 800 mg/kg/pc) por 0, 14, 20, 46 y 72 semanas. Fueron sacrificadas por métodos aprobados y los tejidos se fijaron *in situ*. Se obtuvieron muestras del lóbulo derecho del hígado, los que fueron fijados en formalina neutra al 10%, para seguir la técnica histológica convencional. Se clasificaron las lesiones observadas en cada tratamiento los hallazgos histológicos en el hígado y los riñones, se observó que las principales lesiones que se presentaron significativas fueron la esteatosis y la hepatitis y nefritis linfocítica, hubo relación de su aparición con las semanas de intoxicación y en las interacciones con los quimioprotectores en la mayoría de las interacciones hubo disminución de las lesiones. Emplear los quimioprotectores previene el avance de las lesiones histopatológicas en e hígado y los riñones de las aves de postura.

**Palabras clave:** Aflatoxicosis, aflatoxinas, quimioprevención, gallinas de postura.

## ABSTRACT

Aflatoxins (AF) affect health and productive parameters in laying hens; AF contamination in food is global and practically inevitable. Therefore, its negative impact on health has led to the study of preventive strategies, especially the use of chemoprotective agents whose function is to eliminate, inactivate or reduce the bioavailability of toxins in contaminated products. The objective of this investigation was to evaluate the capacity of chemoprotective agents (*Saccharomyces cerevisiae*, ethoxyquin and N-acetylcysteine), to diminish the lesions caused by the chronic consumption of aflatoxins in laying hens. 240 one-day-old Hy-Line W36 laying hens were acquired. The birds were reared by standard zootechnical procedures. Under a factorial treatment arrangement, birds ingested food containing four levels of aflatoxins (0.0, 0.5, 1.0 and 1.5 mg / kg), as well as EQ, SC and NAC (500 mg / kg and 800 mg / kg / pc ) for 0, 14, 20, 46 and 72 weeks. They were sacrificed by approved methods and the tissues were fixed in situ. Samples were obtained from the right lobe of the liver, which were fixed in 10% neutral formalin, to follow the conventional histological technique. The lesions observed in each treatment were classified histological findings in the liver and kidneys, it was observed that the main lesions that were significant were steatosis and hepatitis and lymphocytic nephritis, there was relation of their appearance with the weeks of intoxication and in Interactions with chemoprotectors in most interactions decreased lesions. Using chemoprotectors prevents the advance of histopathological lesions in the liver and kidneys of laying hens.

**Key words:** Aflatoxicosis, aflatoxins, chemoprevention, laying hens.

## INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas son productos secundarios de ciertas especies de hongos que se encuentran contaminando gran parte de los alimentos destinados para consumo animal y humano, ocasionando graves problemas en la salud de ambas especies, debido a su alto potencial tóxico y cancerígeno, que afecta a ambas especies, respectivamente.

Una manera de evitar el daño es añadiendo a la dieta de los animales, como las gallinas de postura, quimioprotectores que reduzcan o eviten el daño inducido por las aflatoxinas.

La producción avícola a nivel mundial, nacional y estatal, tiene una gran importancia económica y social, debido a que el huevo aporta proteína a la dieta y su precio es accesible para los diversos estratos sociales. Esto hace que se esté en una búsqueda constante de mejora en la producción y una de estas vertientes consiste en evitar que las aves sean afectadas por la ingestión de alimento contaminado con aflatoxinas, ya que la aflatoxicosis en aves no solo merma la salud de las gallinas, sino que también afecta la producción, en este caso de huevo para consumo directo.

La mayoría de las lesiones observadas durante el experimento siguen un aumento ascendente en conjunto con el tiempo, conforme aumentan las semanas éstas aumentan como lo describe la literatura.

Los quimioprotectores Etoxiquina, N-acetilcisteína y *Saccharomyces cerevisiae* en la mayoría de las interacciones con las diferentes dosis de aflatoxinas lograron disminuir o mantener sin avance las lesiones microscópicas en el hígado y los riñones de las aves de postura. Las lesiones que se observaron en los grupos que sólo recibieron el quimioprotector no están directamente asociadas a su uso.

Emplear los quimioprotectores previene el avance de las lesiones histopatológicas en el hígado y los riñones de las aves de postura.

## 1. Marco teórico

### 1.1 EVOLUCIÓN DE LA AVICULTURA

#### 1.1.2 Importancia económica y social de la avicultura

El sector avícola sigue desarrollándose y transformándose en varias regiones del mundo debido al crecimiento demográfico, del poder adquisitivo y la urbanización. Los avances en la reproducción avícola han dado lugar al desarrollo de aves que responden a fines especializados, enfocados al aumento de producción, sin embargo, requieren la capacitación por parte de especialistas. Las mejoras y avances tecnológicos en la avicultura, han aumentado la inocuidad y la eficiencia productiva en las grandes unidades de producción pero han dejado de lado a los pequeños productores. Esta transformación ha hecho que la avicultura y la industria de alimentos concentrados aumenten rápidamente de tamaño. La avicultura familiar en zonas rurales y en pequeña escala, desempeña la función de mantener los medios de suministro en los países de desarrollo al producir bienes avícolas que brindan oportunidades de generación de ingresos y de nutrición humana de calidad mientras exista pobreza rural (FAO, 2016).

A nivel mundial, las aves de corral logran desarrollarse por medio de una gran diversidad de sistemas productivos en los países en desarrollo, el alojamiento, manejo y alimentación de estas aves en su mayoría criollas en las zonas rurales son básicos y austeros, las aves logran sobrevivir, desarrollarse y poner huevos en estos entornos, debido a esto contribuyen en gran escala a la seguridad alimentaria y al consumo de proteína de las poblaciones humanas. Las aves de uso comercial empleadas para la producción de huevo y carne tienen grandes requerimientos en sus dietas, principalmente de proteína y concentrados. Las dietas avícolas tienen elevados costos de producción y la alimentación en los países en desarrollo está limitada por la baja calidad y la composición

de los alimentos avícolas, que a menudo carecen de buenas características nutritivas (FAO - ONU 2004).

La supremacía en la producción de huevo en China es dominante desde hace tiempo; este país ha instaurado estrategias de producción, diferenciando el producto en volumen (Figura No.1), en ese orden, siendo México el principal productor de huevo en Latinoamérica. El desarrollo de la producción en América del Sur, liderada por Brasil y seguido por Colombia, Argentina, Perú y Chile, se hace evidente al consolidarse en países emergentes en la producción avícola de huevo para plato que abastece esta región.

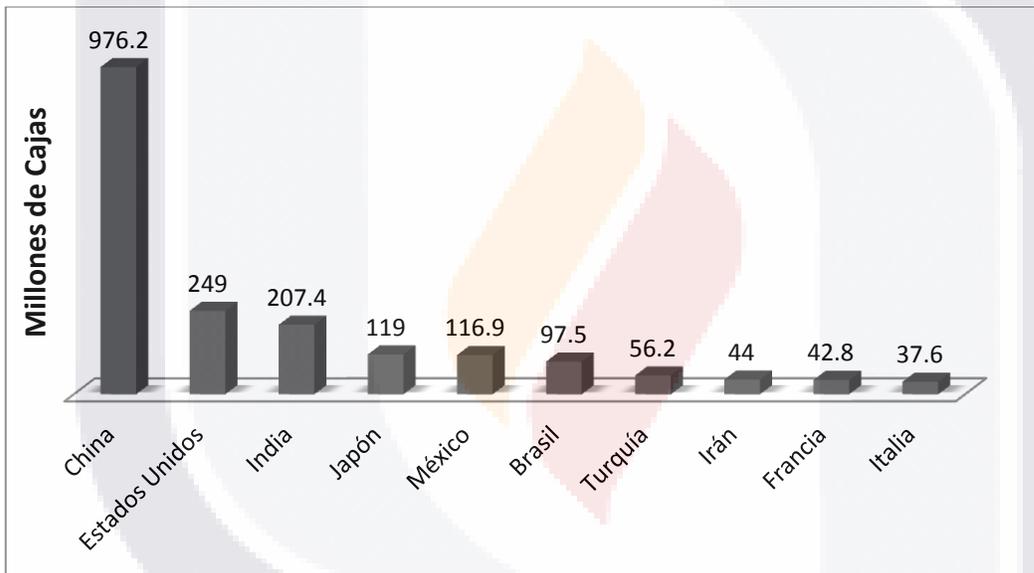


Figura 1. Principales países productores de huevo.  
Fuente: (Unión Nacional de Avicultores, 2017).

El mercado Europeo ha sido satisfecho por los países productores cercanos, principalmente Turquía, que aprovechando su ubicación ha mantenido un crecimiento importante de esta actividad. La comunidad económica europea es el mercado destino más importante de las exportaciones de huevo, en el cual se lleva a cabo 58% de las mismas, siendo Alemania el principal importador, que durante el 2013 importó 373,000 toneladas, seguido por Holanda e Italia. La comercialización de huevo en estos países

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

mantiene implícitos beneficios de arancel cero que permiten un desplazamiento más eficiente y rentable de la producción hacia el mercado destino; no obstante, medidas restrictivas con enfoque a regular la producción con un fundamento proteccionista de maltrato animal han hecho que estos niveles de producción y comercialización se retraigan de origen (SAGARPA, 2016).

Las aves son la especie que más se cría en México; la producción anual de huevo es de 2, 637,581 toneladas por año, con un valor económico de 52,085 millones de pesos (MDP), lo que la coloca como una de las actividades pecuarias más importantes del país, además el huevo y la carne de pollo son la proteína de menor costo para la población. Debido al desabasto de alimentos la avicultura urbana es decir la cría doméstica tradicional de aves en el interior de las ciudades, está siendo promovida con el fin de producir alimentos (carne y huevos), destinados al autoconsumo, lo que beneficia la seguridad alimentaria y economía familiar (SIAP, 2017; UNA, 2017).

### **1.1.3 Situación actual de la avicultura en México y Aguascalientes**

México ocupa el sexto lugar a nivel mundial como productor de huevo y el primer lugar en consumo de este con 19.2 Kg por año por persona. Cuenta con 196, 794,182 de cabezas de ave para huevo y Aguascalientes tiene 718,000 cabezas de ave para huevo, que equivale al 6.1% del total de cabezas nacional, produce 6,364 toneladas de huevo con un valor de 132 MDP. Los sacrificios se llevan a cabo en rastros de tipo privado y Tipo Inspección Federal (TIF) (SIAP, 2017).

Según la Unión Nacional de Avicultores (UNA) los principales insumos agrícolas consumidos por la avicultura son los granos forrajeros con 10 millones de toneladas, seguidos de las pastas oleaginosas con 3.5 millones de toneladas.

## 1.2 AVES DE POSTURA

Las gallinas de postura (*gallus gallus domesticus*), son aves de la especie galliforme, omnívora, con una ovoposición continua. Son el resultado de un proceso de selección y cruzamiento de cuatro generaciones: razas puras, abuelas progenitoras, reproductoras y gallina de postura. La segunda o tercera generación que llega al país como pollo de un día o huevo fértil. Destaca que México no posee razas puras. Existen dos clases de estirpes de gallinas para la producción de huevo para consumo: ligeras o productoras de huevo blanco, y semipesadas o productoras de huevo rojo. Dentro de cada estirpe existe una gran variedad de líneas genéticas para la producción (SIAP, 2017).

La pollita de un día de nacida es alojada en casetas durante un periodo conocido como crianza, que es el tiempo en el que llega a la madurez sexual (postura de huevo), el cual se acelera mediante la exposición a diferentes periodos de luz durante aproximadamente 20 semanas, hasta que las gallinas rompen postura. Después son cambiadas a casetas de postura. La producción de huevo se realiza mediante dos sistemas: postura en jaula, donde las gallinas son alojadas en estructuras tipo escalera para evitar que las excretas caigan sobre las de abajo; y postura en piso, donde las aves están a nivel del suelo y tienen cajones donde realizan la ovoposición (SAGARPA, 2016).

Las gallinas permanecen en postura de la semana 20 hasta la 80, aproximadamente, llegando a su máxima producción de la semana 31 a la 35. Algunas unidades llevan a cabo la pelecha, que es la interrupción de la postura para reanudarla posteriormente (SIAP, 2017).

La alimentación de las aves de postura se sustenta en los granos forrajeros y dependiendo del nivel tecnificado alcanzado por las explotaciones, éste puede ser proporcionado solamente quebrado y acondicionado con otras materias primas, o bien, a través de alimentos balanceados elaborados en plantas propias o del tipo comercial (SAGARPA, 2006).

Los granos que consumen pocas veces pueden considerarse estériles, ya que en ellos se encuentran asociaciones microbianas, éstas dependerán del tipo de organismos que sean y de sus características reproductivas, pueden provenir del suelo, aire o instrumentos que entran en contacto con ellos. Su bajo contenido de agua y pH, los hace susceptibles a la colonización principalmente por hongos (Sanchis et al, 2007).

### **1.3 HONGOS PRODUCTORES DE MICOTÓXINAS**

Los hongos se encuentran repartidos en tres reinos: *Protozoa*, *Chromista* y *Fungi*, este último se integra exclusivamente de hongos, cerca de 80,000 especies. El reino *Fungi* se divide a su vez en *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Basidiomycota* y *Ascomycota*, esta última cuenta con más de 30,000 especies en las que se encuentran los hongos productores de micotoxinas causantes de intoxicaciones al ser consumidas en alimentos o piensos (Cabañas et al. 2007).

#### **1.3.1 Micotoxinas de importancia veterinaria**

Las micotoxinas, del griego *mikes* (hongo) y *toxina* (veneno), son compuestos de bajo peso molecular y con diversas estructuras químicas que resultan del metabolismo secundario de géneros fúngicos (Tabla No. 1), tales como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Claviceps* y *Fusarium* (Cabañas et al., 2007; Dhanasekaran et al., 2009) sobre alimentos destinados principalmente para consumo animal.

Tabla 1. Principales géneros productores de micotoxinas.

Género	Especies micotoxígenas
<i>Penicillium</i>	32
<i>Aspergillus</i>	15
<i>Fusarium</i>	12
<i>Byssochlamys</i>	2
<i>Stachybotris</i>	2
<i>Trichoderma</i>	2
<i>Alternaria</i>	1
<i>Chaetomium</i>	1
<i>Paecilomyces</i>	1
<i>Rhizopus</i>	1

Fuente: (Cabañas et al. 2007)

Dentro del grupo de las micotoxinas destacan: las aflatoxinas (AF), producidas por *Aspergillus Flavus*, desoxinivalenol (DON) y zearalenona (ZEA) por *Fusarium*, fumonisinas y la ocratoxina (OTA), que tienen gran impacto económico en términos de su alta prevalencia y efectos negativos significativos en el rendimiento animal (Hussain et al., 2010; Li et al., 2014; Ji et al., 2016), por ser altamente carcinógenas y tóxicas. La presencia de micotoxinas en productos alimenticios destinados para consumo humano y animal es un problema que se presenta en todo el mundo. La producción avícola se ve afectada por la presencia de éstas en los alimentos de las aves (Çelýk et al., 2003).

Se analizó el maíz de grano vendido y distribuido a través de puntos de venta al mayoreo en Monterrey, México. De las muestras analizadas 41 tenían concentraciones de aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), de entre 5.0 y 465.3 µg/kg, y para AFG<sub>1</sub> de 1.6 a 57.1 µg / kg. De las muestras el 87.8% estaban contaminadas con aflatoxinas y 58.6% presentaron niveles por encima del límite legal de 20 µg / kg (Resnik et al., 1995).

Flores et al., (2006), publicaron un estudio en el que analizaron alimentos balanceados y granos, empleados en la producción de aves, cerdos y ganado en México durante el año 2003, los resultados arrojaron que el 57.0 % de las muestras analizadas

presentaron alguna cantidad detectable de micotoxinas, de este porcentaje el 11.7% presentó niveles por encima de los permitidos en las normas de regulación como la Norma Oficial Mexicana (NOM-247-SSA1-2008), emitida en 2008 establece que el límite máximo permisible de aflatoxinas en cereales es de 20 µg/kg sea para consumo humano o de animales y arroja información sobre las especificaciones sanitarias de transporte y almacenamiento de cereales indicando que el límite máximo de aflatoxinas en harina de maíz nixtamalizado y masa para tortillas es de 12 µg/kg (Yuef et al. 2013).

La estrategia de manejo que ha mostrado ser efectiva en la reducción de la contaminación de aflatoxinas en pre y post cosecha del maíz consiste en el uso de razas atoxigénicas (que no producen toxinas) de *A. flavus*, mismas que por competencia por los mismos sustratos para el crecimiento y desarrollo desplazan a las poblaciones de hongos toxigénicos (De Luna et al. 2013; Yuef et al. 2013).

### **1.3.2 Biología de *Aspergillus* sección *Flavi***

Se conocen más de 100 especies del género *Aspergillus*, 50 de ellas son capaces de producir micotoxinas, que son metabolitos fúngicos tóxicos de estructuras diversas, contaminantes comunes de los ingredientes de la alimentación animal y humana (Juan et al. 2007). Las de mayor relevancia en alimentos y piensos son las AFs, producidas por principalmente por *A. Flavi* y también son producidas por *A. parasiticus* y *A. nomius*.

Dentro de la sección *Flavi* se encuentran las especies: *flavus*, *oryzae*, *psudotamarii* y *tamarii*, que son las principales especies productoras de micotoxinas (Banks, 1996). La mayoría de las especies son hongos filamentosos saprófitos que cumplen una función esencial en la degradación de la materia orgánica. Se encuentran en el suelo donde sobreviven y se desarrollan especialmente en materia descompuesta. Es el género de los más abundantes en la naturaleza y se encuentra en cualquier ambiente; su reproducción es por conidios cuya germinación da origen a las hifas. Dentro de los requerimientos para

su crecimiento, están humedad relativa entre el 70 y 90 %, contenido de agua en la semilla entre 15 y 20% y un rango de temperatura amplio (0 a 45 °C), además es la más citada en estudios sobre la microbiota de los alimentos (Banks, 1996).

El agar *Aspergillus flavus* y *parasiticus*, es el medio de detección más rápido para detectar hongos productores de aflatoxinas, produce colonias brillantes amarillo naranja (Doyle et al. 2001).

### **1.3.3 Producción de aflatoxinas**

Las aflatoxinas son micotoxinas tóxicas y carcinógenas producidas por hongos del género *Aspergillus* principalmente, es decir metabolitos secundarios que preocupan a la salud pública especialmente en áreas donde los alimentos contaminados con AFB<sub>1</sub> son parte de la dieta básica. La AFB<sub>1</sub>, es la más tóxica y carcinogénica de todas las aflatoxinas, no es tóxica por sí sola, debido a que necesita la bioactivación por enzimas del citocromo P450 para producir epóxidos. Las aves de corral, especialmente los pavos, son extremadamente sensibles a los efectos tóxicos de la AFB<sub>1</sub> (Rawal y Coulombe, 2011; Liu et al. 2012; He et al. 2013; Gutleb et al. 2015).

Los efectos de las micotoxinas en las aves de corral dependen de la edad, el estado fisiológico y el estado nutricional de los animales en el momento de la exposición ya que el crecimiento del hongo puede ocurrir en varios puntos dentro de la producción y distribución de alimento (Dhanasekaran et al. 2009).

La colonización fúngica y producción de micotoxinas en un alimento se desarrolla en una serie de fases o etapas como son la contaminación del alimento, la germinación de las esporas fúngicas, el crecimiento del micelio fúngico, y finalmente la producción y acumulación de las micotoxinas en el mismo sustrato o alimento (Cabañas et al. 2007).

Dentro de las micotoxinas, las aflatoxinas son de importancia marcada y relevante debido a su inmunotoxicidad que actúa sobre células fagocíticas y la inmunidad celular lo

que puede reducir la capacidad de las aves para soportar el estrés. Este mal funcionamiento puede reducir el tamaño del huevo y posiblemente la producción de éste; Son contaminantes naturales de diversos productos agrícolas como el maíz. Estos compuestos también se han encontrado en productos alimenticios y alimentos fermentados por su alto contenido en nutrientes que promueven su síntesis. Su presencia puede estar por encima de los niveles de las normas de regulación establecidas por cada país (Dhanasekaran et al. 2009; Gacem y Ould El Hadj-Khelil, 2016).

*Aspergillus flavus* produce a las AFs, éstas presentan una estructura básica formada por un anillo dihidro-difurano o tetrahidro-difurano unido a una cumarina con un anillo de cinco o seis átomos de carbono. Hay aproximadamente 20 diferentes tipos de AFs, las de mayor importancia por su alto potencial cancerígeno, mutágeno y teratógeno son: B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>), G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>), G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>), M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>), M<sub>2</sub> (AFM<sub>2</sub>), P<sub>1</sub> (AFP<sub>1</sub>), Q<sub>1</sub> (AFQ<sub>1</sub>) y D (AFD), (Yuef et al., 2013). La AFB<sub>1</sub> y la M<sub>1</sub> son especialmente carcinogénicas para el hombre y por eso forman parte del grupo 1, según la Agencia para la Investigación del cáncer 1515. Se distinguen por el color fluorescente bajo iluminación ultravioleta de onda larga: B = azul, G = verde (McClean y Dutton, 1995). La biosíntesis de AFB<sub>1</sub> necesita varios pasos y es modificada por la intervención de varios factores ambientales (estrés, detección del quórum y vía de señalización de la proteína), sin dejar de lado factores que regulan la transcripción de unión. Los aminoácidos como el triptófano inhiben la síntesis de AFs mientras que la tirosina lo estimula. La presencia de los lípidos induce la aflatoxiconogénesis.

Entre los factores orgánicos que afectan a la biosíntesis, esta la presencia del carbono y el nitrógeno. Además, los azúcares simples como la glucosa y la fructosa favorecen esta biosíntesis, mientras que en los casos de la sorbosa y la lactosa no se ha registrado ninguna acción.

En cuanto a los factores físicos, la temperatura óptima de biosíntesis se encuentra entre 28 y 35 °C. Por encima de este rango de temperatura, la biosíntesis se inhibe debido al ataque de los genes de transcripción aflR y aflS, mientras que en condiciones de poca humedad la producción de las aflatoxinas es alta. La síntesis también está influenciada por líneas celulares y cambios en la morfología de las células productoras. El pH (0.87), para la biosíntesis es alto en los medios ácidos, mientras que se inhibe en condiciones básicas (Juan et al. 2007).

### **1.3.4 Contaminación de productos vegetales**

Las aflatoxinas se han encontrado como contaminantes habituales en una gran cantidad de productos agrícolas, se ha confirmado su presencia en todo el mundo así como en casi todos los alimentos básicos.

El maíz, las semillas de algodón y los cacahuetes (por ejemplo, el maní), se consideran sustratos ricos en nutrientes para la colonización por hongos aflatoxicogénicos, en especial en la India, América del Sur y el Oriente. Dentro de estos productos están: los cereales tropicales y subtropicales, la yuca, el pescado seco, el arroz, las semillas oleaginosas, la semilla de algodón, el cacahuete, las nueces de Brasil y los pistachos. En Estados Unidos dentro de los principales productos para consumo por humanos (trigo, centeno, avena, maíz), la contaminación con AFs de mayor impacto se da en el maíz. Las AFs presentan cierta estabilidad al calor durante la elaboración de alimentos (hervir, esterilizar en autoclave, microondas). La cocción en microondas y hornos no reduce la concentración de AFs en productos contaminados destinados a la alimentación. El consumo de éstas es muy bajo en los Estados Unidos y Europa comparado con los países en desarrollo (Fernandes et al. 2013).

El problema de las aflatoxinas es que son acumulativas es decir, una vez que contaminan los granos o productos agrícolas en el cultivo o ya que han sido almacenados,

resisten el proceso de digestión, el calor de la cocción o el congelamiento. Las aflatoxinas se encuentran principalmente en productos agrícolas como las materias primas para la preparación de alimentos balanceados para ganado principalmente en forma de contaminantes (Fernandes et al. 2013).

Debido a que México es un gran productor agrícola, la contaminación con aflatoxinas es relevante. En la actualidad, la reglamentación mexicana sólo establece límites para las aflatoxinas en cereales y productos de cereales. La información epidemiológica, es limitada, sin embargo se informa que un número elevado de muestras presentan niveles que sobrepasan los límites establecidos en el extranjero, debido a esto se han tomado medidas para reducir este problema en el país, como el desarrollo del maíz híbrido, el control de la población de insectos, el uso de productos naturales y la modificación de los procedimientos de nixtamalización y extracción.

Existen investigaciones importantes en esta área, sin embargo aún existe una gran necesidad de datos para determinar la incidencia de micotoxinas en los productos mexicanos (García y Heredia, 2006).

En un estudio de 24 muestras de cerveza de Estados Unidos y México, sólo una muestra de cerveza mexicana presentó aflatoxinas a una concentración de 49 ng de aflatoxina B<sub>1</sub> (Barceloux, 2008).

### **1.3.5 Biotransformación y eliminación de las aflatoxinas**

La biotransformación describe las actividades hepáticas que transforman y eliminan a los compuestos tóxicos o biológicamente activos, se lleva a cabo dentro del retículo endoplásmico liso, las mitocondrias y el citosol de los hepatocitos.

Existen las reacciones de fase I (no sintéticas), y de fase II (sintéticas), las primeras se llevan a cabo en el citosol, retículo endoplásmico liso y mitocondrias, se efectúan por medio de reacciones de oxidación, reducción e hidrolíticas. Las de fase II también

llamadas de conjugación se llevan a cabo en el citosol, unen sustancias con compuestos de reactivos endógenos: glucurónido, ácido acético, sulfato y aminoácidos, estas reacciones aumentan la solubilidad al agua de un compuesto y la polaridad. El compuesto se vuelve menos soluble en lípidos y no puede penetrar las membranas celulares, así se inactiva y elimina. Las células de Kupffer complementan la biotransformación en los hepatocitos (Banks, 1996).

La AFB<sub>1</sub> por su frecuencia y mayor concentración que el resto de las AFs es considerada la de mayor impacto, aunque esto varía de acuerdo a factores, como la cepa fúngica, sustrato de crecimiento y las condiciones del ambiente (Juan *et al.*, 2007).

La biotransformación así como los mecanismos mutagénicos y cancerígenos de la aflatoxina B (AFB), son conocidos. Es metabolizada por las isoenzimas del citocromo P<sub>450</sub> (CYP<sub>450</sub>), a su intermediario reactivo AFB<sub>1</sub> 8,9 exo o endo-epóxido (AFBO), y otros metabolitos oxidados, incluyendo las formas hidrolizadas: AFM<sub>1</sub>, AFQ<sub>1</sub> y la forma O-desmetilada, la aflatoxina P<sub>1</sub> (AFP). En especies como los conejos, truchas y pollos, hay reducción a aflatoxicol aunque este no es un metabolito principal ya que rápidamente se oxida a AFB. El AFB<sub>1</sub> 8,9 exo-epóxido es bioactivado por epoxidación del doble enlace del anillo furano terminal, generando el intermediario electrofílico AFB<sub>1</sub> 8,9 epóxido, un estereoisómero que existe tanto en las conformaciones exo como endo. AFB<sub>1</sub>-endo-epóxido es débilmente mutagénico contrario al AFB<sub>1</sub>-exo-epóxido que es capaz de alquilar ácidos nucleicos y proteínas (Bedard y Massey, 2006). La AFM, AFP y AFQ son potencialmente tóxicas y carcinogénicas aunque en menor grado que la AFB y su formación se considera una vía de desintoxicación, sin embargo la AFM conserva cierto potencial carcinogénico y es un metabolito *in vitro* relevante de la AFB en el hígado humano. Las enzimas CYP<sub>450</sub> que están involucradas de manera fundamental en la oxidación de la AFB son CYP<sub>1A</sub> y CYP<sub>3A4</sub>. El CYP<sub>1A1</sub> se expresa principalmente en tejido extra hepático; puede ser inducido en el hígado y forma AFM. Datos cinéticos de

laboratorio demostraron que en concentraciones bajas de AFB que asemejan exposiciones humanas ( $<1 \mu\text{M}$ ), el CYP<sub>1A2</sub> humano es muy efectivo en la bioactivación de la AFB y, por lo tanto, se concluyó que el CYP es el principal implicado en la activación de AFB a AFBO *in vivo* (Gross-Steinmeyer and Eaton 2012).

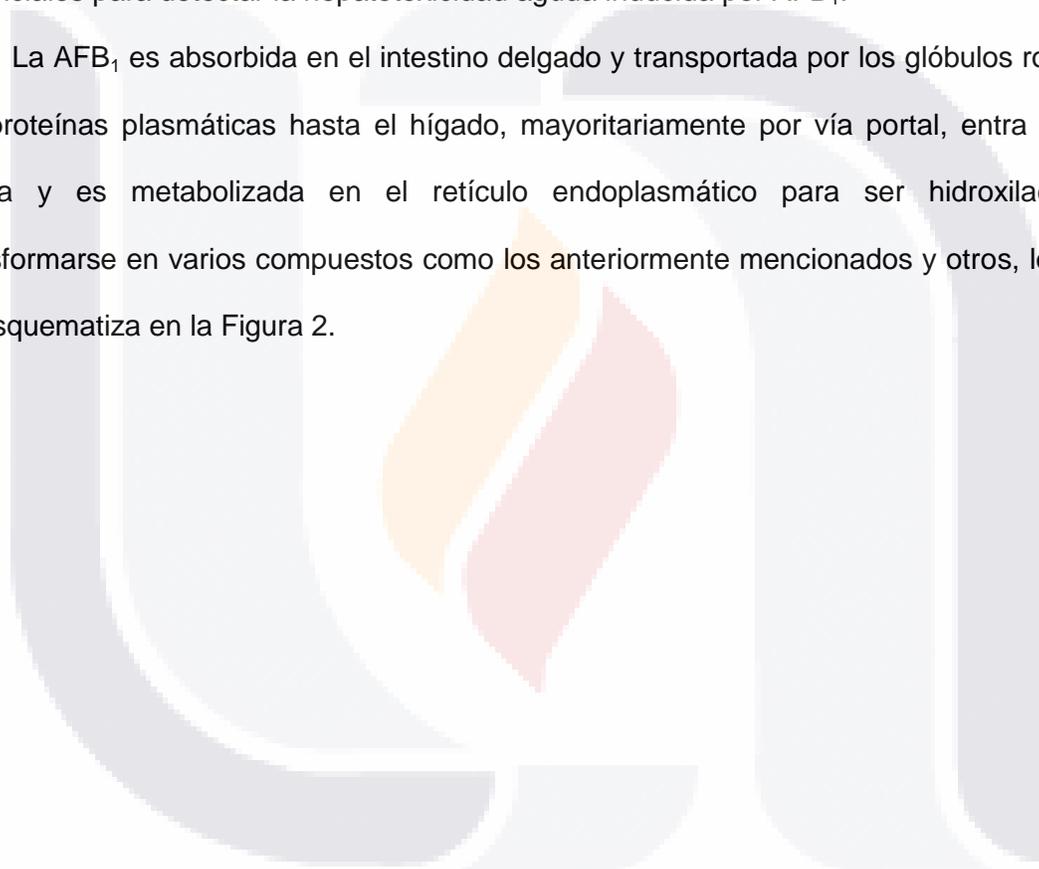
El AFB<sub>1</sub> 8,9 exo-epóxido es altamente reactivo y puede unirse por enlaces covalentes a macromoléculas celulares, este forma aductos de larga duración con la lisina la albúmina sérica y aductos promutagénicos con el ácido desoxirribonucleico (ADN) (Dai et al. 2017).

El cambio principal en el ADN es el aducto AFB-N<sup>7</sup>-guanina, que es químicamente inestable y se excreta rápidamente vía urinaria seguida de la depuración. Otra vía que puede seguir el aducto de AFB-N<sup>7</sup>-guanina, es reorganizarse en una estructura estable de formamidopirimidina de anillo abierto (Fetaih et al., 2014), se puede convertir en un aducto AFB<sub>1</sub>-formamidopirimidina (AFB<sub>1</sub>-FABY), que puede conducir a mutaciones de transversión de guanina (G) a timina (T). Además, estos aductos pueden dar como resultado una mutación de arginina a serina en el codón 249 del gen supresor tumoral p53, anulando la función del gen supresor tumoral (Uribe-Yunda y Navas 2012; Yang et al. 2016; Dai et al., 2017). Ambos aductos de AFB-ADN, si no son eliminados por las enzimas de reparación del ADN, tienen el potencial de convertirse en alteraciones somáticas si están localizados en regiones de ADN transcripcionalmente activas. Se destaca que la capacidad carcinogénica y mutagénica están determinadas por AFB<sub>1</sub>-FABY, la que causa errores en las transcripciones del ADN. Los resultados de un estudio realizado por De Peña, (2007), ilustran que la población mexicana está consumiendo alimentos con bajas concentraciones de AFB<sub>1</sub>, resultados obtenidos por medio de marcadores.

El aducto de ADN formado, AFB-N<sup>7</sup>-guanina, es eliminado por orina y se usa como biomarcador. La unión del epóxido a las proteínas es responsable de su toxicidad y

origina la eliminación de un aducto, AFB<sub>1</sub>-lisina, que se emplea como biomarcador en suero (Wang y Groopman, 1999; Bedard y Massey, 2006; Juan et al. 2007; Gross-Steinmeyer y Eaton, 2012; Monson et al. 2015). Lu et al., (2013), reportaron que la alteración en la vía de señalización del gen p53 inducida por el daño oxidativo es el paso definitivo para que se presentara la hepatotoxicidad aguda inducida por AFB<sub>1</sub>, además los genes y metabolitos afectados en el hígado de rata o suero sirvieron como biomarcadores potenciales para detectar la hepatotoxicidad aguda inducida por AFB<sub>1</sub>.

La AFB<sub>1</sub> es absorbida en el intestino delgado y transportada por los glóbulos rojos y las proteínas plasmáticas hasta el hígado, mayoritariamente por vía portal, entra en la célula y es metabolizada en el retículo endoplasmático para ser hidroxilada y transformarse en varios compuestos como los anteriormente mencionados y otros, lo que se esquematiza en la Figura 2.



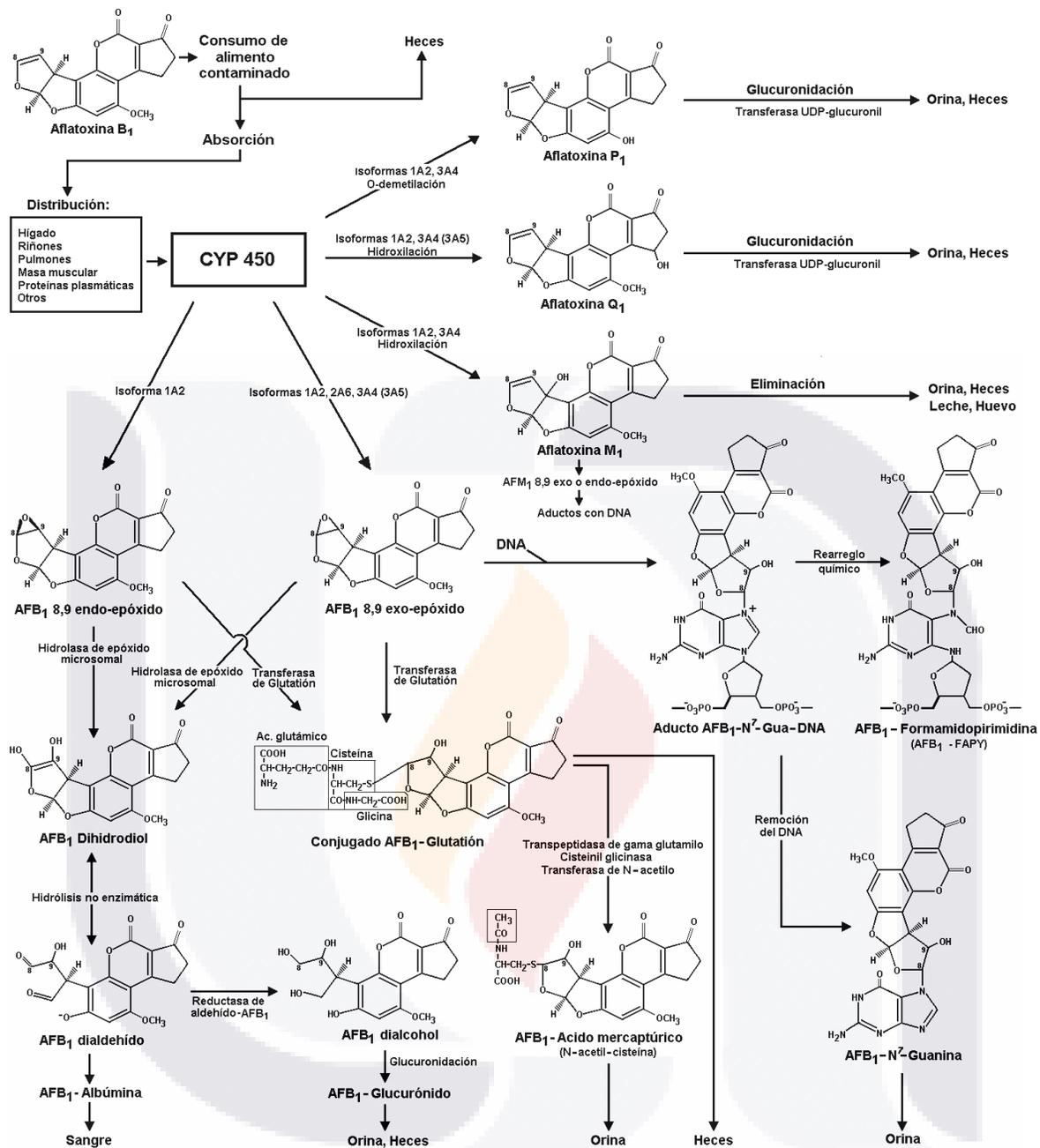


Figura 2. Biotransformación y eliminación de la aflatoxina B<sub>1</sub>. Tomada de Cortez et al. 2009.

#### **1.4 MECANISMOS PATOGENICOS INDUCIDOS POR LAS AFLATOXINAS (ESTRÉS OXIDATIVO)**

Las reacciones de biotransformación y eliminación de AFB<sub>1</sub> antes descritas son favorecidas y a su vez favorecen el proceso de estrés oxidativo, en el que intervienen especies químicas con uno o más electrones desapareados o libres en su orbital exterior llamadas radicales libres (RL), debido a su inestabilidad y reactividad, tienen la capacidad de reaccionar con moléculas cercanas para oxidarlas; la oxidación sucede cuando hay la pérdida de electrones, captación de oxígeno o deshidrogenación (cesión de hidrógeno), lo que genera más radicales libres y si este proceso no es bloqueado por sustancias antioxidantes causa daño celular (Avello y Suwalsky, 2006; Bernabucci et al. 2011; Hernández-Rodríguez et al. 2014; Mishra et al. 2014). El proceso de oxidación genera otro de reducción y en unión se les conoce como reacciones de óxido-reducción o reacciones redox. El estrés oxidativo se genera cuando existe un desequilibrio entre los oxidantes y los antioxidantes, es decir los antioxidantes son superados en cantidad por los RL (Delgado et al. 2010; Samet y Wages, 2018). La inducción de estrés oxidativo es característico de la toxicidad, y la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), es una consecuencia natural de la biotransformación xenobiótica (Bernhard et al. 2018).

Los RL son productos de varias rutas metabólicas de las células, el oxígeno es de vital importancia en los procesos aerobios, por lo anterior los RL con centro de oxígeno son los más abundantes. Estos son precursores de las reacciones metabólicas que por naturaleza se llevan en el organismo y se ven aumentados por factores exógenos.

A este grupo pertenecen el anión superóxido, el radical hidroxilo y los RL provenientes de compuestos orgánicos: peroxilo y alcoxilo; los compuestos reactivos tales como el peróxido de hidrógeno y el oxígeno singlete también entran en este grupo. Es por eso que

se opta por usar la clasificación general de ERO para incorporar a aquellas especies químicas que se comportan como oxidantes (peróxido de hidrógeno, ácido hipocloroso, hidroperóxidos y metabolitos epóxido) (Wittwer, Chihuailaf y Contreras, 2002), que no son RL, siendo los epóxidos los productos dañinos obtenidos del proceso de biotransformación de las AF.

Tiene la capacidad de interactuar con el ADN y conducir a mutaciones. La AFB<sub>1</sub> también induce apoptosis en los hepatocitos humanos (Rotimi et al. 2017). El AFBO al ser un metabolito altamente reactivo y que puede unirse a las macromoléculas celulares como las guaninas de ADN para formar aductos y causar hepatotoxicidad sumado al estrés oxidativo se convierte en un mecanismo crítico que contribuye a la iniciación y progresión del daño hepático en la hepatotoxicidad inducida por AFB<sub>1</sub> (Lu et al. 2013). Se ha comprobado que las ERO están relacionadas directamente en la oxidación de proteínas, lípidos y ADN, las más abundantes son el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y el OH mientras que el complejo mitocondrial I y CYP<sub>450</sub> se ven involucrados en la generación de estos. El estrés oxidativo también ha sido asociado a la inmunotoxicidad inducida por la AFB<sub>1</sub> y fumonisina B<sub>1</sub> (Mary et al. 2012).

Los macrófagos se valen de este mecanismo para combatir microorganismos con la explosión oxidativa de ERO. Los peroxisomas producen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante la degradación de los ácidos grasos, los primeros se degradan la mayoría en agua por la catalasa, sin embargo unos cuantos pueden escapar a la célula. El daño generado por estos dependerá del sitio donde reaccionen, si ocurre en la proximidad de las membranas sucederá lipoperoxidación pero si es cerca del ADN las bases serán modificadas o la cadena se romperá (Zafarullah et al. 2003; Maxie, 2015).

Las ERO pueden modificar o dañar macromoléculas en las células incluyendo la oxidación y peroxidación de ADN, proteínas y lípidos, los daños inducidos por los RL se muestran en el Tabla No 2.

Tabla 2. Alteraciones causadas a las macromoléculas por los RL.

Compuestos	Alteración
Lípidos	Oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas y orgánulos de las células.
Proteínas	Inactivación de las enzimas por oxidación de los grupos sulfhidrilo. Lo mismo ocurre en las proteínas estructurales.
Carbohidratos	Despolimerización de polisacáridos.
Ácidos nucleicos	Hidroxilación de bases, entrecruzamientos y rotura de las bandas del ADN, lo que causa mutaciones e inhibición de la síntesis de proteínas.

Tomada de Zentella et al. (1994)

La serie de eventos causada por el estrés oxidativo conduce a la alteración de la expresión génica, baja regulación del sistema de defensa antioxidante y causa toxicidad química, además hay agotamiento de glutatión, falla en la homeostasis de calcio, estimulación de la expresión de oncogenes e inhibición de genes supresores de tumores. Esta serie de eventos conduce a la expresión génica alterada y a la baja regulación del sistema de defensa antioxidante y causa toxicidad química. causa toxicidad química (Bagchi et al. 2012).

La oxidación de los lípidos como sucede en la biotransformación de las AFs impacta de manera directa en las estructuras que son abundantes en estos compuestos, como lo son las membranas celulares y las lipoproteínas, al dañarse las primeras se altera la permeabilidad y como consecuencia de esto hay edema y la muerte. Si los antioxidantes se ven disminuidos la peroxidación lipídica aumenta y los epóxidos reaccionarán con estructuras como el ADN, ARN y las proteínas. Los epóxidos son compuestos cíclicos formados de un átomo de oxígeno unido a dos átomos de carbono, unidos entre sí mediante un enlace covalente; este proceso de peroxidación conduce a citotoxicidad (toxicidad celular), alergia, mutagenicidad y carcinogenicidad, dependiendo de las propiedades del epóxido (Bedard y Massey, 2006, Manahan, 2007).

En cuanto a la oxidación de proteínas al estar éstas, formadas por cadenas de aminoácidos, los RL alteran su estructura mediante diversas reacciones como daño a los enlaces insaturados, rotura de la cadena de polipéptidos, hidroxilación de anillos aromáticos, oxidación de grupos sulfhidrilo (-SH) y otros más, que se reflejan en la pérdida de la funcionalidad en el caso de las enzimas. Las hemoproteínas como la hemoglobina el radical  $O_2$  o el  $H_2O_2$  reaccionan con el hierro ( $FE^{2+}$ ), del grupo hemo para formar metahemoglobina producto de oxidación; el radical ( $O_2$ ) inhibe a la catalasa y el  $H_2O_2$  a la superóxido dismutasa (Holgado et al. 1994; Lushchak, 2007). En las proteínas al ser expuestas a radiaciones ionizantes experimentalmente, las cadenas laterales de aminoácidos se oxidan, en especial los residuos de cisteína y metionina, que son altamente sensibles a ser oxidados por las ERO y ERN; la oxidación de cisteína permite la reversibilidad de mezclas de disulfuros por la reacción con grupos tiol (-SH) de las proteínas y los tioles como el GSH (Berlett y Stadtman, 1997; Stadtman y Levine, 2003). Al alterarse el equilibrio tiol/disulfuro disminuye diversos efectos biológicos como alteraciones en la cinética de algunas enzimas (Andreu *et al.*, 2012; Nagy, 2013).

Chen et al. (2016), realizaron un estudio con 200 pollitos machos de un día se dividieron aleatoriamente en 4 grupos iguales de 50 cada uno y se alimentaron durante 21 días con 0.15, 0.3 y 0.6 mg de  $AFB_1$ /kg en la dieta y demostraron que las dietas indujeron estrés oxidativo, debido a las reducción en la actividad de la glutatión peroxidasa, la glutatión reductasa y la catalasa, la disminución del contenido de glutatión y hubo un aumento en el contenido de malondialdehído.

Lo anterior puede darse de forma aguda o crónica, dependiendo del tipo de aflatoxicosis que se trate al ser aguda los signos pueden ser: anorexia, depresión, ictericia, diarrea y fotosensibilización, hasta la muerte en animales el periodo puede variar entre 12 y 27 días tras el consumo del alimento contaminado. La exposición crónica a la  $AFB_1$  es la más frecuente, los signos en animales no son muy específicos, los reportados

son: reducción en la ganancia de peso, menor índice de conversión alimenticia, disminución de producción de huevos y leche e inmunodepresión (Juan *et al.* 2007).

El estrés oxidativo tiene la capacidad de activar diferentes factores de transcripción como el NF- $\kappa$ B, AP-1, p53, HIF-1 $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ ,  $\beta$  catenina / Wnt y Nrf2. La activación de estos factores de transcripción conduce a la expresión de más de 500 genes diferentes, como los de factores de crecimiento, citoquinas inflamatorias, quimiocinas, moléculas reguladoras del ciclo celular y moléculas antiinflamatorias (Reuter *et al.* 2010).

## **1.5 HÍGADO**

El sistema hepatobiliar en las gallinas consiste en el hígado, la vesícula biliar y los conductos biliares. El hígado presenta dos lóbulos, derecho e izquierdo. La parte anterior de cada lóbulo rodea el ápice del corazón. El lóbulo izquierdo en pollos y pavos se subdivide en una parte lateral y una parte medial. El lóbulo derecho se conecta con una rama de la vesícula biliar, en aquellas especies de aves que tienen una vesícula biliar, en su superficie dorsal, y este lóbulo está perforado por la vena cava caudal. Existen variaciones en la forma del hígado entre diferentes especies de aves.

La superficie externa del hígado está compuesta por una capa delgada de tejido conectivo denso denominada cápsula del hígado que está cubierta por una capa peritoneal de células mesoteliales aplanadas. El hígado aviar carece de la verdadera estructura lobular del hígado de los mamíferos porque carece de tabiques interlobulares. Los hepatocitos están dispuestos en láminas que tienen dos células de espesor en muchas especies de aves, incluidos los pollos y los pavos.

Los canalículos biliares se localizan entre los hepatocitos adyacentes, la parte biliar de los hepatocitos. Entre las láminas hepáticas están los sinusoides, la parte vascular de los hepatocitos. En las secciones histológicas, el hígado aviar aparece como una masa de láminas de hepatocitos entre los que se encuentran los sinusoides.

Las zonas de hepatocitos se reconocen, siendo la zona 1 la más cercana al tracto portal, la zona 3 la más cercana a la vénula hepática terminal y la zona 2 entre las zonas 1 y 3. El concepto clásico de lóbulo hepático de histología hepática coloca la vena central (vénula hepática terminal) en el centro con las láminas hepáticas irradiando a las zonas portales. El modelo de lóbulo es la base de los términos centrilobular y periportal (Scanes, 2015; Abdul-Aziz, Fletcher, y Barnes, 2016). La figura 3 muestra las partes más representativas del hígado aviar.

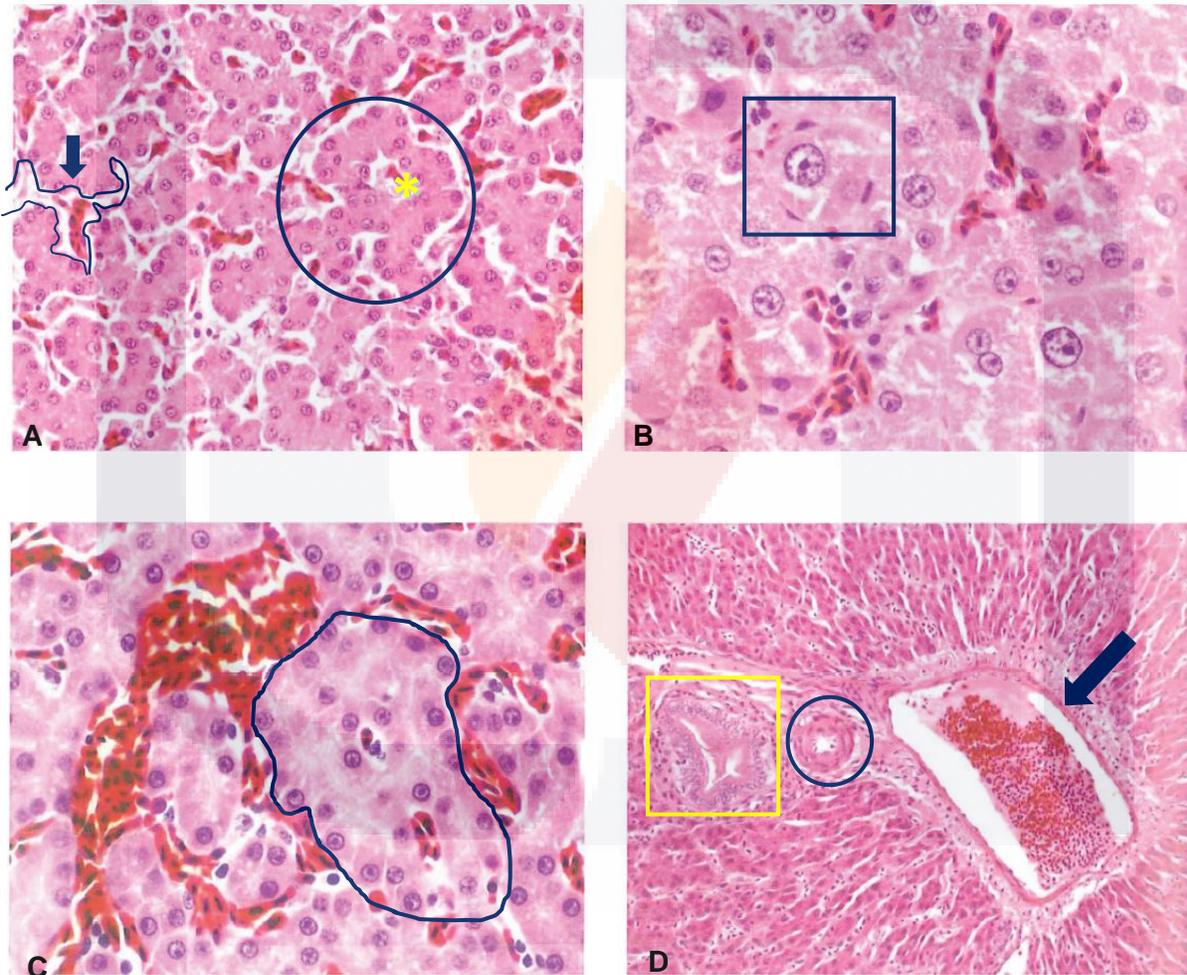


Figura 3. **Hígado, histología normal.** A. La flecha señala a un sinusoides hepático. El círculo encierra la organización característica de los hepatocitos aviares alrededor de un canaliculo biliar (asterisco). B. Dentro del cuadro se observa al centro el núcleo redondo de un hepatocito y dentro de él se observa el nucléolo. C. Se observa resaltada en azul, la típica organización en sabanas de

los hepatocitos aviares. D. Espacio porta o triada portal. El cuadrado amarillo contiene al conducto biliar. El círculo señala a la vena hepática y la flecha señala a la arteria hepática. Adaptada de (Abdul-Aziz, Fletcher, and Barnes 2016).

Los hepatocitos sintetizan sustancias como: albúmina, fibrinógeno, globulinas beta y alfa, lipoproteínas y colesterol. El glucógeno se sintetiza a partir de glucosa (glucogénesis), y se almacena en estos; la glucosa de estas reservas (glucogenólisis), es liberada conforme la demanda somática. Los lípidos y las vitaminas A, D, K y del complejo B se almacenan y liberan de manera similar (Banks, 1996).

El hígado desempeña un papel central en el procesamiento de carbohidratos, lípidos, aminoácidos y vitaminas de la dieta; en la síntesis y recambio de la mayoría de las proteínas plasmáticas; en la desintoxicación y excreción biliar de residuos endógenos y compuestos xenobióticos, también funciona como un órgano importante del sistema inmunitario innato, integrado en el complejo sistema de defensa contra macromoléculas extrañas. Como los trastornos hepáticos que tienen consecuencias de gran alcance, dada la dependencia de otros órganos de la función metabólica del hígado (Maxie, 2015).

Los compuestos tóxicos o biológicamente activos, se pueden producir en el organismo, ser inyectados o absorbidos por él. Algunos al ser procesados por el hígado pueden cambiar su toxicidad, reducir su actividad para facilitar su eliminación; sin embargo algunos pueden volverse más tóxicos después de ser metabolizados (Banks, 1996; Scanes, 2015), como el caso de la AFB.

## **1.6 RIÑONES**

El sistema urinario está formado por los riñones y los uréteres, ambos en par. Los riñones se encuentran a ambos lados de la columna vertebral y están incrustados en el sinsacrum fusionado (fosa renal). Los uréteres desembocan en la cloaca. Cada riñón tiene tres divisiones: craneal (anterior), media; y caudal (posterior). Los límites entre estas

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

divisiones no siempre se pueden diferenciar. La superficie exterior de las divisiones no es lisa sino que tiene pequeñas proyecciones, que representan los lóbulos renales. Los lóbulos renales, son la unidad arquitectónica de cada división, por lo que también se denominan unidades renales.

Numerosos lóbulos se distribuyen por todo el riñón. Un grupo de lóbulos que drenan en la misma rama secundaria de un uréter se llama lóbulo. Cada lóbulo tiene una región cortical amplia y una región medular estrecha en forma de cono (cono medular). La distinción entre corteza y médula no está bien definida en las aves en comparación con la clara distinción en los mamíferos. El número de regiones o pirámides medulares varía entre las especies y es mayor en las especies aviarias acuáticas.

El área cortical de cada lóbulo está compuesta por las nefronas que son muy compactas, los vasos sanguíneos, los túbulos de recolección inicial y pequeñas cantidades de tejido conjuntivo intersticial.

Cada nefrona está integrada por el glomérulo (corpúsculo renal), el túbulo contorneado proximal y el túbulo contorneado distal. Las nefronas en el riñón aviar son de dos tipos: con y sin asa de Henle. Las nefronas sin asa pertenecen al tipo reptiliano y constituyen el 70% o más de las nefronas. Las nefronas con asas de Henle son iguales a las que se encuentran en los mamíferos con la misma capacidad de concentrar la orina de flujo contra corriente hacia los túbulos colectores y los conductos colectores en los conos medulares. La sangre que alimenta los túbulos de las nefronas, los túbulos y conductos colectores y el tejido intersticial proviene de las arteriolas eferentes y del sistema renal central. Este doble suministro de sangre garantiza que el daño glomerular no cause daño a los componentes tubulares de las nefronas.

Los glomérulos de las nefronas del tipo de los reptiles son más pequeños con menos células mesangiales que los glomérulos de las nefronas del tipo de los mamíferos y están localizados más superficialmente en los lóbulos, ambos están formados por

células de soporte llamadas mesangio, asas capilares y epitelio visceral y parietal. Entre las capas visceral y parietal de la cápsula se encuentra el espacio capsular (espacio de Bowman). La superficie de los glomérulos (capa visceral) está cubierta por una sola capa de células irregulares, de forma casi cuboidal, que contiene núcleos grandes. El epitelio parietal de los glomérulos generalmente es escamoso. El epitelio de los túbulos proximales es más alto que el de los túbulos distales y tienen un borde de cepillo que es positivo a la tinción de ácido peryódico de Schiff (PAS), con facilidad es afectado por enfermedades y sustancias tóxicas, constituye un importante componente de resorción y secreción de la nefrona. Los túbulos distales tienen un epitelio cuboidal aplanado sin borde de cepillo.

Existe también el aparato yuxtglomerular (AJG), que es una región especializada donde la arteriola aferente está en contacto con el túbulo contorneado distal de esa nefrona. El AJG incluye la mácula densa, la región de células epiteliales alargadas o más grandes en esta zona de contacto de los túbulos contorneados distales, se cree que el AJG regula las tasas de filtración glomerular (Banks, 1996; Scanes, 2015; Abdul-Aziz, Fletcher, y Barnes 2016). En la figura 4 se resaltan los componentes del riñón.

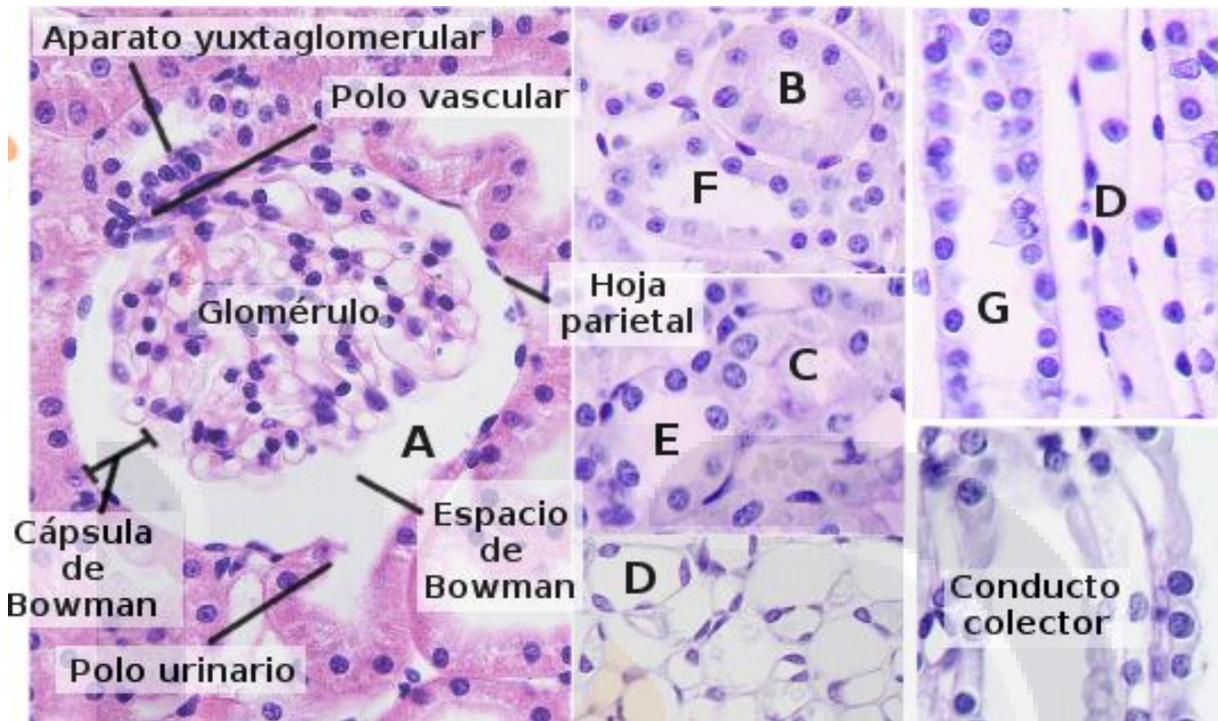


Figura 4. Riñón, histología normal. A: Corpúsculo renal; B, C: Túbulo proximal; D: Segmento delgado del asa de Henle; E: Túbulo distal; F: Túbulo distal; G: Túbulo colector. (Fuente: <https://mmegias.webs.uvigo.es/>).

El riñón es el órgano central involucrado en el mantenimiento de un ambiente extracelular constante en el cuerpo. Las funciones homeostáticas vitales realizadas por el riñón incluyen la excreción de productos de desecho, el mantenimiento de concentraciones normales de sal y agua en el cuerpo, la regulación del equilibrio ácido-base, la producción de una variedad de hormonas (eritropoyetina, renina, prostaglandinas), y el metabolismo de la vitamina D a su forma activa, 1,25 dihidroxicolecalciferol ( $1,25 (OH)_2D_3$ ) (Banks, 1996; Maxie, 2015).

### 1.7 CAMBIOS ANATOMOPATOLÓGICOS CAUSADOS POR LAS AFLATOXINAS

Las aflatoxinas al ser metabolizadas en el hígado, reaccionan formando epóxidos los que dan lugar a lesiones en órganos diana como: el propio hígado, el riñón, el bazo, el timo y la bolsa de Fabricio.

La exposición prolongada a pequeñas dosis de éstas ocasiona tasas de crecimiento reducidas, hepatomegalia moderada y palidez sin signología hepática significativa. Incluso en condiciones experimentales, algunos individuos pueden mostrar lesiones leves en el hígado, mientras que otros individuos, bajo los mismos niveles de exposición, mueren por insuficiencia hepática (Chen et al. 2013; Maxie, 2015).

### **1.7.1 Lesiones macroscópicas**

El hígado puede presentar atrofia, particularmente en animales jóvenes, presumiblemente por la inhibición mitótica o bien aumento de tamaño (hepatomegalia), palidez, hemorragias, principalmente sufusiones, los hígados pueden estar friables (Monson et al. 2015; Fan et al. 2015, Maxie, 2015; Hussain et al. 2016).

### **1.7.2 Lesiones microscópicas**

Las ERO contribuyen como mediadores primarios de lesión causadas por procesos isquémicos, tóxicos y reacciones antígeno-anticuerpo.

La lipoperoxidación producida por las ERO afecta a las membranas y organelos de las células renales y en especial del túbulo proximal con lo que dañan su integridad y la producción de energía; se daña el transporte de sustancias y iones a través de las células tubulares. También producen daño microvascular el que es mediado por sustancia pro-inflamatorias como las citosinas (Castillo et al. 2003). La activación de éstas activan procesos de señalización celular que inducen y propagan el daño renal, lo anterior puede verse en la aparición de patologías renales como la glomerulonefritis, nefritis intersticial, falla renal crónica, proteinuria y uremia (Galle, 2001; Pham-Huy, 2008).

Los hepatocitos lesionados pueden liberar cuerpos apoptóticos y en seguida activar a las células Kupffer, que al activarse promueven la respuesta inflamatoria y en ocasiones fibrogénicas, lo que lleva a un ciclo repetitivo de lesión hepática.

Los desencadenantes de la inflamación son amplios e incluyen infecciones microbianas y virales; exposición a alérgenos, radiación y químicos tóxicos; enfermedades autoinmunes y crónicas; obesidad; consumo de alcohol; el consumo de tabaco; y una dieta alta en calorías. Existen dos etapas de inflamación, inflamación aguda y crónica. La inflamación aguda es una etapa inicial de la inflamación (inmunidad innata), que se media a través de la activación del sistema inmunológico. Este tipo de inflamación persiste solo por un corto tiempo y generalmente beneficia al hospedero. Si la inflamación dura más tiempo, la segunda etapa de la inflamación, o inflamación crónica, se establece y puede predisponer al huésped a varias enfermedades crónicas, incluido el cáncer (Reuter et al. 2010).

Durante la inflamación, las células del sistema inmunitario, entre las que se encuentran los mastocitos y los leucocitos, se reclutan en el lugar de la lesión, lo que conduce a una exacerbación de la respiración celular debido al aumento del consumo de oxígeno que causa un aumento en la liberación y acumulación de ROS en el sitio del daño. La activación de las células estrelladas estimula la liberación de citoquinas proinflamatorias, causando una inflamación que inicia la fibrogénesis, la apoptosis y la necrosis de hepatocitos. Además, esta inflamación hepática favorece el reclutamiento de células inmunitarias e inflamatorias (De Andrade et al. 2015)

Una vez que las reacciones de biotransformación suceden en el hígado y si el aporte de AFB persiste, este puede verse lesionado por una infiltración de lípidos que si no se revierte causará necrosis hepática, esto como resultado de un transporte de lípidos alterado en lugar de un aumento de la biosíntesis de estos, en ese sentido, el daño a las mitocondrias observado con frecuencia en las células tratadas con AFB puede resultar en una disminución de la oxidación por estos organelos, con una acumulación de lípidos en el hígado (Fan et al. 2015; Juan et al. 2007 Mclean y Dutton, 1995), debido a la inducción de la peroxidación lipídica el daño oxidativo a los hepatocitos es directo y puede inhibir la

actividad de la fosfodiesterasa nucleótido cíclico en el cerebro, hígado, corazón y tejidos renales. Las aves son más sensibles que los mamíferos (Juan et al. 2007).

Histológicamente, los hígados afectados muestran correlación con los cambios macroscópicos observados y se presenta un aumento evidente en el tamaño de algunos hepatocitos y sus núcleos (megalocitosis), proliferación de conductos biliares y fibrosis periportal. El cambio graso en el hígado afectado es variable en grado y distribución, es decir puede encontrarse esteatosis de micro o macrovesicular, puede estar acompañado o no de necrosis centrilobulillar o difusa de este órgano, así como hemorragias (Ortatatli et al. 2005; Magnoli et al. 2011; Ma et al. 2012; Monson et al. 2015; Maxie, 2015) .

Ocasionalmente hay acumulación de pigmentos biliares en canalículos y hepatocitos cuando el daño es severo. A mayores dosis de aflatoxina, la mayoría de los hepatocitos periacinares desaparecen y son reemplazados por células inflamatorias, fibroblastos y canales vasculares primitivos (Magnoli et al. 2012).

Los cambios producidos se asemejan a los de la intoxicación con el compuesto alcaloide pirrolizidina. Esto puede atribuirse al hecho de que las AF y los alcaloides como la pirrolizidina inhiben la regeneración hepatocelular de tal manera que se forman nódulos, a medida que el hígado se atrofia. Se puede observar megalocitosis discreta en el epitelio tubular proximal del riñón (Dhanasekaran et al. 2009; Maxie, 2015).

También se ha reportado congestión de los sinusoides tubulares, engrosamiento de la membrana basal de los glomérulos, desarrollo inadecuado de las estructuras del epitelio glomerular y cambios degenerativos en las células del túbulo proximal, dilatación de los túbulos, degeneración de las células epiteliales tubulares renales, daño y pérdida del borde de cepillo, vacuolización de células plasmáticas, desprendimiento de tejido necrótico de los túbulos, formación de desechos tubulares y acumulaciones de infiltrado inflamatorio intersticial (Martínez de Anda et al., 2010; Ma et al., 2012).

## **1.8 MÉTODOS DE CONTROL DE LA AFLATOXICOSIS**

El impacto negativo de las aflatoxinas sobre la salud ha llevado al estudio de estrategias preventivas en la formación de toxinas en los alimentos, así como a eliminar, inactivar o reducir la biodisponibilidad de toxinas en productos contaminados. La contaminación puede prevenirse mediante buenas prácticas agrícolas, antifungicidas, ingeniería genética y control de las condiciones de almacenamiento (Razzaghi-Abyaneh, 2013).

La biodisponibilidad puede reducirse mediante la entero absorción, que se realiza añadiendo a la dieta compuestos adsorbentes inertes desde el punto de vista nutricional. Estos compuestos son secuestrantes de micotoxinas y evitan que la toxina se absorba en el tracto gastrointestinal de los animales, haciendo imposible su distribución a los órganos diana. Este método tiene un uso práctico limitado, debido a la seguridad de los agentes adsorbentes utilizados, y la dificultad en su aplicación a los alimentos humanos.

La eliminación o inactivación, es decir, la descontaminación, se puede lograr mediante métodos físicos, químicos y biológicos, los que deben presentar las siguientes características: inactivación completa, destrucción o eliminación de la toxina, la no producción de residuos tóxicos o que quede algún resto de ellos, el valor nutricional y palatabilidad de los alimentos no debe verse afectada, deben destruir las esporas de hongos y micelios para evitar la producción o reaparición de la toxina, no alterar significativamente las propiedades físicas del alimento, ser de uso fácil y de bajo costo (Juan et al., 2007; Fernandes et al., 2013).

### **1.8.1 Métodos físicos**

Los métodos de descontaminación basados en procesos físicos se clasifican en: extracción con disolventes, uso de adsorbentes, inactivación con calor y por irradiación.

Los primeros se usaban en el pasado en alimentos con mezclas de 95% etanol, 90% de acetona, 80% isopropanol o con el uso de hexano-metanol, entre otros. Sin embargo su uso se restringió debido a su alto costo y a su toxicidad.

Los adsorbentes en la alimentación de animales, han resultado como una opción que permanece vigente, debido a que provocan reacciones de aglutinación en el sistema digestivo entre las arcillas y las aflatoxinas, lo que disminuye la biodisponibilidad y toxicidad y evita la concentración de aflatoxina M<sub>1</sub> en vacas y cabras lactantes. Ejemplo de estos son los aluminosilicatos de calcio y sodio hidratados (HSCAS).

Los niveles de temperatura capaces de descomponer a las micotoxinas van de los 237°C a los 306°C. Sin embargo hay que tener en consideración que no sólo los niveles altos de temperatura son importantes si no que también deben considerarse factores como la humedad y el pH.

La radiación que se utiliza puede ser iónica (rayos X,  $\gamma$  y UV), o no iónica (ondas de radios, microondas, infrarrojas y luz visible), aunque los primeros son los más empleados en la inactivación de aflatoxinas. La luz UV, fotodegrada las aflatoxinas hasta en 12 productos menos tóxicos que éstas; los rayos  $\gamma$  son efectivos de 75% hasta 100% sin embargo dosis altas alteran la composición de los alimentos por ejemplo los cacahuates. Por último la radiación solar ha mostrado eficacia de un 16% a un 99% en la destrucción de aflatoxinas. En todos los casos los alimentos contaminados naturalmente presentan mayor resistencia a estos métodos que los artificialmente contaminados (Juan et al. 2007; Bovo et al. 2016).

### **1.8.2 Métodos químicos**

Dentro de estos métodos destaca la amoniación que se aplica a alimentos para consumo animal. Este ha sido ampliamente estudiado y muestra alta eficacia e inocuidad; ha sido empleado en países como Estados Unidos, Francia, Brasil, México, entre otros; y en

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

alimentos como el maíz, el cacahuate, las semillas de algodón y las harinas, lo han acompañado de alta presión/alta temperatura y presión atmosférica/temperatura ambiente. Algunos otros métodos estudiados y que son prometedores para el control de aflatoxinas son el uso de cloruro sódico durante el tratamiento térmico, el bisulfito sódico a diversas temperaturas, la ozonización y el uso del ácido propiónico y sus sales. La nixtamalización reduce hasta en un 90% las aflatoxinas, la que es la más recomendada adicionando el uso de altas temperaturas (Juan et al. 2007).

Sin embargo ambos métodos físicos y químicos presentan desventajas debido a que ninguno de los dos logra una remoción eficiente de las aflatoxinas, algunos tienen altos costos o al ser empleados en los productos alteran su composición (Fernandes et al. 2013).

### **1.8.3 Métodos biológicos**

La base de los métodos biológicos es la acción de microorganismos sobre las micotoxinas, los que pueden ser levaduras, hongos filamentosos, bacterias, algas, entre otros. El mecanismo de acción se basa en la competencia por nutrientes y espacio, interacciones y antibiosis, así como otros mecanismos. Estos métodos son prometedores, ya que muestran ser eficientes, específicos, costo/beneficio y amigables con el medio ambiente (Fernandes et al. 2013). Diversos estudios que se han llevado a cabo para comprobar la eficacia de microorganismos para degradar las aflatoxinas, como *Flavobacterium aurantiacum* B-184 que permite la degradación irreversible de micotoxinas en diversos alimentos (Juan et al. 2007).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) y levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* son las más estudiadas y muestran resultados prometedores (Fernandes et al. 2013; Hathout y Aly, 2014; Fan et al. 2015; Kim et al. 2017).

#### 1.8.4 Quimiopreención y antioxidantes

La quimiopreención es una estrategia prometedora para prevenir el cáncer, se define como el uso de sustancias naturales o sintéticas o su combinación para bloquear, revertir o retardar el proceso de múltiples etapas de la carcinogénesis. El estrés oxidativo y el daño inflamatorio del tejido se han asociado estrechamente con la carcinogénesis (Coulombe et al. 2005; Prawan, Kundu y Surh, 2005). Desde su descubrimiento se han encontrado e identificado un gran número de compuestos que pueden ejercer efectos quimiopreventivos, como: compuestos sintéticos y sustancias químicas naturales que se encuentran en la dieta. Los estudios de modelos animales realizados en el pasado dieron a conocer que los constituyentes de la dieta, no solo aportaban nutrientes, si no que podían afectar profundamente la aparición de cáncer en los animales. Los agentes quimiopreventivos se clasifican en dos grupos: agentes bloqueantes y agentes supresores.

Los agentes de bloqueo impiden que los compuestos productores de cáncer alcancen o reaccionen con sitios críticos en los tejidos diana. Los agentes supresores actúan después del ataque de agentes carcinógenos. Previenen la evolución del proceso neoplásico en células que de otro modo se convertirían en malignas. Algunos compuestos tienen ambos efectos. Los primeros pueden actuar previniendo la activación de los carcinógenos, mejorando la desintoxicación de estos o evitando su unión a órganos diana. El oltipraz fue uno de los primeros compuestos preventivos estudiado por su efectividad en la prevención del cáncer inducido por aflatoxinas (Wattenberg, 1996; Guarisco et al. 2008; Meyskens et al. 2016).

El Reglamento de Conformidad Europea del Parlamento Europeo en 2009, definió un nuevo grupo funcional de aditivos para piensos como "sustancias para reducir la contaminación de estos por las micotoxinas: sustancias que pueden suprimir o reducir la absorción, promover la excreción de micotoxinas o modificar su modo de acción".

Estos aditivos alimentarios pueden actuar reduciendo la biodisponibilidad de las micotoxinas, degradándolas o transformándolas en metabolitos menos tóxicos como: los agentes adsorbentes, que funcionan disminuyendo la biodisponibilidad de las micotoxinas mediante su inclusión en el pienso, lo que conduce a una reducción de la captación de éstas así como su distribución a la sangre y a los órganos diana, también se denominan agentes de unión, aglutinantes, o adsorbentes. El grupo de agentes biotransformadores como: bacterias, hongos o enzimas buscan la degradación de las micotoxinas en metabolitos no tóxicos (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria por sus siglas en inglés EFSA, 2009).

Esta clasificación deja fuera a las sustancias que no interactúan directamente con las micotoxinas, como, los agentes antioxidantes o inmunoestimulantes, porque no se consideran agentes detoxificantes, aunque tales compuestos pueden ser muy eficientes para reducir la toxicidad de las micotoxinas.

Los antioxidantes son un mecanismo de defensa de las células estos se clasifican en exógenos (se obtienen a partir de los alimentos), y los endógenos que son producidos en el organismo; los endógenos a su vez se clasifican en enzimáticos y no enzimáticos, dentro del grupo de los antioxidantes enzimáticos están algunos tioles (compuestos que contienen sulfhidrilo), como el glutatión peroxidasa (GPX) y reductasa (GST), hay otras enzimas como la catalasa y la superóxido dismutasa cuya función es la de interactuar con el anión  $O_2$ ,  $H_2O_2$  o los lipoperóxidos previenen la formación de el RL OH. (Zafarullah et al. 2003; Pham-Huy et al. 2008; EFSA, 2009; Birben et al. 2012 Maxie, 2015). Los antioxidantes no enzimáticos se clasifican de la misma manera y dentro de los endógenos se encuentra el glutatión reducido (GSH), la melatonina, el ácido úrico, los tioles de las proteínas plasmáticas, entre otros. Los exógenos son obtenidos de los alimentos o suplementos nutricionales como el ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),

los flavonoides, entre otros, (Willcox et al. 2004; Pham-Huy et al. 2008; Nimse y Pal, 2015).

El GSH es un tripéptido formado por cisteína, ácido glutámico y glicina con un grupo activo tiol (-SH) en la cisteína, se produce en mayor cantidad en el hígado. Se encuentra principalmente en su forma reducida y es convertida a su forma oxidada por la glutatión reductasa durante el estrés oxidativo, funciona como antioxidante debido a que estimula la acción catalítica de enzimas que neutralizan a los RL como la GPX y GST o por conjugación espontánea, neutraliza al radical OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y peróxidos de lípidos por la GPX y transforma a las vitaminas C y E a su forma activa (Jones et al. 2000; Qian et al. 2013).

Las glutatión transferasas son una familia de enzimas que participan directamente en la detoxificación de xenobióticos (sustancias exógenas, ajenas al organismo). Inactivan a los RL catalizando la reacción de esas sustancias con el grupo -SH del GSH, así neutraliza los sitios electrofílicos de los RL, aumentando su hidrosolubilidad; de esta manera los epóxidos, los hidroperóxidos orgánicos y los metabolitos oxidados son los sustratos de las GST. La transferencia del GSH a los compuestos electrofílicos es la forma principal de detoxificación de los intermediarios reactivos generados por las oxidases enzimas de la familia del CYP<sub>450</sub>, el hígado, los riñones, los testículos, el intestino y las glándulas suprarrenales poseen mayor actividad de éstas (Oakley, 2011).

### **1.9 AGENTES QUIMIOPROTECTORES**

La contaminación por AFB<sub>1</sub> en los alimentos es casi universal y, por tanto, prácticamente inevitable, las estrategias de quimiopreención dirigidas a reducir la toxicidad de AFB<sub>1</sub> en aves de corral y en otros animales han sido objeto de numerosos estudios. Se han evaluado varios quimiopreventivos en aves de corral para reducir los síntomas de aflatoxicosis. De hecho, debido a su sensibilidad, las aves de corral se han utilizado como modelos para el descubrimiento de los nuevos quimiopreventivos contra AFB<sub>1</sub> (Rawal, et

al. 2010), ya que no es posible la eliminación completa de está en alimentos para aves de corral, las interacciones dietéticas de estos y otros compuestos pueden reducir o prevenir las lesiones causadas por AFB<sub>1</sub> (Coulombe et al. 2005).

Los adsorbentes inorgánicos a base de arcilla, que evitan la absorción de AFB<sub>1</sub> en la circulación sistémica y que reducen su biodisponibilidad, han sido estudiados a fondo. La mayoría han sido incluidos en la dieta de pollos de engorda, por ejemplo los adsorbentes como la arcilla montmorillonita de calcio (0,5%, 0,25% y 0,125%) y zeolitas (1%) (Miazzo et al. 2000; Pimpukdee et al. 2004). El aluminosilicato cálcico sódico cálcico, al 0,25% y el 1% (Kubena et al. 1998; Ledoux et al.1999). La clinoptilolita adsorbente (15 g/ kg) proporcionó una mejoría moderada de la toxicidad hepática asociada a AFB<sub>1</sub> (degeneración hidrópica e hiperplasia biliar), en pollos de engorda (Ortatatli et al. 2005).

El hidroxitolueno butilado se ha probado en pavos y los resultados indican que este tiene propiedades quimiopreventivas las que se deben en parte, a su capacidad de inhibir la epoxidación hepática AFB<sub>1</sub> y aunque produce por si solo degeneración hidrópica, está es reversible y no parece causar efectos a largo plazo (Guarisco et al. 2008).

Se han usado también aglutinantes moleculares de toxina de arcilla (sílice, 512 g / kg), alúmina (209 g / kg) y otros componentes tales como óxido de titanio, óxido de manganeso, óxido de magnesio, óxido de calcio, óxido de potasio, ácido propiónico, ácido acético y carbón activado y los aglutinantes de toxina de nano-arcilla (montmorillonita y extracto de algas marinas), en pavos intoxicados con AFB<sub>1</sub>, mostrando mayor mejoría los que recibieron dosis de nano arcilla (Lala et al. 2016).

Los antioxidantes fenólicos como el hidroxitolueno butilado ha sido evaluado en pavos con buenos resultados (Coulombe et al. 2005).

El ácido linoleico conjugado en dosis de 2 y 4 g/kg de alimento por 42 días logro efectos protectores en el hígado de pollos de engorda intoxicados con AFB<sub>1</sub> (Denli et al.

2005). Se han probado plantas como *Zataria multiflora* en dosis de 20 g/kg<sup>-1</sup>, la que también redujo los daños observados en hígado (Makki et al. 2009).

El extracto de jengibre probado en ratas macho Wistar tratadas con dosis orales de 100 y 250 mg / kg diario más la administración de AFB<sub>1</sub> (200 mg / kg), durante 28 días redujo significativamente la toxicidad inducida por AFB<sub>1</sub> medida con marcadores séricos de daño hepático e histopatología. Además también mostró un efecto hepatoprotector significativo al reducir la peroxidación de los lípidos y al mejorar las actividades de las enzimas antioxidantes. Estos resultados indican que el extracto tiene un efecto protector potencial contra la hepatotoxicidad inducida por AFB<sub>1</sub> (Vipin et al. 2017).

### **1.9.1 *Saccharomyces cerevisiae***

*Saccharomyces cerevisiae* (SC), es la levadura mejor conocida y la más comercializada, las cepas son ampliamente utilizadas en la producción de bebidas alcohólicas y en la industria panadera. Su efecto ha sido ampliamente estudiado y se ha observado que a un pH de 3.37, a una temperatura de 37° y durante 15 minutos en contacto con AFB<sub>1</sub>, remueve de un 2.5% a 49.3%, dependiendo de la concentración de la toxina en el medio y el producto de la levadura usado (Bovo et al. 2016; Fernandes et al. 2013).

Las paredes celulares derivadas de la levadura de SC se usan como un agente de adsorción de micotoxinas en la dieta (Wu et al. 2009), simulan al sistema inmune y compiten por los sitios de unión en los enterocitos inhibiendo la colonización intestinal por los patógenos.

De un 80% a 90% de las paredes celulares de esta levadura se componen casi exclusivamente de polisacáridos, presenta una capa interna compuesta de β-D-glucanos, los que forman una red compleja altamente polimerizada de β-(1,3)-D-glucanos, ramificados como β—(1,6)-D-glucanos, que tienen un bajo nivel de polimerización. Esta capa interna está unida de manera firme a la membrana plasmática por cadenas lineales

de quitina, que juegan un papel importante en la insolubilidad de toda la estructura y el empaquetado de las ramificaciones de  $\beta$ -D-glucanos, ambas características afectan la plasticidad de la pared celular. La capa externa de la pared de la levadura está formada por manoproteínas, que desempeñan una labor importante en el intercambio con el ambiente exterior; esta estructura varía de acuerdo a las cepas y condiciones del medio ambiente, además favorece su habilidad para unirse a las micotoxinas (EFSA, 2009; Mézes et al. 2010; Bovo et al. 2016).

### **1.9.2 N-Acetilcisteína**

La N-acetilcisteína (NAC) es un tiol, precursor de la L-cisteína y el glutatión reducido, con acción mucolítica, también es una fuente de grupos sulfhidrilo en las células y por lo tanto eliminador de radicales libres, ya que interactúa con ERO, como el OH y el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En humanos tiene diversos usos por ejemplo en enfermedades como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, infecciones por virus de inmunodeficiencia humana (VIH), toxicidad hepática inducida por acetaminofén, paracetamol y metálica (Zafarullah et al. 2003; Samuni et al. 2013; El-saad et al. 2016).

Debido a sus características es considerada como un quimiopreventivo del cáncer, su eficacia ha sido demostrada en varios experimentos con animales. La administración oral de NAC impide por completo la inducción de diversas alteraciones del ADN en células de pulmón de rata. Además, de que inhibe la formación *in vivo* de aductos carcinógenos con el ADN y evita el desarrollo de neoplasias en roedores. Por lo tanto, numerosos estudios indican que NAC puede prevenir la mutaciones y el cáncer (Oikawa et al. 1999).

Algunos de estos mecanismos son: la inducción de inhibidores de quinasa dependientes de ciclina y su capacidad para detener el ciclo celular en la etapa G<sub>1</sub>; Estas propiedades son independientes del aumento de glutatión. Aparte de estos estudios limitados que muestran actividades anticancerosas de NAC, la mayoría de las

investigaciones, concluyen que está inhibió la apoptosis de las células cancerígenas bajo diversas condiciones. Esta propiedad se ha utilizado para bloquear la neurotoxicidad y la apoptosis inducida como efecto secundario de los agentes anticancerígenos como el cisplatino (Dickey et al. 2009).

Un estudio reciente demostró que la NAC en la dieta reduce en un 50% el 8-hidroxi-guanina (un biomarcador del daño oxidativo al ADN), y el potencial mutagénico del ADN oxidado en ratones, sin embargo también indujo cambios estructurales adicionales potencialmente deletéreos que afectan la autenticidad de la síntesis del ADN. Por lo tanto, NAC parece tener algunos beneficios para ciertos cánceres como terapia adyuvante, pero también puede tener efectos secundarios, su administración en ratas reduce la producción de fibronectina asociada a la di-metilnitrosamina (un agente profibrotico), y la fibrosis asociada a la toxicidad, mientras que su coadministración con cadmio tóxico disminuyó la peroxidación lipídica y proporcionó protección contra la toxicidad hepática y renal, lo que sugiere el papel del estrés oxidativo en la toxicidad (Zafarullah et al. 2003; Banerjee et al. 2009; Dickey et al. 2009; Abdel-Wahab et al. 2017).

### **1.9.3 Etoxiquina**

La etoxiquina (6-etoxi-2,2,4-trimetilquinolina-1,2-dihidro, EQ), es un compuesto que se caracteriza por su alta actividad antioxidante se utiliza principalmente en alimentos para animales como prevención de la formación de peróxidos y reduce la rancidez de las grasas, lo que se debe a su estructura química y características de esta molécula, y a los productos de oxidación que como el compuesto original, se caracterizan por una alta actividad antioxidante, se incluye comúnmente en las raciones de aves de corral para mejorar la pigmentación de la piel y los huevos, así como en la dieta de vacas lecheras debido a su capacidad para aumentar la estabilidad oxidativa de la leche (Leong y Brown, 1992; De Koning, 2002; Blaszczyk y Skolimowski, 2015).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Su actividad antimutagénica se observó en estudios realizados en ratones, ratas y hámsters chinos tratados con el fármaco anticancerígeno ciclofosfamida. También hubo informes que mostraron la capacidad de la EQ para modificar la respuesta a diferentes carcinógenos. Se le dio EQ a animales, lo que redujo el número de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y mutaciones letales dominantes inducidas por ciclofosfamida y se lo considera como un agente quimioprotector (Hayes et al.,2000; Zain, 2011; Błaszczyk y Skolimowski, 2015).

Se estableció una ingesta diaria admisible (IDA) de 0.005 mg/kg de peso corporal para la EQ y varios metabolitos en la Reunión conjunta de la Organización Alimentaria y Agrícola y la Organización Mundial de la Salud sobre Residuos de Plaguicidas (JMPR, por sus siglas en inglés) sobre la base de los signos clínicos observados en perros expuestos a 2,5 mg EQ/kg de peso corporal en la alimentación (Bernhard et al. 2018); hay reportes de patologías relacionadas con su consumo. Las lesiones se observan en el hígado, el riñón, la tiroides y el aparato reproductor, hay efectos teratógenos y carcinogénicos, reacciones alérgicas y anormalidades de la piel y del pelo, a dosis de 6500 mg etoxiquina/kg de alimento (Leong y Brown 1992; Błaszczyk y Skolimowski, 2015).

Estudios realizados en ratas Fischer 344 con el antioxidante EQ, seguido de la administración de aflatoxina AFB<sub>1</sub> para examinar el efecto del antioxidante sobre hígado y riñón, con una inclusión del 0.5% en la dieta impidió completamente la formación de lesiones hepáticas preneoplásicas inducidas por AFB<sub>1</sub> según la histopatología y marcadores tumorales. Los resultados fueron favorables en el hígado, sin embargo la EQ causó daño severo al riñón (degeneración glomerular crónica), de tal forma que la EQ parecía acelerar el proceso de envejecimiento. Además, los túbulos se observaron hiperplásicos y con cambios sugerentes de neoplasia, lo que sugiere que la EQ puede ejercer un efecto cancerígeno en el riñón (Manson et al. 1987).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente la aflatoxicosis y la manera de prevenirla es objeto de gran número de estudios científicos, debido en primera al mecanismo de biotransformación de las aflatoxinas, que inducen procesos oxidativos que no sólo se desarrollan en las aves si no también son comunes a los humanos, (Maldonado et al., 2010), de ahí que un modelo biológico como estas permita la evaluación de diversos agentes y su capacidad para evitar lesiones así mismo la avicultura tiene una gran importancia económica, el problema surge debido a que el insumo agrícola principal empleado para la alimentación de las aves son los granos como: el maíz, el mijo, el sorgo, entre otros. Estos últimos están expuestos a múltiples factores que les causan problemas de inocuidad, el de mayor impacto es la contaminación con diversos hongos y sus metabolitos secundarios como las micotoxinas que representa una problemática grave a nivel mundial.

Estudios realizados recientemente demuestran la afectación de parámetros productivos en aves por ejemplo menor producción de huevos, disminución en la ingesta de alimento y grosor de cascara, y mayores residuos de AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub> y AFM<sub>1</sub> en comparación con el grupo controles. Además, se ha comprobado la sinergia entre la AFB<sub>1</sub> y la zeralenona (ZEA) y que influyen directamente en la producción de huevos y la ingesta de alimento, además de que se han detectado en el huevo (Iqbal et al. 2014; Anfossi et al. 2015; Jia et al. 2016; Zhou et al. 2017).

Las micotoxinas se han detectado en piensos de origen vegetal y alimentos destinados para consumo humano y animal, especialmente en cereales, semillas y forrajes, lo que las convierte en una gran amenaza para la salud de ambas especies. Además generan pérdidas económicas enormes anualmente en la industria alimentaria y la ganadería (Ji, et al. 2016), superando los 1.6 billones de dólares en los Estados Unidos (Fernandes, 2013). Las micotoxinas ingresan a la cadena alimentaria humana al consumir

carne u otros productos animales como leche y queso entre otros o bien directamente los cereales contaminados (Iqbal et al., 2017).

Actualmente, se han identificado más de 300 micotoxinas, las mayor estudiadas son las que han demostrado ser carcinógenas o tóxicas. Las aflatoxinas (AFs), el desoxinivalenol (DON), la ZEA, fumonisinas y la ocratoxina A (OTA), se consideran las más importantes económicamente por su alta prevalencia y efectos negativos significativos en el rendimiento animal (Li et al. 2014; Ji, et al. 2016), ya que su biotransformación en el organismo implica daños a órganos como el hígado y riñón.

Lo que permite el uso de agentes quimiopreventivos que eviten el daño. En este contexto podemos plantearnos que la ingestión dietética de etoxiquina, *Saccharomyces cerevisiae* o N-acetilcisteína evitan las lesiones en el hígado y riñón de gallinas de postura provocadas por el consumo alimenticio crónico de aflatoxinas y que el grado o severidad de las lesiones en el hígado y riñón de gallinas de postura provocadas por el consumo alimenticio crónico de aflatoxinas permite evaluar el efecto protector de la ingestión dietética de etoxiquina, *Saccharomyces cerevisiae* o N-acetilcisteína.

## **2.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN**

La ingestión dietética de etoxiquina, *Saccharomyces cerevisiae* o N-acetilcisteína atenúa las lesiones microscópicas en el hígado y los riñones causadas por consumo alimenticio crónico de aflatoxinas en gallinas de postura.

## **2.2 OBJETIVO**

### **2.2.1. Objetivo general**

Evaluar la capacidad de agentes quimiopreventivos (etoxiquina, *Saccharomyces cerevisiae* y N-acetilcisteína), para evitar las lesiones microscópicas en hígado y riñones provocadas por el consumo crónico de diferentes niveles de aflatoxinas en gallinas de postura.

### **2.2.2 Objetivos específicos**

Demostrar el efecto tóxico que inducen las aflatoxinas a diferentes dosis y tiempo en el hígado y los riñones de gallinas de postura.

Evaluar el efecto protector de etoxiquina ante el consumo crónico de aflatoxinas por gallinas de postura mediante la identificación del grado y distribución de las lesiones histopatológicas en hígado y riñones.

Evaluar la eficacia del efecto protector de N-acetilcisteína ante el consumo crónico de aflatoxinas por gallinas de postura mediante la identificación del grado y distribución de las lesiones histopatológicas en hígado y riñones.

Evaluar el efecto protector de *Saccharomyces cerevisiae* contra del consumo crónico de aflatoxinas por gallinas de postura, mediante la identificación del grado y la distribución de las lesiones histopatológicas presentes en el hígado y los riñones.

### **2.3 JUSTIFICACIÓN**

La avicultura es la actividad más importante en la producción pecuaria en México, que ocupa el sexto lugar como productor de huevo a nivel mundial, además es el mayor consumidor de este mundialmente (19.2 Kg *per cápita*).

La contaminación por aflatoxinas en los alimentos es de distribución mundial, difícil de evitar y erradicar, ya que los procedimientos de control empleados directamente sobre los alimentos no son del todo efectivos y afectan la calidad de estos.

Por lo anterior se ha recurrido al estudio de múltiples estrategias para evitar o reducir el daño tóxico y la baja en la productividad de aves de corral y otros animales de producción a causa de las aflatoxinas; la estrategia que actualmente presenta mayor potencial, por los resultados observados en diversos estudios es la quimioprevención.

Los beneficios de la quimioprevención han sido evaluados y probados en numerosos estudios principalmente en aves de engorda, debido a la sensibilidad que estas presentan ante las aflatoxinas y se han convertido en los modelos idóneos para el descubrimiento de nuevos agentes quimiopreventivos efectivos contra la aflatoxicosis.

Las interacciones de estos y otros compuestos en la dieta pueden reducir o prevenir las lesiones causadas por las aflatoxinas.

Esta investigación establecerá por medio de histopatología que quimiopreventivo (etoxiquina, N-acetilcisteína o *Saccharomyces cerevisiae*), logra evitar las lesiones causadas por el consumo crónico de aflatoxinas y permitirá valorar su eficacia quimioprotectora en la prevención de dichas lesiones, lo que se reflejará en la mejora de la salud y parámetros productivos en aves de postura con consumo crónico de aflatoxinas.

Los compuestos están disponibles en el mercado mundial, son de bajo costo y su uso seguro se ha evaluado ampliamente, ya que poseen la capacidad de prevenir la progresión de lesiones hepato-renales en aves de postura causadas por la aflatoxicosis crónica. Lo que permitirá implementar su uso en las explotaciones avícolas enfocadas en la producción de huevo para consumo directo, reduciendo el impacto negativo sobre su economía y productividad.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 LUGAR DE ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en la Posta Zootécnica perteneciente al Centro de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Autónoma de Aguascalientes con ubicación en el municipio de Jesús María, Aguascalientes, de coordenadas 21°57'40" al Norte y 102°20'36" al Oeste, 1880 msnm de elevación, 17 °C de temperatura media anual y precipitación anual de 531 mm, la que es estacional (verano), con clima estepario, vientos dominantes alisos con dirección suroeste-noroeste en verano y noroeste-sureste en una parte del otoño.

#### 3.2 MATERIAL BIOLÓGICO

Las 240 aves de la línea Hy-line W36 usadas en este trabajo fueron adquiridas con edad de un día se mantuvieron y fueron criadas bajo procedimientos zootécnicos estándar, se colocaron en jaulas con calefacción manual (FASS, 1999; Hy-Line International, 2007).

Posteriormente, las gallinas se mantuvieron en jaulas de postura individuales en la Unidad de Gallinas ponedoras de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA). La dieta base, utilizada fue elaborada en la Fábrica de Alimentos UAA, de acuerdo a las recomendaciones de la NRC (1994), Tabla 1, sin coccidiostatos, antibióticos o promotores de crecimiento.

Tabla 3. Dieta a las que les sometió a las aves

Componentes de la dieta base <sup>1</sup> Ingredientes <sup>2</sup>	Contenido (%)
Sorgo	56.8
Harina de soya	21.5
Gluten de maíz	4.0
Aceite de soya	3.5
Carbonato de calcio (CaCO <sub>3</sub> )	9.2
Premezcla de vitaminas	2.5
Premezcla de minerales con minerales	2.5

<sup>1</sup>2,940 kcal/kg of ME, 17.5% CP.

<sup>2</sup>Fue añadido a la dieta base maíz con aflatoxinas para tener una dieta con 0.0, 0.5, 1.0, o 1.5 mg/kg.

### 3.2.1 Contaminación del maíz

La contaminación del maíz se realizó utilizando dos cepas tóxicogénicas de *Aspergillus flavus* (Cuautitlán y Tamaulipas; a través del método de Shotwell et al. 1966, adaptado por Moreno-Martínez et al. 2000). El cultivo fúngico se hizo crecer en medio de agar papa-dextrosa por 18 días. Luego, se prepararon 5.0 ml de inóculo (1 x 10<sup>7</sup> esporas / ml en 5.0 ml de aceite mineral, 1.0%), y se agregaron a 100 g de maíz, la humedad se ajustó a 15.0% y se colocó en un frasco cerrado, se mantuvo en una estufa de incubación (29 ° C), por 14 días en condiciones estériles.

La concentración de AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> y AFG<sub>2</sub> se midió utilizando tubos de extracción en fase sólida (Supelclean LC-CN, Supelco Inc., Bellefonte, PA), y el eluato extraído se derivó de acuerdo con el método oficial AOAC 990.33 por HPLC con detección de fluorescencia (bomba binaria Varian ProStar y detector de fluorescencia Varian, FP 2020, Varian Associates Inc., Victoria, Australia; columna Supelcosil HPLC LC-18, Supelco Inc.; Scott, 1995). Los siguientes porcentajes se obtuvieron en maíz contaminado: 88.1 ± 13.2, 9.9 ± 1.4, 1.5 ± 0.08 y 0.5 ± 0.02 de AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> y AFG<sub>2</sub>, respectivamente. En la dieta base no se tuvieron niveles detectables de AFs (límite

de detección <20 µg / kg). El maíz contaminado se agregó a la dieta base con las concentraciones de AFs seleccionadas; antes de comenzar.

El experimento, el control y las dietas enteras contaminadas se confirmaron mediante HPLC (Scott, 1995). La media de FA y la desviación estándar de la concentración final se calcularon como  $0.00 \pm 0.00$ ,  $0.46 \pm 0.06$ ,  $0.98 \pm 0.13$  y  $1.53 \pm 0.15$  mg de AF/kg de alimento, respectivamente. Las aves fueron criadas de los meses octubre a diciembre de 2007 y fueron sometidas a los tratamientos que se indican en la Tabla No. 3, a partir de enero de 2008 y culminó en mayo de 2009.

Las aves fueron sacrificadas en cinco fechas diferentes que correspondieron al primer día de edad (0 semanas de intoxicación), 27 semanas de edad (14 semanas de intoxicación), 31 semanas de edad (20 semanas de intoxicación), 59 semanas de edad (46 semanas de intoxicación) y 85 semanas de edad (72 semanas de intoxicación).

### **3.2.2 Declaración ética**

Las gallinas fueron sacrificadas mediante una sobredosis de pentobarbital de sodio según las directrices AVMA (American Veterinary Medical Association), edición 2007, para la eutanasia de los animales.

### **3.3 QUIMIOPROTECTORES**

Fueron empleados los productos Diamond V XP™ Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*), de aspecto físico granuloso y color marrón, ofertado para mejorar la digestión y aumentar la eficiencia alimenticia, específicamente desarrollado para su uso en nutrición animal (<https://speerstra.com/en/product/diamond-v>).

Medio Acetil Cisteína (N-Acetilcisteína) marca ADYFARM® en polvo de color blanco cristalino, ofrecido como activo con propiedades mucolíticas. Utilizada en el tratamiento sintomático de afecciones respiratorias en los que se produce una secreción excesiva de moco (<http://adyfarm.mx/veterinaria/>).

Dresquin 66 (Etoxiquin 66%) (Etoxiquina), marca Dresen Química, es un polvo fino y de color café oscuro, la línea es ofrecida como alternativa para el control de la oxidación de grasas, aceites, vitaminas y pigmentos, ideal para el control de los radicales libres originados por la reacción del oxígeno con los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados y poli-insaturados, su uso está regulado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), por sus siglas en inglés Food and Drug Administration (<https://dresen.com.mx/ver2/index.php/antioxidantes/dresquin>)

Para la intoxicación de las aves con las aflatoxinas así como la inclusión de los quimiopreventivos, el que se muestra en la Tabla 3:

Tabla 4. Diseño experimental. Se representan las concentraciones de AFs en 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 mg/kg de alimento. La etoxiquina se usó en dosis de 500 mg/kg de alimento. *S. cerevisiae* en dosis de 5.0 g/kg de alimento y N-acetilcisteína equivalente a 800 mg/kg pc.

Aflatoxinas	<i>S.cerevisiae</i>	Etoxiquina	N-Acetilcisteína
Control	Sc	EQ	NAC
0.5 AFs	Sc + 0.5 AFs	EQ + 0.5 AFs	NAC + 0.5 AFs
1.0 AFs	Sc + 1.0 AFs	EQ + 1.0 AFs	NAC + 1.0 AFs
1.5 AFs	Sc + 1.5 AFs	EQ + 1.5 AFs	NAC + 1.5 AFs

Las aves se repartieron de manera aleatoria formando 16 grupos experimentales de 30 aves cada uno la Tabla 4, lo ejemplifica. Se uso un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos, comparando dos niveles de cada uno de los tres quimioprotectores contra los cuatro niveles de las AFs en cinco períodos de muestreo.

Tabla 5. Tratamientos a los que se sometieron las aves.

No.	Grupo	Tratamiento	AFs mg/kg	Sc g/kg	NAC mg/kg pc	EQ mg/kg
1		Control	0.00	0.0	0.0	0.0
2	AFs	AFs 0.5	0.50	0.0	0.0	0.0
3		AFs 1.0	1.00	0.0	0.0	0.0
4		AFs 1.5	1.50	0.0	0.0	0.0
5		Sc	Sc + 0.0 AFs	0.00	5.0	0.0
6		Sc + 0.5 AFs	0.50	5.0	0.0	0.0
7		Sc + 1.0 AFs	1.00	5.0	0.0	0.0
8		Sc + 1.5 AFs	1.50	5.0	0.0	0.0
9	NAC	NAC+ 0.0 AFs	0.00	0.0	800	0.0
10		NAC + 0.5 AFs	0.50	0.0	800	0.0
11		NAC + 1.0 AFs	1.00	0.0	800	0.0
12		NAC + 1.5 AFs	1.50	0.0	800	0.0
13	EQ	EQ+ 0.0 AFs	0.00	0.0	0.0	500
14		EQ + 0.5 AFs	0.50	0.0	0.0	500
15		EQ + 1.0 AFs	1.00	0.0	0.0	500
16		EQ + 1.5 AFs	1.50	0.0	0.0	500

De Luna et al., 2009

Las aves fueron criadas de los meses octubre a diciembre de 2007 y fueron sometidas a los tratamientos antes mencionados a partir de enero de 2008 y culminando en mayo de 2009. Las aves fueron sacrificadas en cinco fechas diferentes que correspondieron al primer día de intoxicación (0 semanas de intoxicación), a las 27 semanas de edad (14 semanas de intoxicación), 31 semanas de edad (20 semanas de intoxicación), 59 semanas de edad (46 semanas de intoxicación) y 85 semanas de edad (72 semanas de intoxicación).

Se realizó la necropsia de las 240 aves, los tejidos como el hígado y los riñones fueron muestreados, tomando el lóbulo hepático derecho y el riñón derecho (1 cm<sup>3</sup>); se conservaron en una solución fijadora (100 mL de formaldehído al 37%, 900 mL de agua destilada, 4.0 g/L de NaH<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.4), hasta su procesamiento, (De Luna *et al.* 2009).

### 3.4 DISEÑO GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN

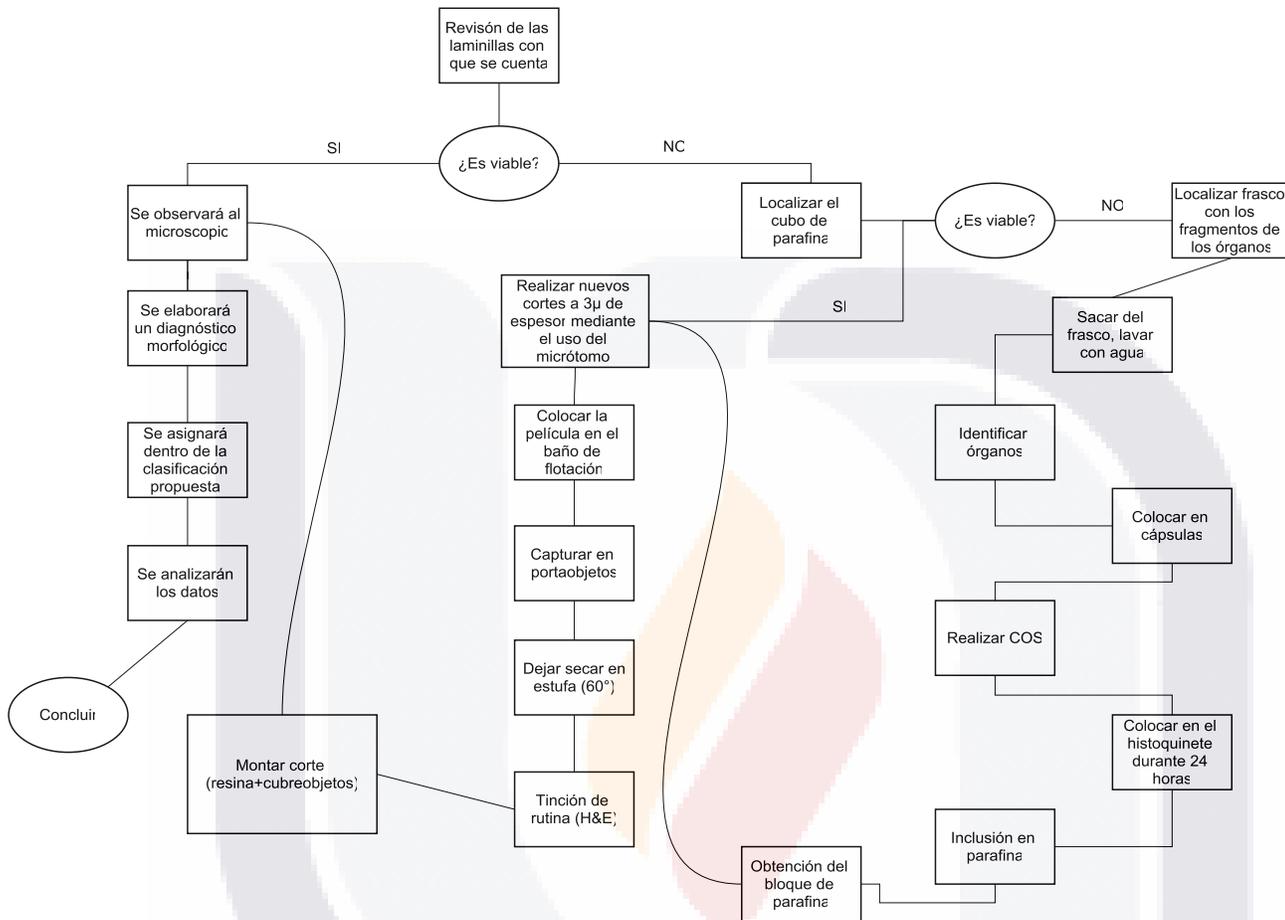


Figura 5. Flujograma de las actividades a realizar. (Fuente: Elaboración propia).

La presente investigación se realizó siguiendo los criterios que se señalan en la Figura 5, por tratarse de un estudio ciego.

### 3.5 EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL HÍGADO Y LOS RIÑONES

Se realizaron los primeros preparados histológicos (laminillas) por De Luna *et al*, 2009, las laminillas fueron observadas durante la primera fase de este trabajo, haciendo un total de 1176 laminillas vistas (datos no mostrados).

Para poder realizar una interpretación uniforme y significativa de las lesiones presentes en las laminillas se optó por repetir las en su totalidad, por lo que siguiendo el flujograma de actividades planteado, se localizaron los frascos con los fragmentos de los órganos fijados en formol al 10% para verificar su viabilidad (Figura 5). Del hígado y los riñones se cortaron fragmentos de aproximadamente 1cm<sup>3</sup>, se colocaron las cápsulas de para ser introducidas en el procesador automatizado de tejidos Sakura Modelo RH-12EP por un período de 14-16 h, según el esquema de procesamiento nocturno (Prophet, 1995).

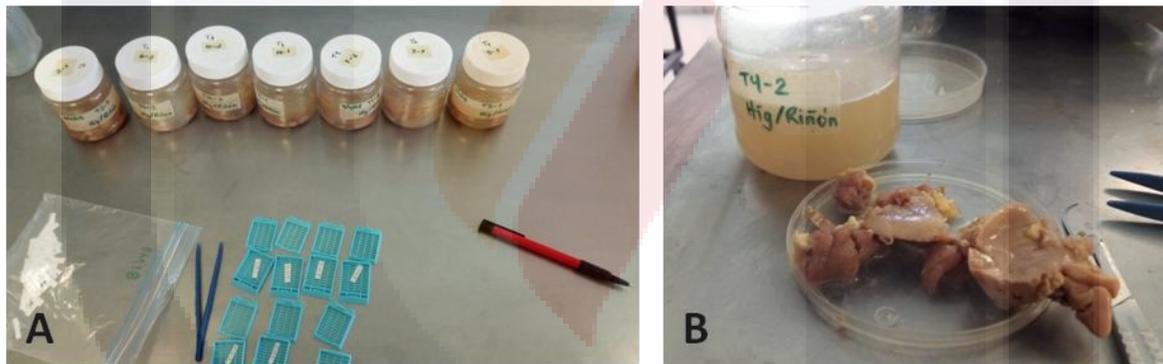


Figura 6. Frascos con los órganos en formol al 10%. A. Se observan las cápsulas en color azul donde se colocaron los fragmentos de los órganos para posteriormente seguir con la técnica histológica, el papel en su interior contiene la identificación de cada muestra. B. Fragmentos de hígado y riñón.

Posteriormente se realizaron los cortes a 2  $\mu$ m de espesor mediante el uso del Micrótopo Leica Modelo RM2125RTS, para ser teñidas mediante la técnica manual de coloración Hematoxilina-Eosina (H&E) (Prophet, 1995).

La repetición de las laminillas se realizó en el laboratorio de patología de la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Autónoma de

Zacatecas. La parte de la técnica histológica asesorada por una histotecnóloga certificada; la interpretación de lesiones se realizó a ciegas por una patóloga certificada de dicho laboratorio, durante el período de tiempo del 9 de abril al 31 de mayo de 2018 y posteriormente del 3 al 28 de septiembre de 2018.

Las fotomicrografías fueron tomadas a 40x, 100x y 400x, con un fotomicroscopio (Primo Star Carl Zeiss, AxioCam ERc 5s Rev.1-2, Zeiss, Jena, Alemania), y procesadas con el software de edición Blue ZEN 2.3 (Zeiss, Jena, Alemania). Se obtuvo un archivo fotográfico de 3444 fotomicrografías de los cortes del hígado y el riñón.

### **3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las datos obtenidos de la observación de los preparados histológicos de el hígado y los riñones correspondientes a los 16 tratamientos, con el efecto de los tres quimioprotectores, las cuatro dosis de AF (0.0, 0.5, 1.0, 1.5) y el tiempo (0, 14, 20, 46, 72 semanas de intoxicación), fueron capturados y ordenados en una hoja electrónica de Microsoft Excel®.

#### **3.6.1 Datos cuantitativos**

Las lesiones observadas en los cortes histológicos de hígado (240 laminillas, 1 laminilla/ave), se catalogaron con la clasificación de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), según lo sugerido por Brunt et al. 1999, para valorar la gravedad y la distribución de la esteatosis y la inflamación intra-acinar o portal, para fines prácticos también se empleo en la asignación de gravedad de la nefritis.

En esta clasificación se analizaron diez variables histológicas comúnmente descritas en la NASH para determinar cuáles de ellas fueron significativas para la actividad necroinflamatoria de las diez variables histológicas descritas se adoptaron cuatro para este estudio:

1. La esteatosis macrovesicular se calificó de 0 a 3 según el porcentaje de hepatocitos en la biopsia involucrada (0 es ninguno; 1 es de hasta el 33%; 2 es de 33 a 66%; 3 es de .66%); Se observó la distribución zonal de la esteatosis y la presencia de esteatosis microvesicular.

2. Se evaluó la localización zonal del lóbulo hepático y el desorden hepatocelular, y se realizó una estimación de la gravedad (leve, marcada) en función de la cantidad de hepatocitos que muestran este cambio.

3. La inflamación intraacinar (lobular) se clasificó de 0 a 3 según los focos inflamatorios por 20x con un ocular 20x (0; 1 es 1 a 2/20x; 2 es hasta 4/20x; 3 es .4 / 20x); Los componentes celulares de la inflamación (leucocitos polimorfonucleares, linfocitos y otras células mononucleares).

4. La inflamación del tracto portal se calificó como ninguna, moderada y grave (0 –3); Se observaron tipos de células inflamatorias (linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos).

Ortatatli et al. en (2005), realizó otra clasificación similar a la anterior descrita que clasifica las variables en:

Degeneración hidrópica/o esteatosis leve, moderada o grave (hígado)

Proliferación de ductos biliares (hígado)

Fibrosis periportal (hígado)

Degeneración tubular (riñón)

La interacción con la EQ, la NAC y el Sc se consideró positiva cuando en el hígado y el riñón no se encontró presencia de lesión.

Los datos se sometieron al procedimiento de tabulación cruzada, y la prueba de independencia usada fue chi-cuadrada para comparar las frecuencias esperadas y observadas, si  $p < 0.05$  implicará una dependencia significativa entre las columnas y las filas.

A los datos de las variables se les realizó también ANDEVA con un solo factor utilizando el procedimiento de modelos lineales generales en el Software estadístico STATGRAPHICS Plus for Windows (version 5.1. Statistical Graphics Corp. 2006). Cuando hubo diferencias significativas en el ANDEVA, las medias se compararon con la prueba LSD protegida de Fisher (Snedecor y Cochran, 1967). Se consideró que había significancia estadística cuando  $p < 0.05$ .

### 3.6.2 Modelo estadístico

El modelo estadístico que se siguió para evaluar el diseño completamente al azar fue:

$$\gamma_j = \mu + \tau_j + \varepsilon_j \quad j = 1, 2, \dots, t$$

Para analizar el arreglo factorial de los tratamientos:

$$\gamma_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + AB_{ij} + AC_{ik} + AD_{il} + \varepsilon_{ijkl}$$

$\gamma_{ijkl}$  = variable respuesta

$t$  = número de tratamientos

$\mu$  = media general

$A_i$  = efecto del factor A a nivel  $i$  – ésimo(AF)

$B_j$  = efecto del factor B a nivel  $j$  – ésimo(NAC)

$C_k$  = efecto del factor C a nivel  $k$  – ésimo(Sc)

$D_l$  = efecto del factor D a nivel  $l$  – ésimo(EQ)

$AB_{ij}$  = Interacción entre el factor A y el factor B

$AC_{ik}$  = Interacción entre el factor A y el factor C

$AD_{il}$  = Interacción entre el factor A y el factor D

$\varepsilon_{ijkl}$  = error aleatorio de cada uno de los factores

Donde:



#### 4. RESULTADOS

Las secciones histológicas del riñón y el hígado examinadas de los grupos de aves que no recibieron la adición de AF ni del quimioprotector al día 1 de intoxicación (semana 0 de intoxicación) y hasta la semana 27 de edad (semana 14 de intoxicación), no presentaron lesiones sugerentes de patología en su patrón anatómico, como se muestra de la Figura 7 y 8.

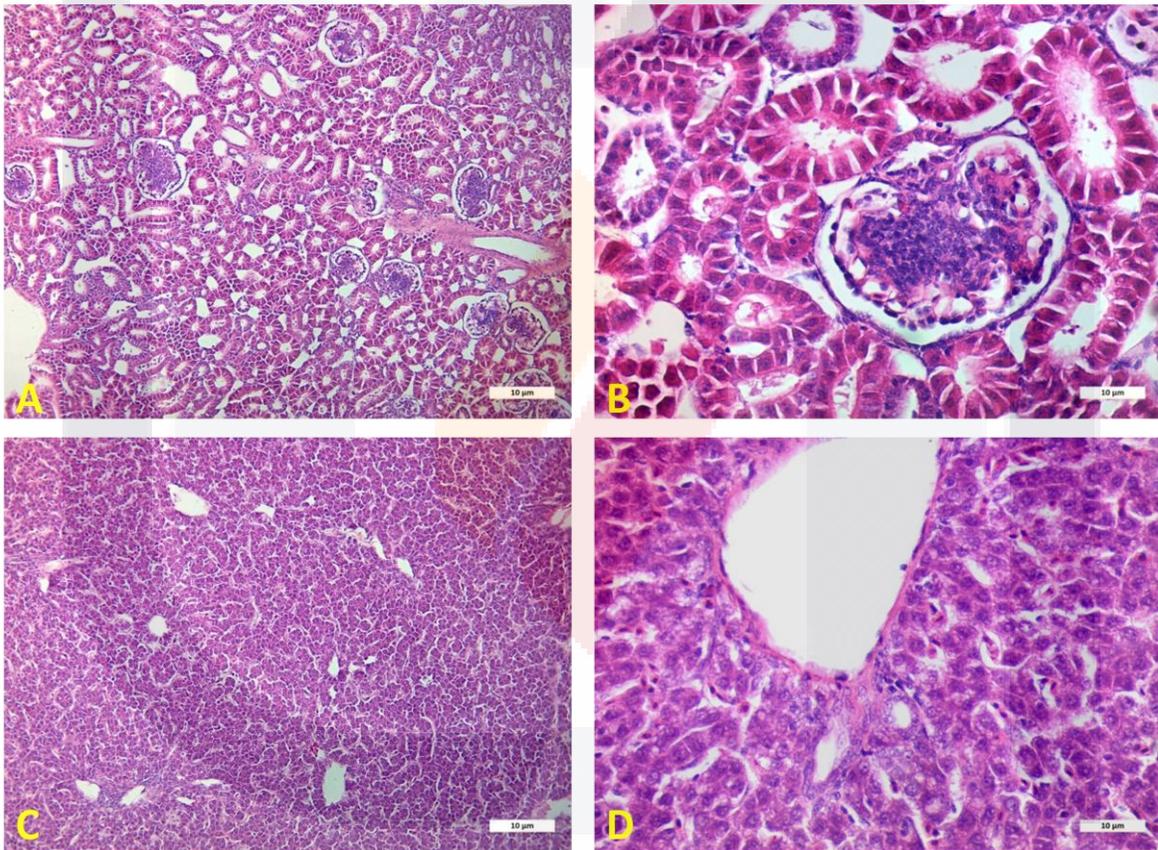


Figura 7. A. Riñón; primer día de intoxicación, semana 0 de intoxicación. Sin cambios patológicos aparentes (SCPA). Hígado; 1 día de edad, Semana 0 de intoxicación. H&E, A. 40X; B. 400X.

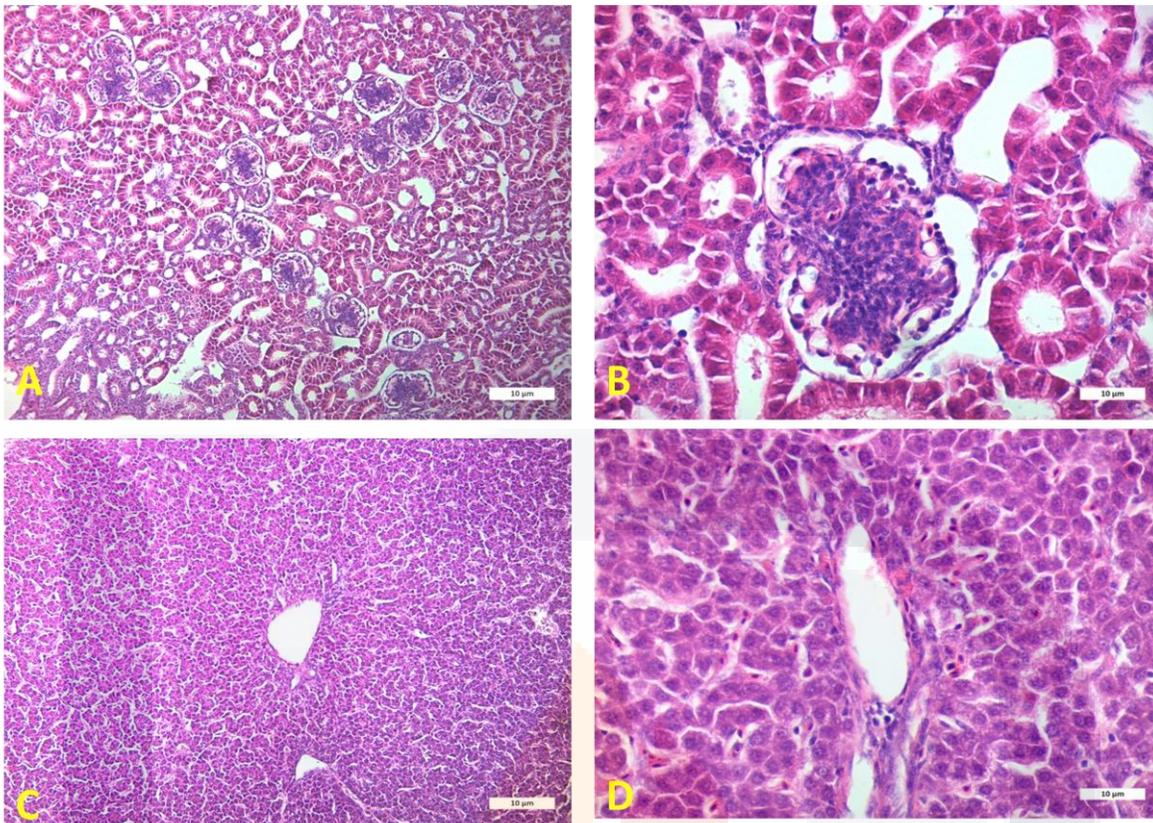


Figura 8. Riñón; A, B. 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación. SCPA. Hígado C, D; 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación. SCPA. H&E, A, C. 40X; B, D. 400X.

La evaluación histológica de las secciones histológicas del hígado y los riñones, a partir de la semana 14 de intoxicación en ambos casos mostraron cambios morfológicos relacionados con los diversos tratamientos (Tabla 6 y 7). En las secciones del hígado, se observó una acumulación de lípidos de aspecto macrovesicular (esteatosis macrovesicular), y focos de infiltrado inflamatorio por linfocitos (hepatitis linfocítica). En las secciones histológicas de los riñones las lesiones con mayor frecuencia fue la nefritis intersticial, caracterizada por focos de infiltrado inflamatorio por linfocitos y la degeneración tubular, en la que el citoplasma de los túbulos renales se aprecia tumefacto y turbio.

Tabla 6. Evaluación histológica del hígado por semana de exposición a la AF en combinación con los quimioprotectores.

LESIÓN	SEMANA				
	0	14	20	46	72
Degeneración hidrópica	15	2	1	8	23
Discreta	15	2	1	6	4
Moderada	0	0	0	2	6
Grave	0	0	0	2	13
Hemorragia	0	6	0	5	4
Discreta	0	6	0	0	1
Moderada	0	0	0	2	2
Grave	0	0	0	3	1
Esteatosis	0	5	0	8	14
Discreta	0	3	0	5	6
Moderada	0	2	0	2	1
Grave	0	0	0	1	7
Hepatitis linfocítica	0	17	35	42	38
Discreta	0	16	22	35	29
Moderada	0	1	13	7	5
Grave	0	0	0	0	4
Sugerente de amiloide*	0	0	2	7	3
Discreta	0	0	2	7	3
Moderada	0	0	0	0	0
Grave	0	0	0	0	0

\*Negativo por tinción especial, Rojo Congo

Tabla 7. Evaluación histológica del riñón por semana de exposición a la AF en combinación con los quimioprotectores.

LESIÓN	SEMANA				
	0	14	20	46	72
Hemorragia	0	8	3	0	3
Discreta	0	8	3	0	1
Moderada	0	0	0	0	0
Grave	0	0	0	0	2
Degeneración tubular	0	11	5	9	2
Discreta	0	10	4	4	2
Moderada	0	1	0	5	0
Grave	0	0	1	0	0
Pielitis	0	2	0	3	1
Discreta	0	1	0	2	1
Moderada	0	1	0	0	0
Grave	0	0	0	1	0
Nefritis intersticial	0	32	35	31	24
Discreta	0	32	28	30	20
Moderada	0	0	5	1	4
Grave	0	0	2	0	0
Ureteritis	0	4	14	20	17
Discreta	0	3	3	8	2
Moderada	0	1	8	7	9
Grave	0	0	3	5	6
Proliferación glomerular	0	2	1	6	0
Discreta	0	2	0	5	0
Moderada	0	0	2	1	0
Grave	0	0	0	0	0
Calcificación	0	3	0	3	2
Discreta	0	3	0	3	2
Moderada	0	0	0	0	0
Grave	0	0	0	0	0
Pielonefritis	0	0	0	1	8
Discreta	0	0	0	0	7
Moderada	0	0	0	0	1
Grave	0	0	0	0	0
Hongos	0	0	0	1	0
Discreta	0	0	0	1	0
Moderada	0	0	0	0	0
Grave	0	0	0	0	0
Glomerulonefritis	0	0	0	0	2
Discreta	0	0	0	0	2
Moderada	0	0	0	0	0
Grave	0	0	0	0	0

La figura 9 permite observar como la esteatosis se presenta a partir de la semana 14 y tiene desaparece hacia la semana 20, mientras que en las semanas 46 y 72 muestra una frecuencia en aumento. En este caso se evaluó sólo la presencia o ausencia de esta.

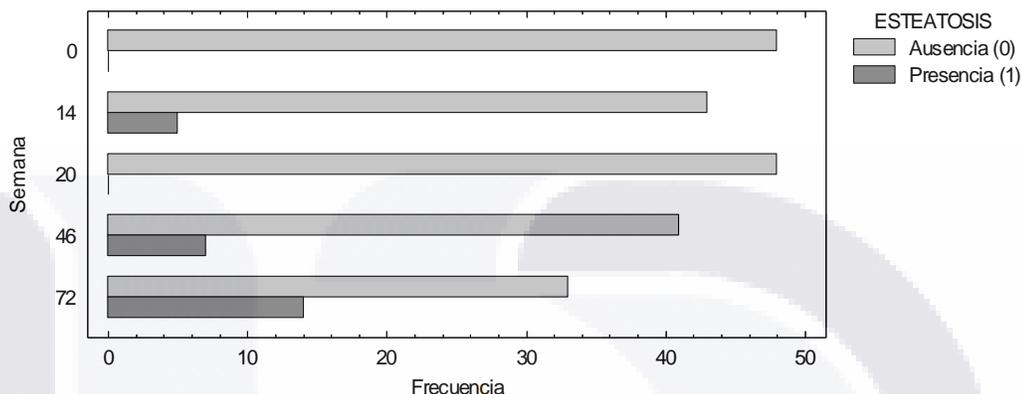


Figura 9. Diagrama de barras para la esteatosis según las semanas de intoxicación.

Como el valor  $p < 0.05$ , se puede rechazar la hipótesis de que las semanas de intoxicación y la presencia de la esteatosis son independientes con un nivel de confianza del 95.0%. Por lo tanto, el valor observado de las semanas para un caso en particular, está relacionado con su valor en la presencia de esteatosis.

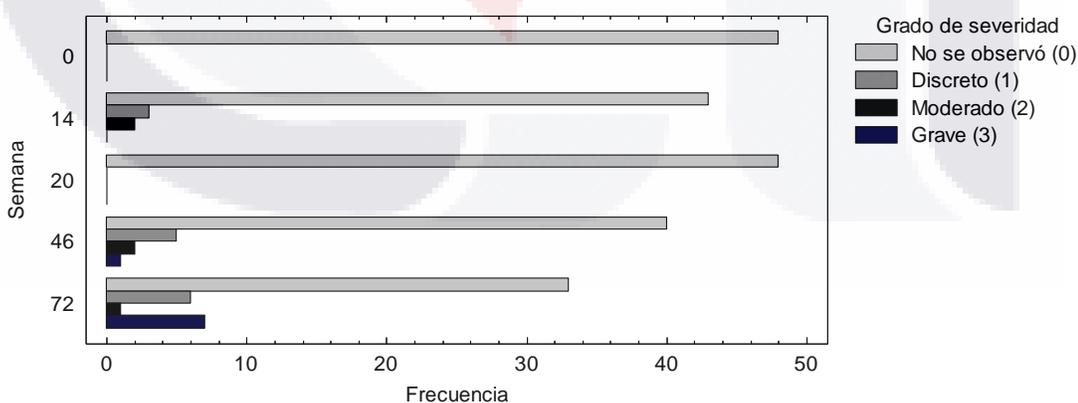


Figura 10. Diagrama de barras para la esteatosis según las semanas de intoxicación y el grado de severidad.

Como se observa en la figura 10, el grado de severidad aumenta conforme aumentan las semanas de intoxicación. Al inicio de la intoxicación no hay presencia de la esteatosis, sin embargo a partir de la semana 14 comienza a desarrollarse hasta la semana 72 donde se vuelve más frecuente.

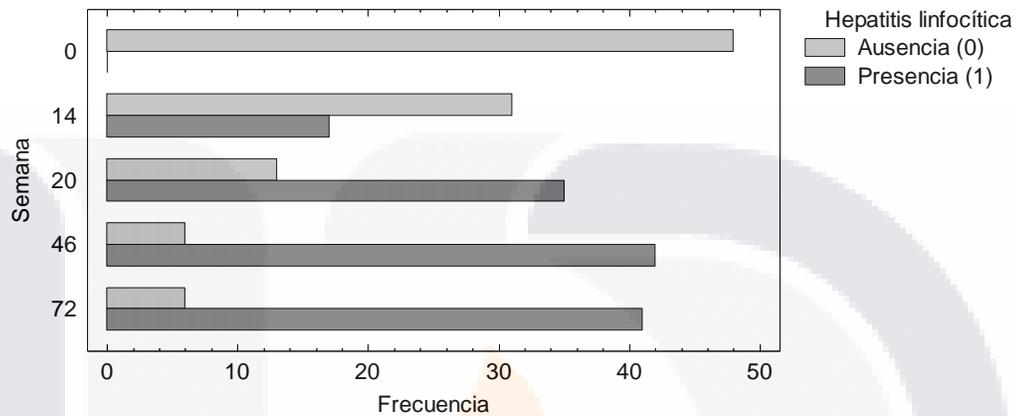


Figura 11. Diagrama de barras para la hepatitis linfocítica según las semanas de intoxicación.

La figura 11 ejemplifica como la hepatitis linfocítica va en aumento de acuerdo a las semanas de intoxicación y tiene un ligero descenso en la semana 72.

Como el valor  $p < 0.05$ , se puede rechazar la hipótesis de que las semanas de intoxicación y la presencia de la hepatitis linfocítica son independientes con un nivel de confianza del 95.0%. Por lo tanto, el valor observado de las semanas para un caso en particular, está relacionado con su valor en la presencia de esteatosis.

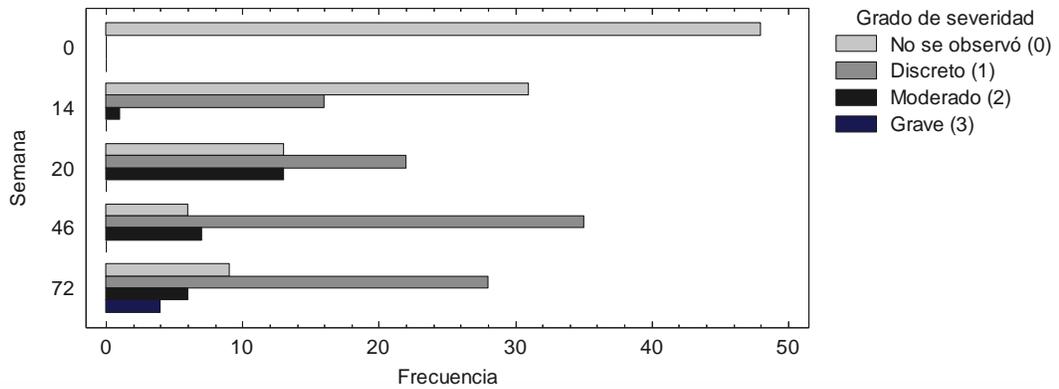


Figura 12. Diagrama de barras para la hepatitis linfocítica según las semanas de intoxicación y el grado de severidad.

Como se observa en la figura 12, el grado de severidad alcanzó su mayor grado de severidad en la semana 72, mientras que en el resto de las semanas la hepatitis fue moderada.

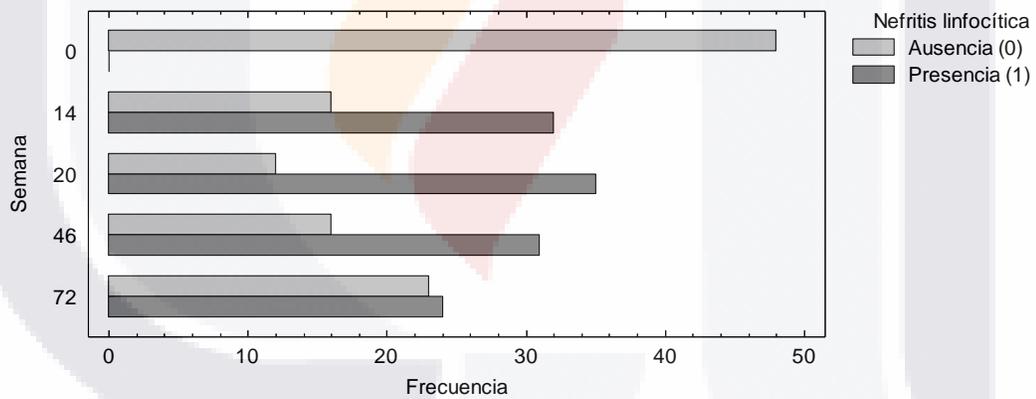


Figura 13. Diagrama de barras para la nefritis linfocítica según las semanas de intoxicación.

Se aprecia como hay nefritis linfocítica en la mayoría de los individuos desde la semana 14 y alcanza su valor máximos en la semana 20, disminuyendo considerablemente hacia la semana 72.

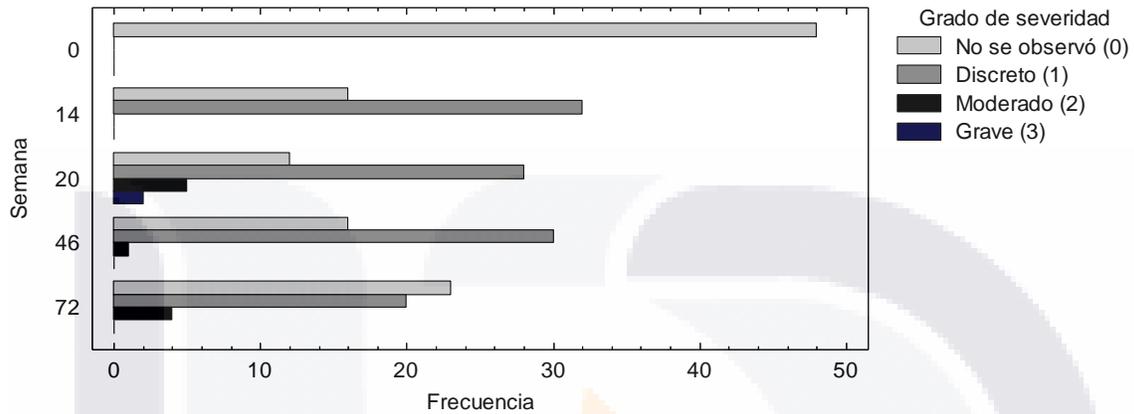


Figura 14. Diagrama de barras para la nefritis linfocítica según las semanas de intoxicación y el grado de severidad.

Se observa como el grado severidad grave se presenta en la semana 20, y desaparece el resto de las semanas.

Como  $p < 0.05$ , se puede rechazar la hipótesis de que las semanas de intoxicación y la presencia de la nefritis linfocítica son independientes con un nivel de confianza del 95.0%. Por lo tanto, el valor observado de las semanas para un caso en particular, está relacionado con su valor en la presencia de la nefritis linfocítica.

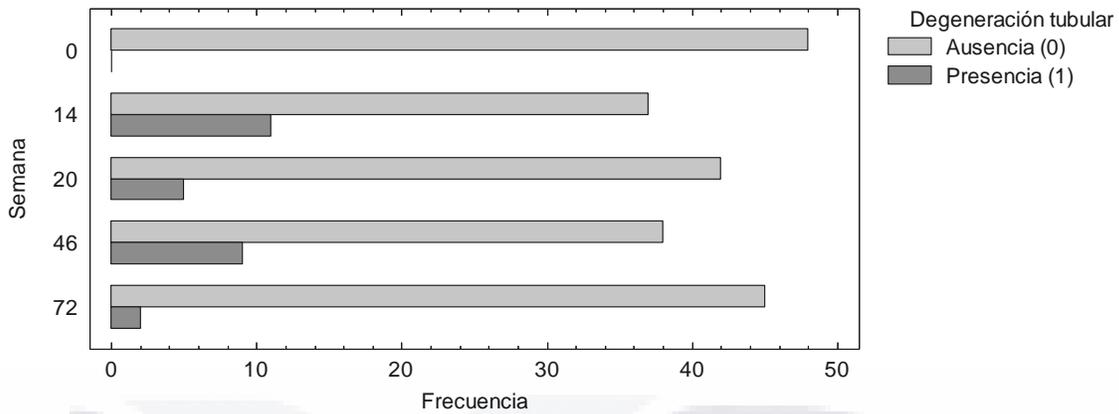


Figura 15. Diagrama de barras para la degeneración tubular según las semanas de intoxicación.

De acuerdo al diagrama de la figura 15, la degeneración tubular se presentó con mayor frecuencia durante la semana 14, teniendo una disminución marcada en la semana 20, hacia la semana 46 vuelve a aumentar y casi desaparece hacia la semana 72.

Como  $p < 0.05$ , se puede rechazar la hipótesis de que las semanas de intoxicación y la presencia de la degeneración tubular son independientes con un nivel de confianza del 95.0%. Por lo tanto, el valor observado de las semanas para un caso en particular, está relacionado con su valor en la presencia de la degeneración tubular.

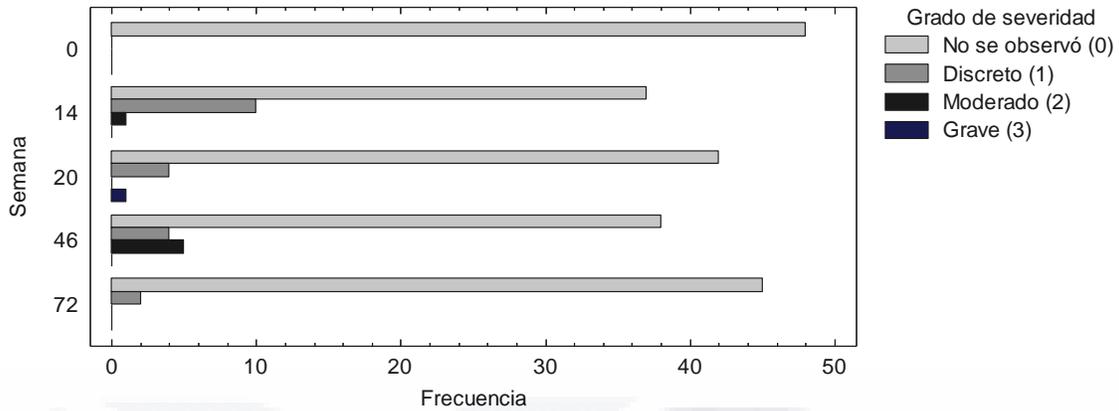


Figura 16. Diagrama de barras para la degeneración tubular según las semanas de intoxicación y el grado de severidad.

En la semana 14 el grado de severidad que prevalece es el discreto, que va en disminución hasta casi desaparecer en la semana 72; el grave sólo aparece discretamente en la semana 20, desapareciendo en la 46.

La Figura 17, permite interpretar que la esteatosis no se presentó de manera significativa en el grupo control. En los grupos que recibieron las diferentes dosis de AF se puede apreciar que la esteatosis aumenta conforme aumenta la dosis de AF. En las interacciones con EQ no se observa disminución en la presencia de la lesión.

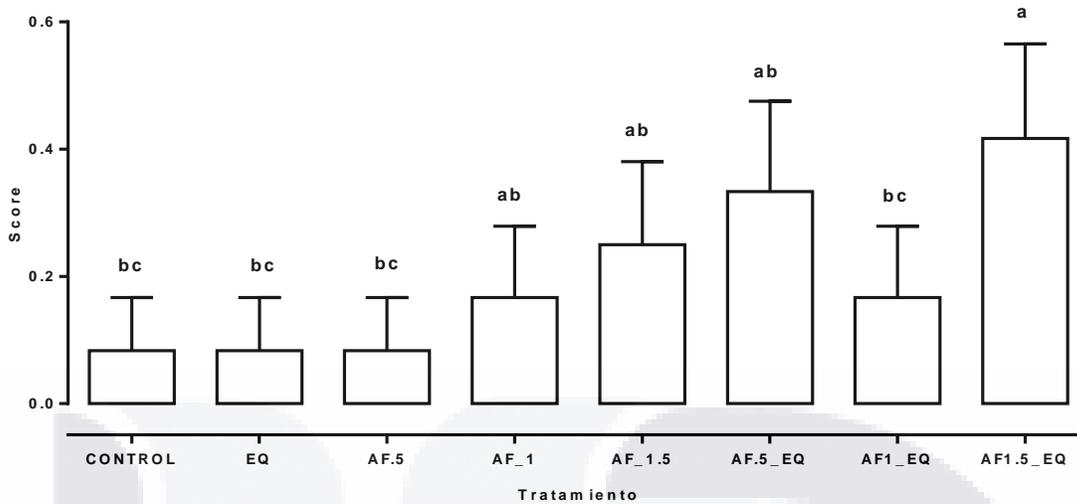


Figura 17. Esteatosis en el hígado. Aflatoxina B1 (AF) con Etoxicuina (EQ): 500 mg/kg/pc. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En la Figura 18, en la fotomicrografía A, representa al testigo, mientras que en la B se observa que hay modificación discreta de la morfología hepática, exhibe marcada disociación de cordones hepáticos y el citoplasma de algunos hepatocitos presenta microvacuolas de lípidos lo que indica que hay esteatosis microvesicular. En las fotomicrografías C y D se observa como en la semana 46 el daño ya es marcado, hay esteatosis macrovesicular en la que una gran vacuola de lípidos ocupa toda la extensión del citoplasma de los hepatocitos, desplazando el núcleo de estos hacia la periferia, dándoles aspecto de anillo de sello del papa. Mientras que en la semana 72 de intoxicación el hígado presentó el mismo cambio sin embargo la gravedad es severa; en ambos casos se les añadió la EQ.

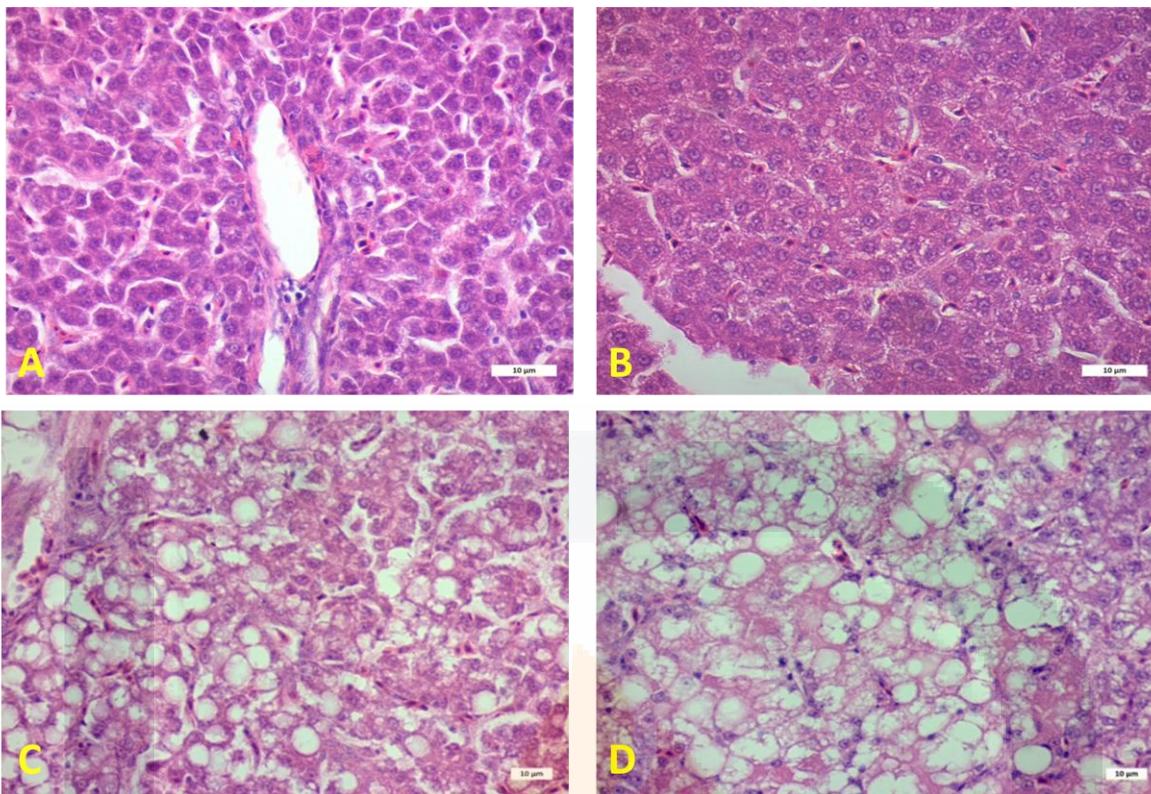


Figura 18. Hígado. H&E, 400X; AF con EQ: 500 mg/kg/pc. A. 400X; 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación. SCPA. B. 500 mg/kg EQ a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación; C. 1.5 mg/kg AF con EQ a las 59 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación; D. 1.5 mg/kg con EQ a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación.

La Figura 19 representa a los tratamientos que interactuaron con la NAC; se observa como en el grupo control y el que recibió sólo NAC hay la presencia de la esteatosis sin llegar a ser significativa. Los grupos en que interactuaron la AF más la NAC, obtuvieron interacción positiva, los que recibieron 0.5 mg/kg de AF y 1.5 mg/kg de AF más la NAC, hubo disminución en la presencia de la esteatosis, sin llegar a ser significativa. En el grupo que recibió 1 mg/kg de AF más la NAC, la esteatosis aumentó al añadir la NAC.

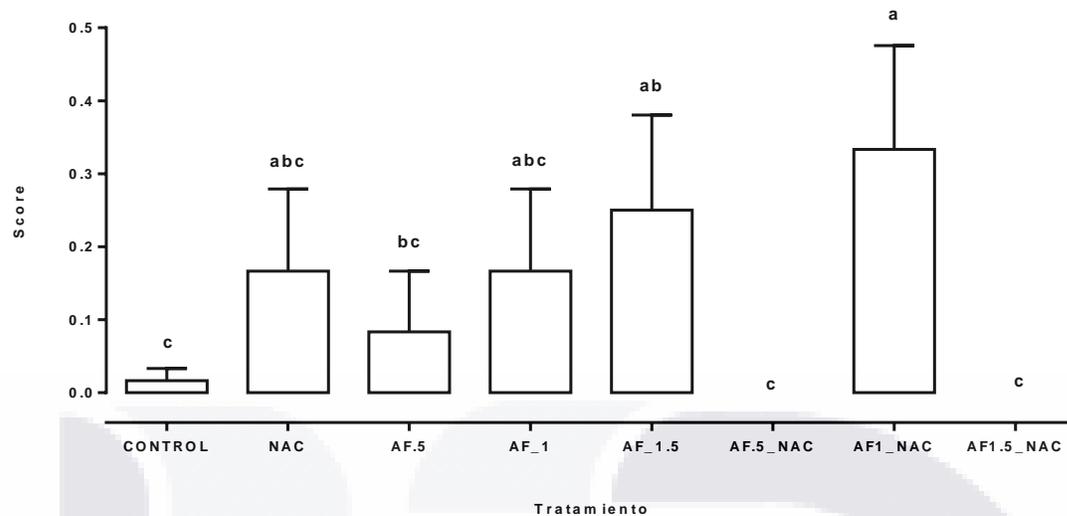


Figura 19. Esteatosis en el hígado. Aflatoxina B<sub>1</sub> (AF) con N-acetilcisteína (NAC): 800 mg/kg/pc. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

Las fotomicrografías que aparecen en la Figura 20 representan el grado moderado de la esteatosis macrovesicular al recibir 1.0 mg/kg AF con la NAC a las 14 semanas de intoxicación. En la fotomicrografía C que agrupa a las aves que recibieron 1.5 mg/kg AF con la NAC a las 46 semanas de intoxicación exhiben la misma lesión (esteatosis macrovesicular) y en la fotomicrografía D se presentan los grupos de aves a la semana 72 de intoxicación sin la AF sólo con la adición de la NAC, se aprecia como el daño es discretamente más marcado que en la C.

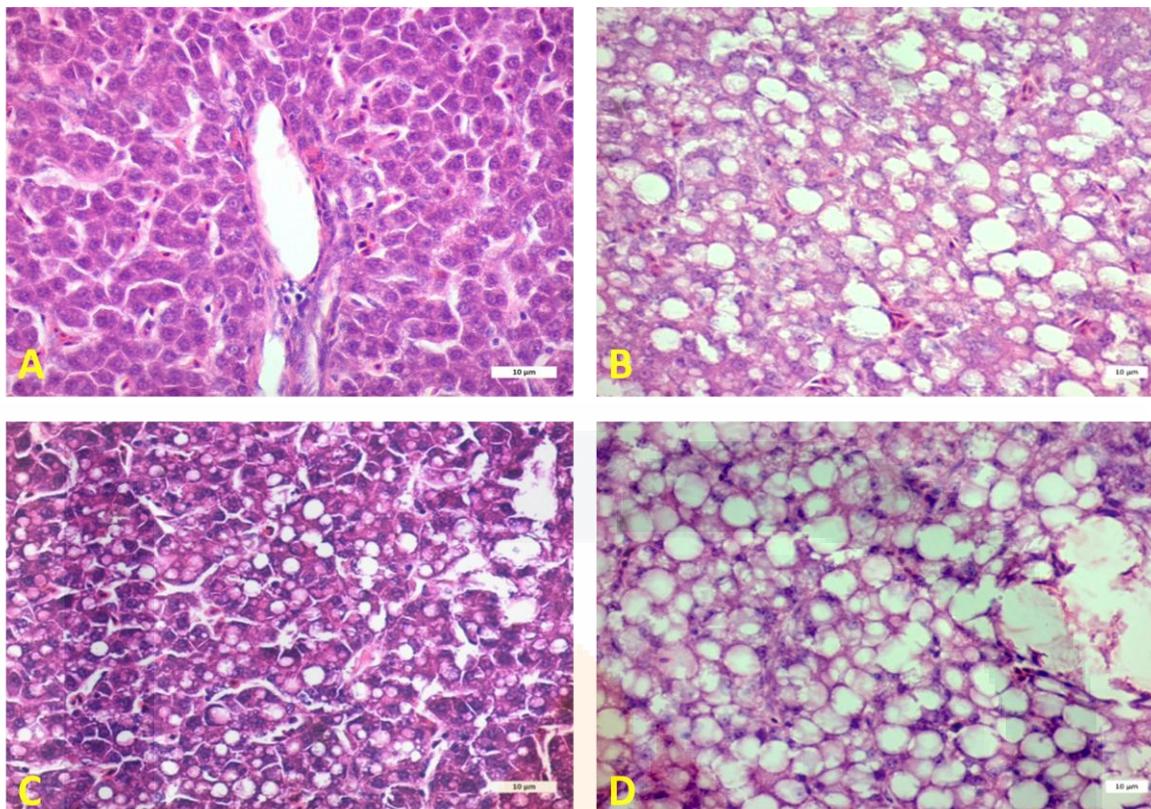


Figura 20. Hígado, H&E, 400X. Esteatosis en el hígado. AF con NAC. A. 400X. 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación. SCPA. B. 1.0 mg/kg AF con NAC a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. C. 1.5 mg/kg AF con NAC a las 59 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación; D. 0.0 mg/kg AF con NAC a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación.

En lo referente a la adición en la dieta de Sc y en comparación con la esteatosis que se presentó por la adición de la EQ y de NAC por si solas, se puede observar en la Figura 21 como al dar solamente Sc a los grupos, estos no desarrollaron la aparición de la esteatosis; sólo en el grupo que recibió 0.5 mg/kg de AF más Sc , la esteatosis se mantuvo igual con y sin Sc, diferente a los grupos con dosis de 1.0 y 1.5 mg/kg de AF en las interacciones con Sc se observó una respuesta favorable al verse disminuida la presencia de la esteatosis sin ser significativa estadísticamente.

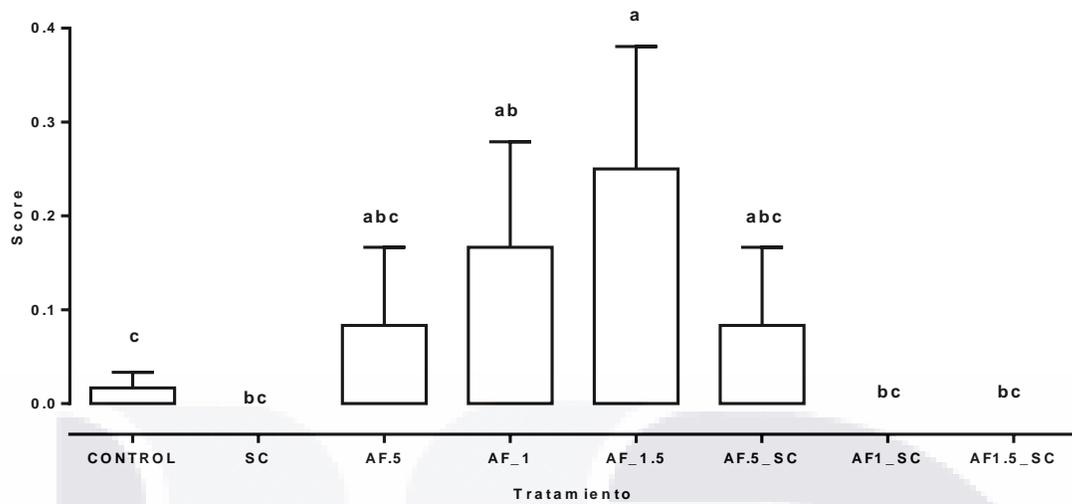


Figura 21. Esteatosis en el hígado. AF con *Saccharomyces cerevisiae* (Sc): 5 g/kg/pc. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En la Figura 15 se presenta en la fotomicrografía B como hay existencia de la esteatosis en la semana 72 semanas de intoxicación con la adición de Sc en la dieta; mientras que en la C también hay presencia de la esteatosis con dosis de 1.5 mg/kg AF con Sc a las 72 semanas de intoxicación aunque hay discreta mejoría que en la B; contrario a lo anterior en las aves que recibieron 1.5 mg/kg de AF con Sc a la semana 72 semanas de intoxicación el daño es más severo, ya que hay pérdida del parénquima hepático, fotomicrografía D.

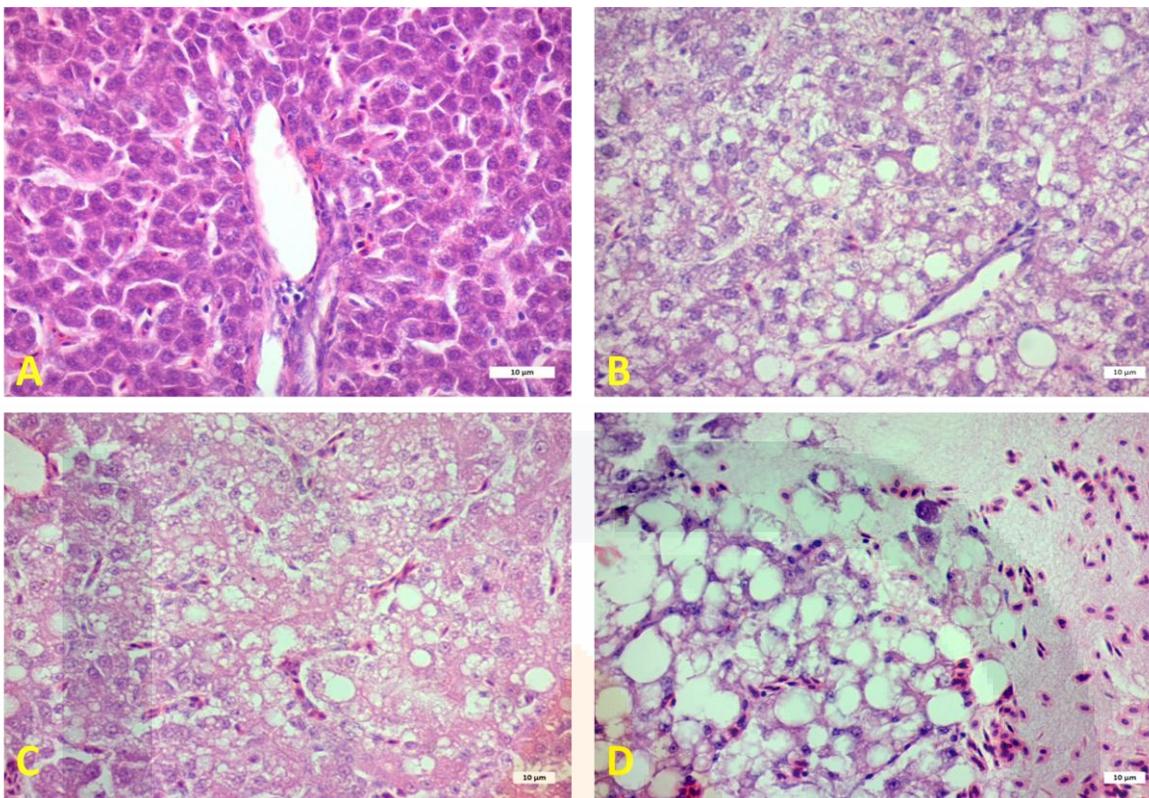


Figura 22. Hígado. H&E, 400X; Esteatosis en el hígado. AF con Sc. A. 400X; 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación. SCPA. B. 5 mg/kg Sc a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación; C. 1.5 mg/kg AF con Sc a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación; D. 1.5 mg/kg AF con Sc a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación.

En la Figura 23 se demuestra como la hepatitis linfocítica caracterizada por la aparición de grupos de infiltrado inflamatorio por linfocitos, está presente de manera no significativa en el grupo control, y al darles EQ, la presencia de esta la lesión disminuyó en el grupo que recibió 1.0 mg/kg de AF más EQ, en los otros dos grupos, la lesión se mantuvo igual.

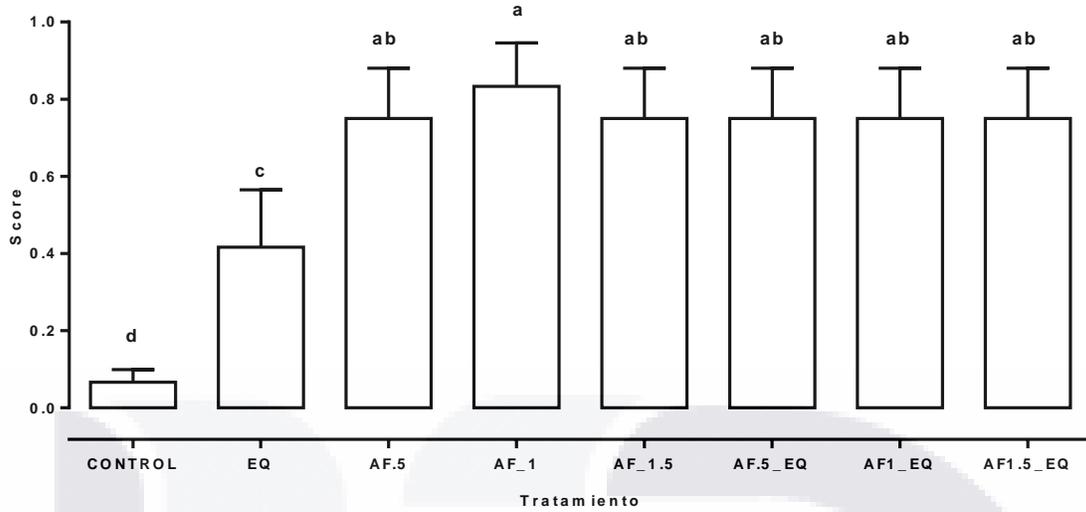


Figura 23. Hepatitis linfocítica en el hígado. AF con EQ: 500 mg/kg/pc. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En la Figura 24 se aprecian las lesiones antes descritas.

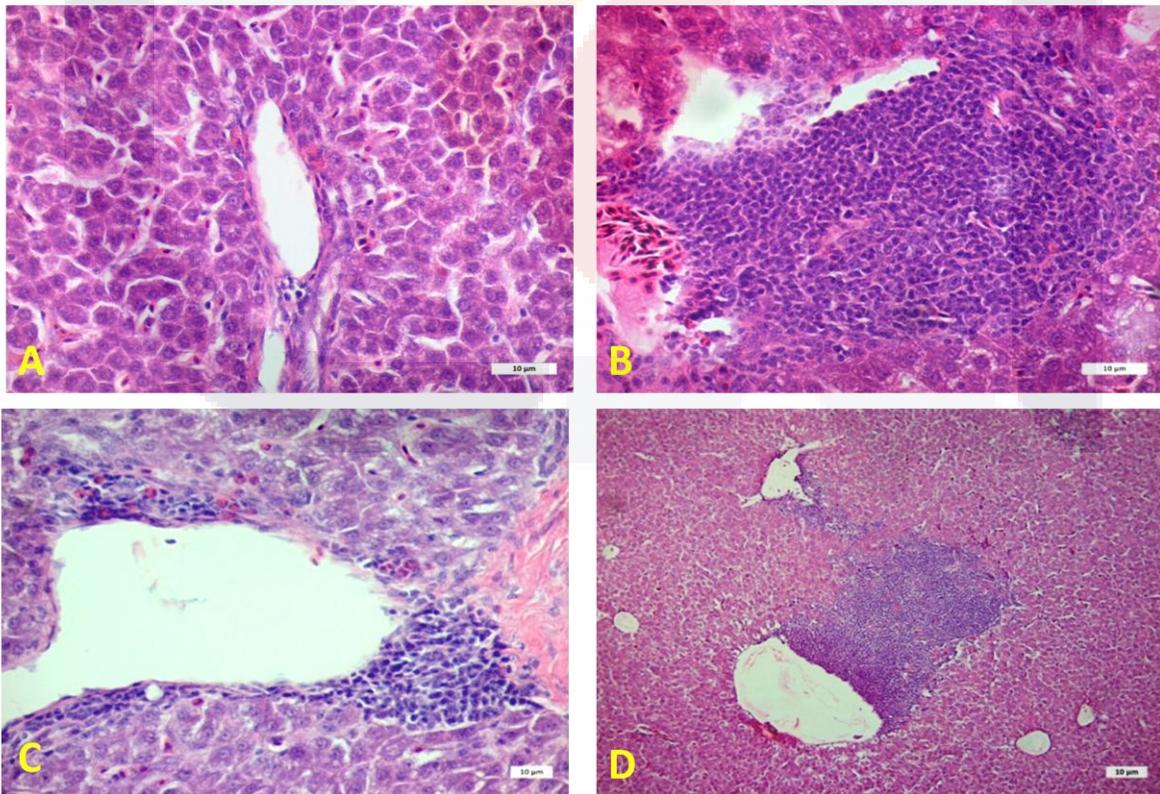


Figura 24. Hígado. H&E, 400X. Hepatitis linfocítica en el hígado. AF con EQ. A. 400X. 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación. SCPA. B. 0.0 mg/kg AF con EQ a las 27 semanas de edad,

14 semanas de intoxicación; C. 1.0 mg/kg AF con EQ a las 59 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación; D. 1.5 mg/kg AF con EQ a las 59 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación.

La hepatitis linfocítica y su interacción con la AF y la NAC se observa en la Figura 25, al igual que la EQ, la hepatitis se observó en el grupo control sin llegar a ser significativa; en el que recibió sólo la NAC la lesión se presentó de manera significativa. El efecto de disminución de la hepatitis que se esperaba, se dio en los tres grupos que recibieron 0.5 mg /kg y 1.0 mg/kg de AF más la NAC y 1.5 mg/kg de AF, de manera significativa.

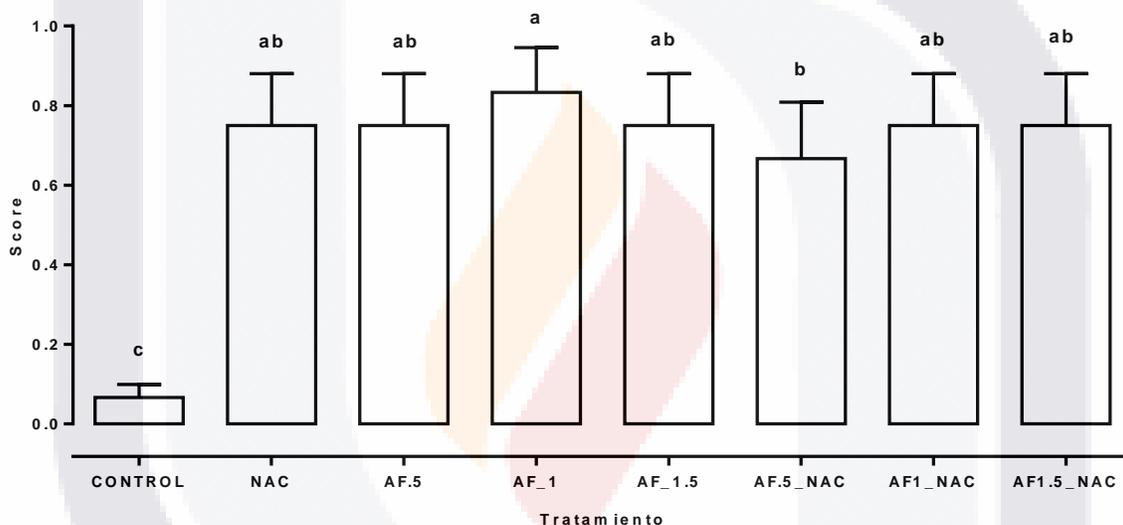


Figura 25. Hepatitis linfocítica en el hígado. AF con N-acetilcisteína (NAC): 800 mg/kg/pc. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En la Figura 26 se aprecia la hepatitis linfocítica, en la fotomicrografía B se puede apreciar un foco de infiltrado inflamatorio periportal, sólo con la adición de la NAC, a la semana 46 de intoxicación; en la fotomicrografía C se observa el mismo cambio sin embargo en este caso se adicionó 1.0 mg/kg AF con la NAC a las 46 semanas de intoxicación, en la D se aprecia la misma lesión con dosis de 1.5 mg/kg de la AF más la NAC.

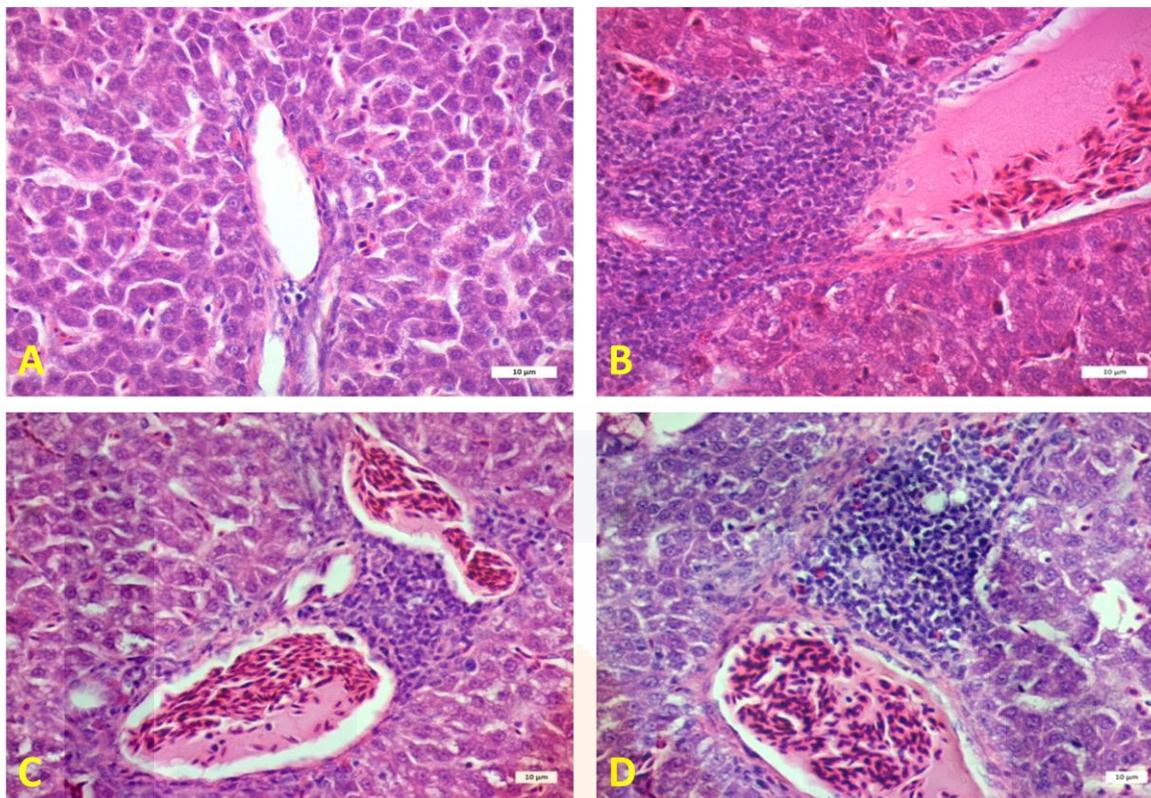


Figura 26. Hígado, H&E, 400X. Hepatitis linfocítica en el hígado AF con NAC. A. 400X. 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación. SCPA. B. 0.0 mg/kg más NAC a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. C. 1.0 mg/kg AF con NAC a las 56 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación. D. 1.5 mg/kg con NAC a las 56 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación.

En la Figura 27 se aprecia que sólo en el grupo que recibió 1.0 mg/kg de la AF se observó que la hepatitis no aumento ni disminuyo al dar Sc, es en este caso podemos hablar de un efecto protector por parte de Sc en su interacción con la AF. En el grupo que recibió 0.5 mg/kg de AF y el que recibió 1.5 mg/kg de AF la lesión se incrementó al interactuar con Sc.

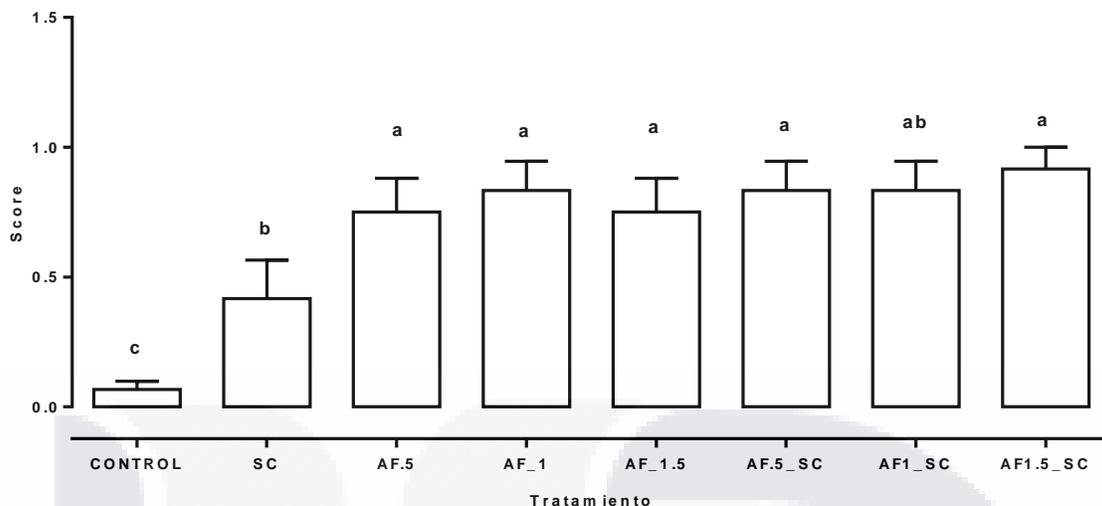


Figura 27. Hepatitis linfocítica en el hígado AF con *Saccharomyces cerevisiae* (Sc): 5 g/kg/pc. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

El infiltrado inflamatorio linfocítico se presentó aún en las aves que recibieron 0.0 mg/kg AF con Sc a las 20 semanas de intoxicación fotomicrografía B, cabe señalar que en la semana 14 de intoxicación no se presentó este cambio en ninguno de los grupos que la recibió; para la semana 46 y 72 de intoxicación la lesión se presentó aún sólo con la adición de Sc y sin la AF fotomicrografía C y D, respectivamente.

Lo anterior se muestra en la Figura 28.

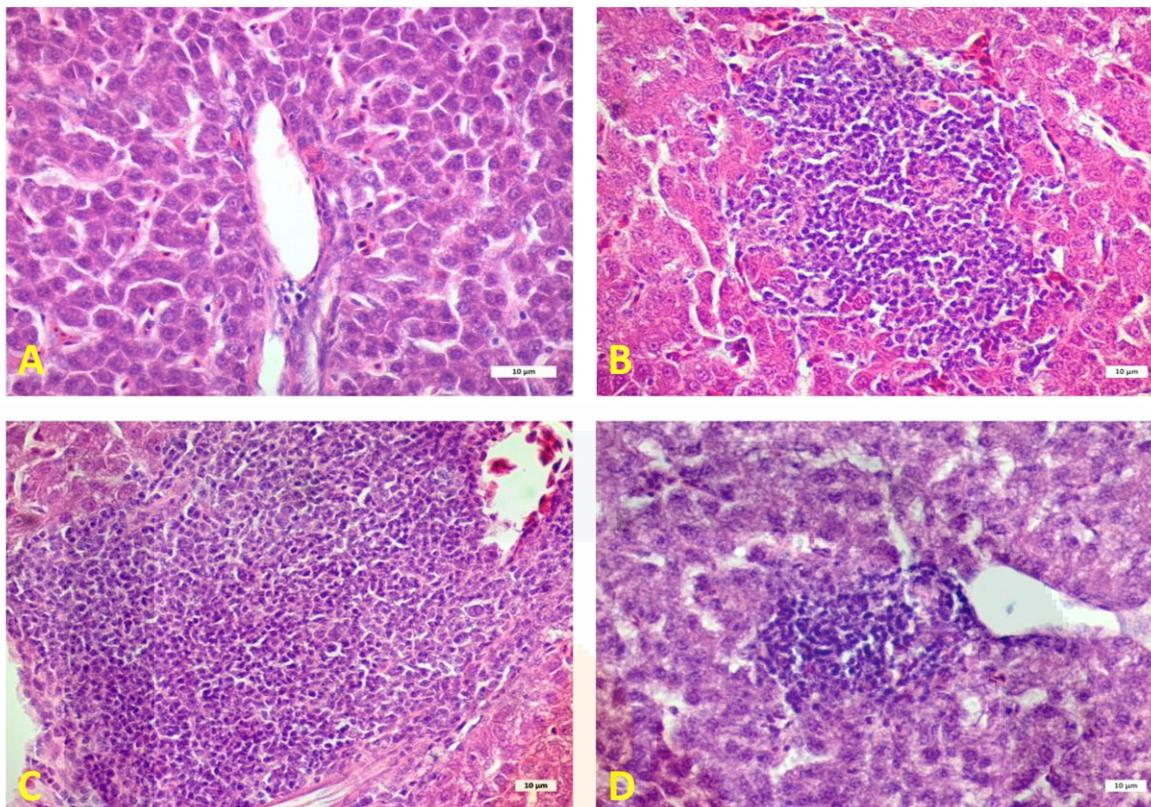


Figura 28. Hígado, H&E, 400X. Hepatitis linfocítica en el hígado. AF con Sc. A. 400X. 27 semanas de edad, semana 14 de intoxicación. SCPA. B. 0.0 mg/kg AF con Sc a las 31 semanas de edad, 20 semanas de intoxicación. C. 0.0 mg/kg AF con Sc a las 59 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación. D. 0.0 mg/kg AF con Sc a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación.

Para la acumulación de linfocitos en el riñón (nefritis intersticial linfocítica), se observó efecto protector o benéfico por parte de la EQ en los grupos que recibieron 0.5 mg/kg de AF y 1.5 mg/kg de AF, el grupo que recibió 1.0 mg/kg de AF la lesión se incremento significativamente, esto se observa en la Figura 29; y la lesión la podemos observar en la Figura 30.

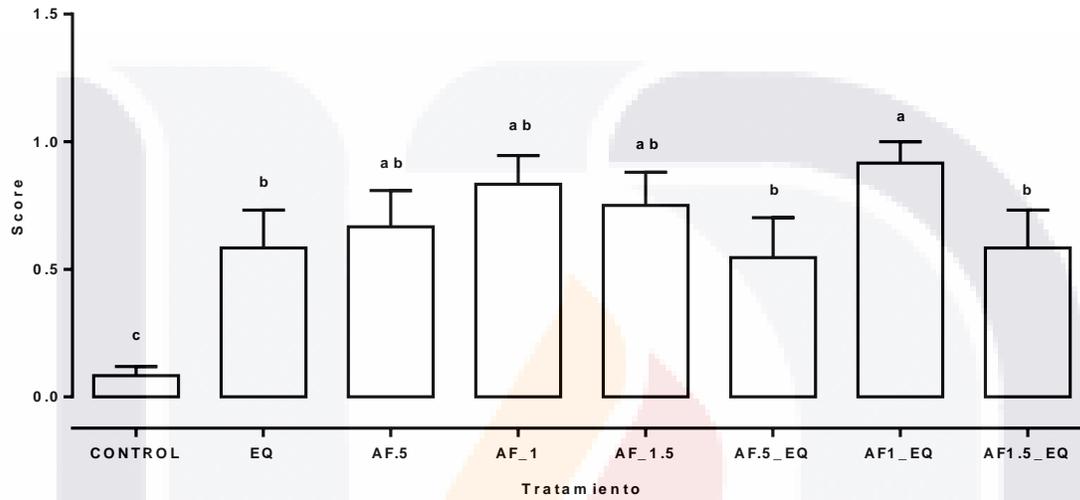


Figura 29. Nefritis linfocítica en el riñón. AF con Etoxiquina (EQ): 500 mg/kg. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

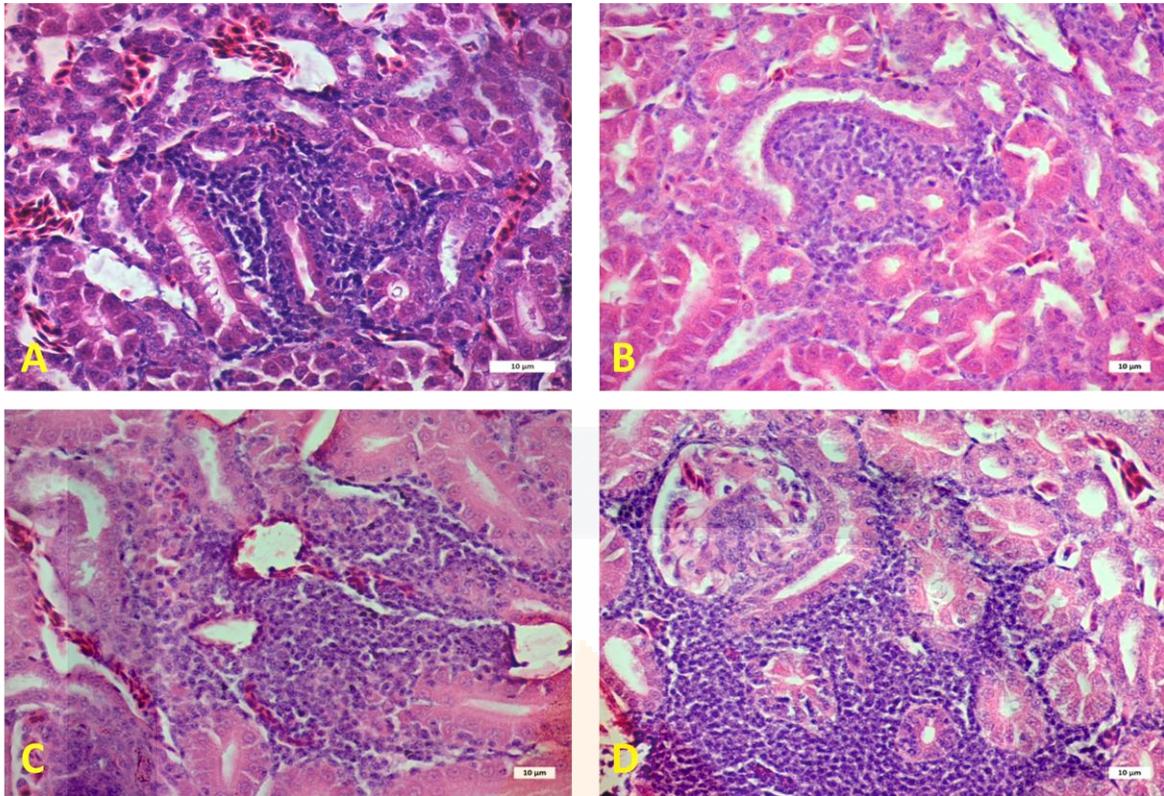


Figura 30. Riñón, H&E, 400X. Nefritis linfocítica en el riñón. AF con EQ. A. 0.0 mg/kg AF con EQ a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. B. 0.0 mg/kg AF con EQ a las 31 semanas de edad, 20 semanas de intoxicación. C. 0.0 mg/kg AF con EQ a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación. D. 1.5 mg/kg AF, 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación.

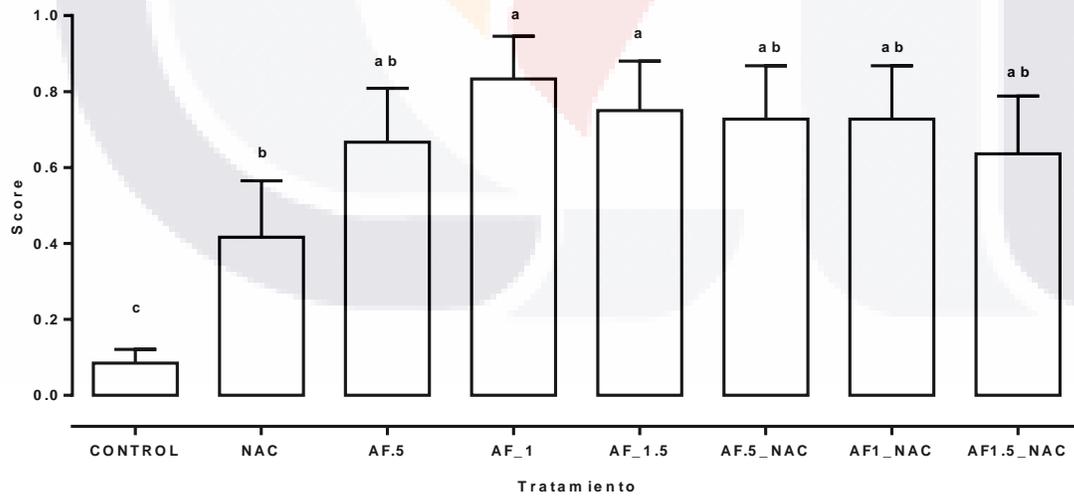


Figura 31. Nefritis linfocítica en el riñón de AF con N-acetilcisteína (NAC): 800 mg/kg. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En la figura 31 permite interpretar que con la adición de la NAC hay disminución de la inflamación en los grupos que recibieron 1.0 mg/kg de AF y 1.5 mg/kg de AF; en el grupo al que se le administró 0.5 mg/kg de AF con NAC la presencia de la lesión se incrementó significativamente; algunas fotomicrografías representativas de esta lesión se pueden observar en la figura 32.

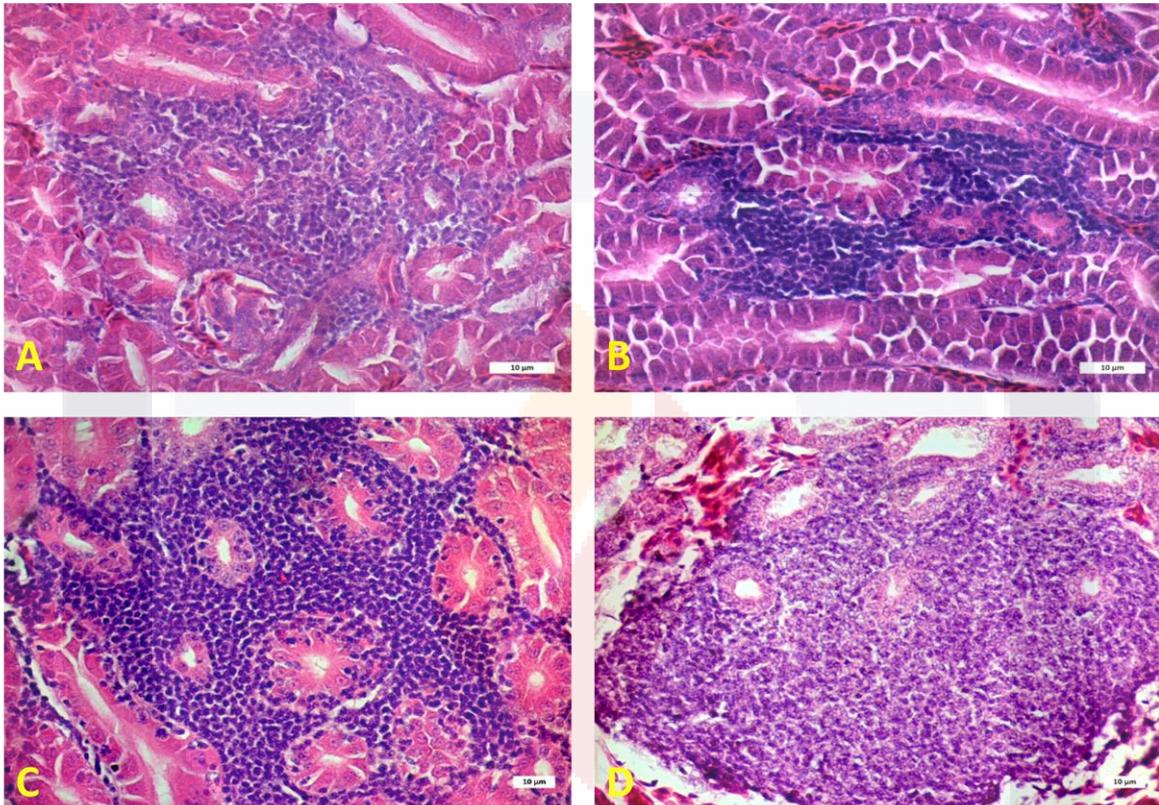


Figura 32. Riñón, H&E, 400X. Nefritis linfocítica en el riñón AF con NAC. A. 0.0 mg/kg AF con NAC a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. B. 0.5 mg/kg AF con NAC a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. C. ID. 0.5 mg/kg AF con NAC a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación. D. 1.5 mg/kg AF con NAC, 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación.

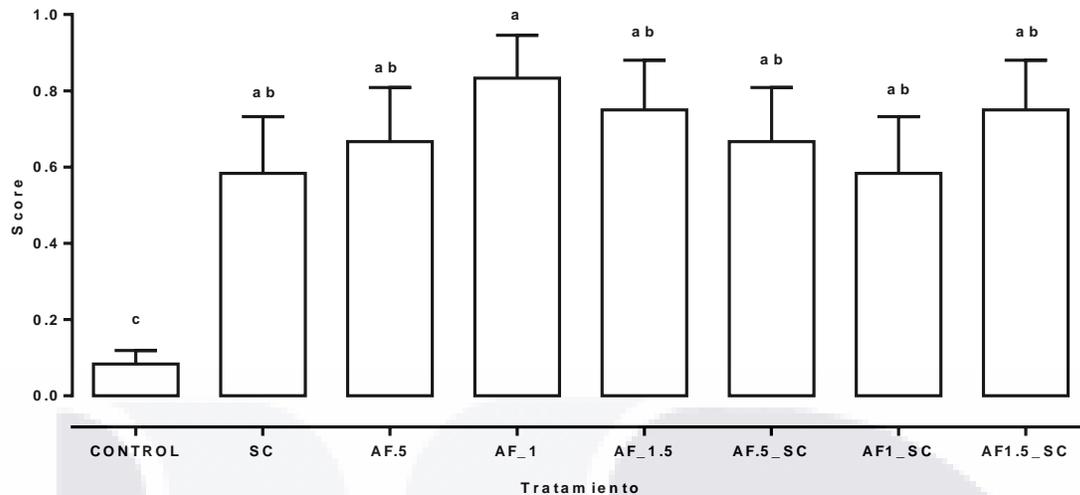


Figura 33. Nefritis linfocítica en el riñón. AF con *Saccharomyces cerevisiae* (SC): 0.5 g/kg. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En la adición de Sc en la dieta, se puede apreciar que el grupo que recibió sólo Sc presentó nefritis linfocítica de forma significativa, en los que recibieron 0.5 mg/kg de AF y 1.0 mg/kg de AF con Sc la lesión disminuyó y en el grupo al que se le administró 1.5 mg/kg de AF con Sc la presentación de la lesión se mantuvo igual, lo que se observa en la Figura 33. Las fotomicrografías de las lesiones se aprecian en la Figura 34.

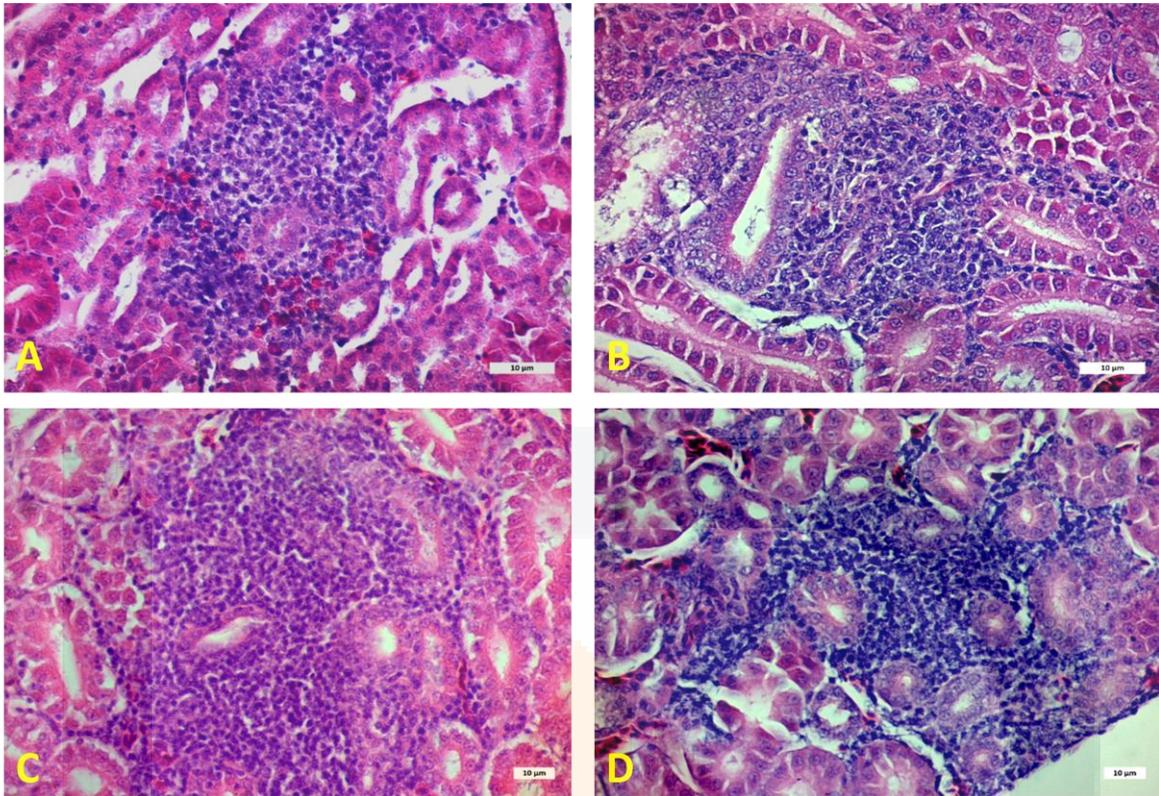


Figura 34. Riñón, H&E, 400X. Nefritis linfocítica en el riñón AF con Sc. A. 0.0 mg/kg AF con Sc a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. B. 1.5 mg/kg AF con Sc a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. C. 0.0 mg/kg AF con Sc a las 31 semanas de edad, 20 semanas de intoxicación. D. 1.5 mg/kg AF con Sc, 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación.

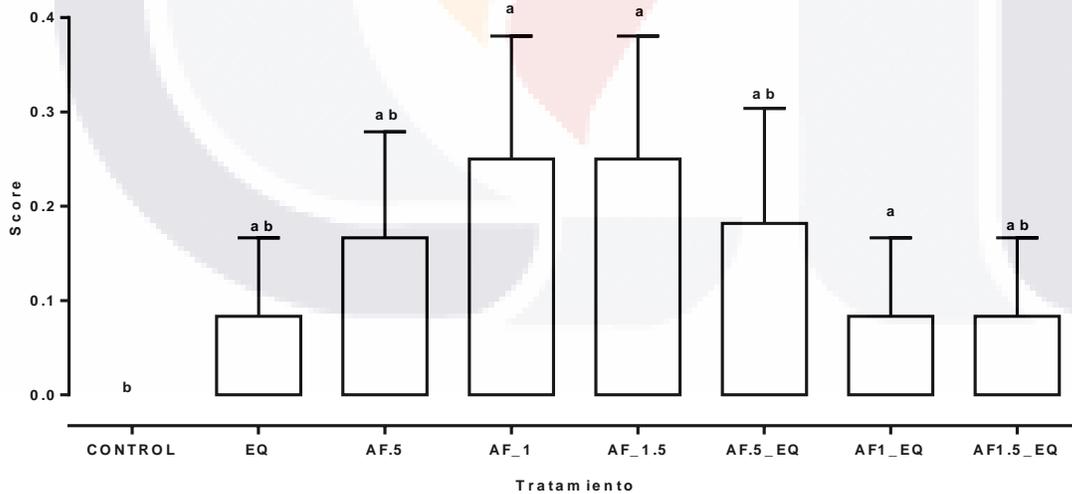


Figura 35. Degeneración tubular en el riñón. AF con Etoxiquina (EQ): 500 mg/kg. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En la figura 35 se observa que el grupo control, no presenta la degeneración tubular, mientras que los grupos que recibieron sólo la EQ no presentan la lesión de manera

significativa, no hubo efecto protector por parte de EQ en ninguno de los grupos. La degeneración tubular; se caracteriza por el citoplasma de los túbulos renales que se aprecia turbio, la lesión se aprecia en la Figura 36.

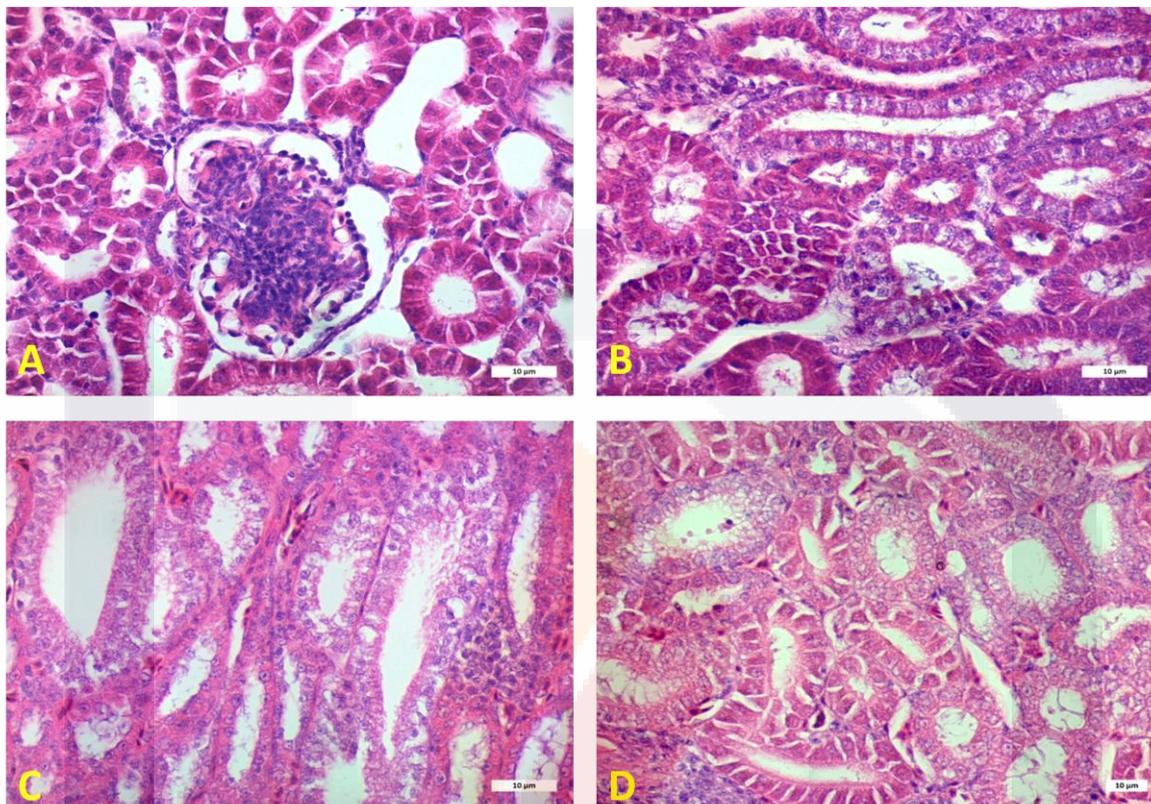


Figura 36. Riñón, H&E, 400X. Degeneración tubular en el riñón. AF con EQ. A. 400X. Riñón, H&E, 400X. SCPA. B. ID. 142 1.5 mg/kg AF a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. C. 1.5 mg/kg AF con EQ a las 31 semanas de edad, 20 semanas de intoxicación. D. 1.0 mg/kg AF con EQ a las 59 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación.

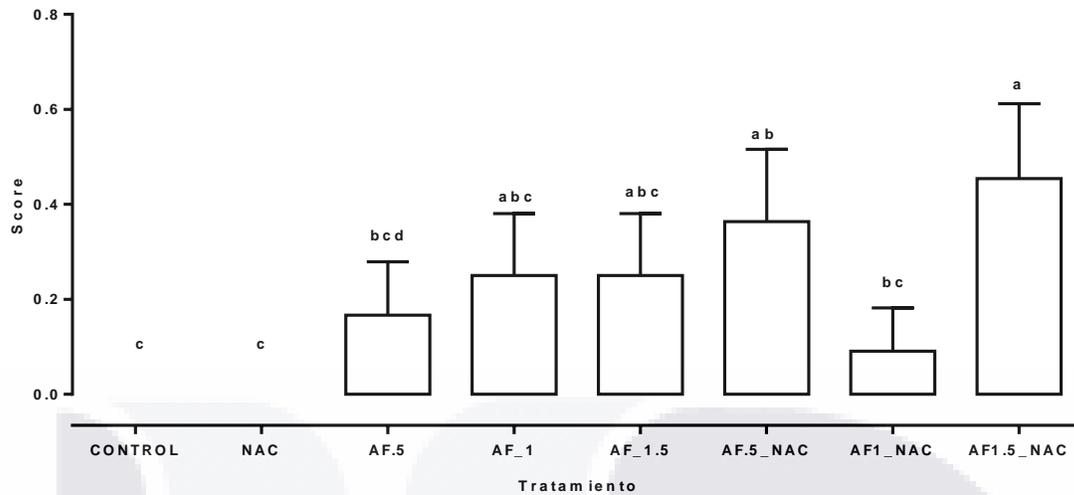


Figura 37. Degeneración tubular en el riñón. AF con N-acetilcisteína (NAC): 800 mg/kg. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En la Figura 37 se aprecia como la adición de la NAC atenuó la lesión sólo en el caso de de los grupos que recibieron 1.0 mg/kg de AF; en los otros dos la frecuencia de la lesión se incrementó al añadir la NAC significativamente. En la Figura 38 observa la lesión.

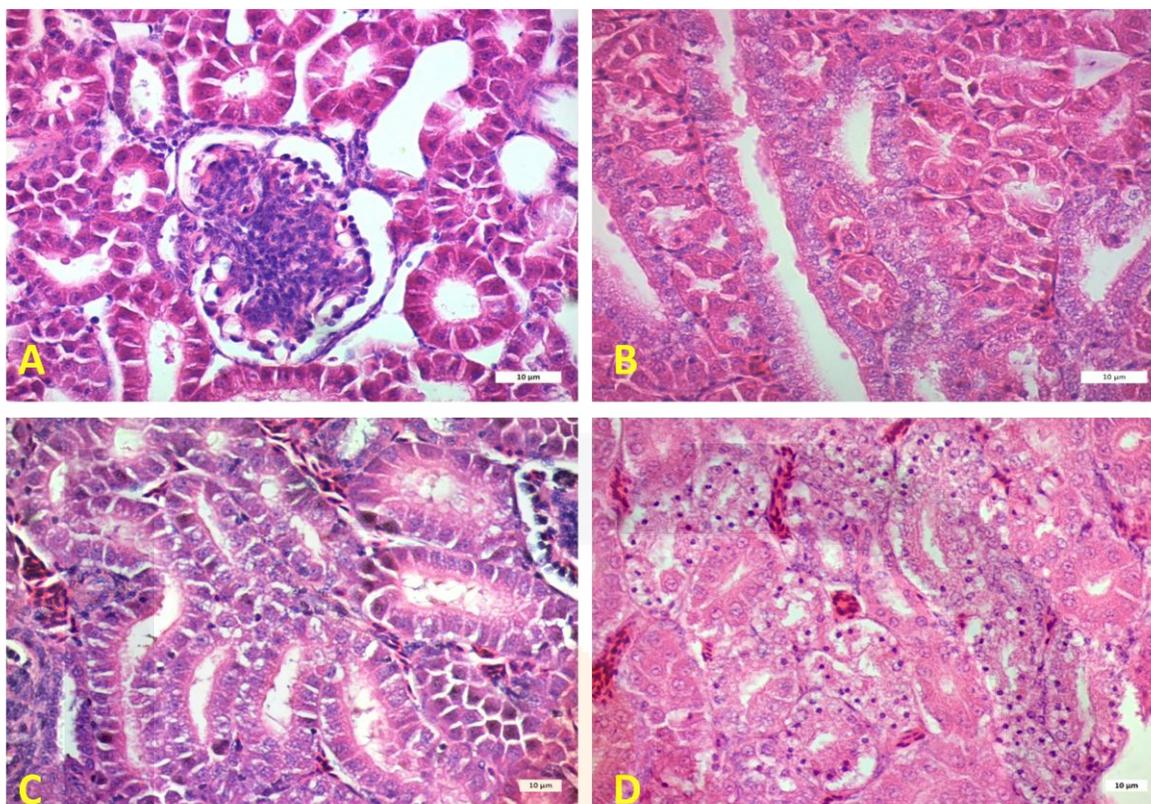


Figura 38. Riñón, H&E, 400X. Degeneración tubular en el riñón. AF con NAC. A. 400X. Riñón, H&E, 400X. SCPA. B. 0.0 mg/kg AF con NAC a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. C. ID. 1.5 mg/kg AF con NAC a las 59 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación. D. 0.5 mg/kg AF con NAC a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación.

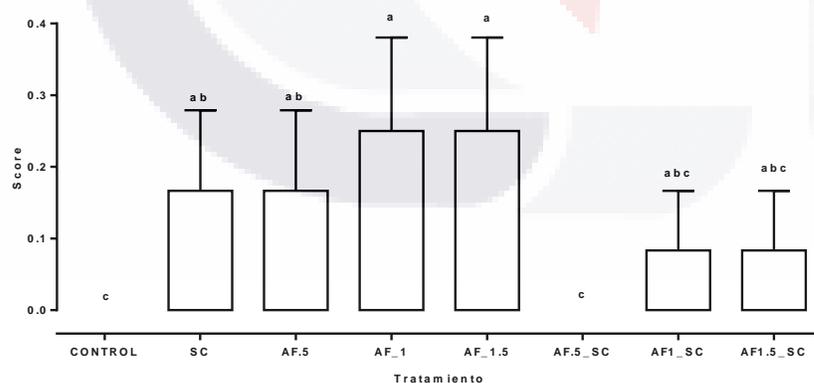


Figura 39. Degeneración tubular en el riñón. AF con *Saccharomyces cerevisiae* (Sc): 5 g/kg. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En el caso de la adición Sc se observa efecto benéfico en los grupos que recibieron la AF en sus tres niveles y generó la lesión sin embargo no llegaron a ser significativas, en la figura 39, se observa tal efecto.

Las fotomicrografías correspondientes se muestran en la Figura 40.

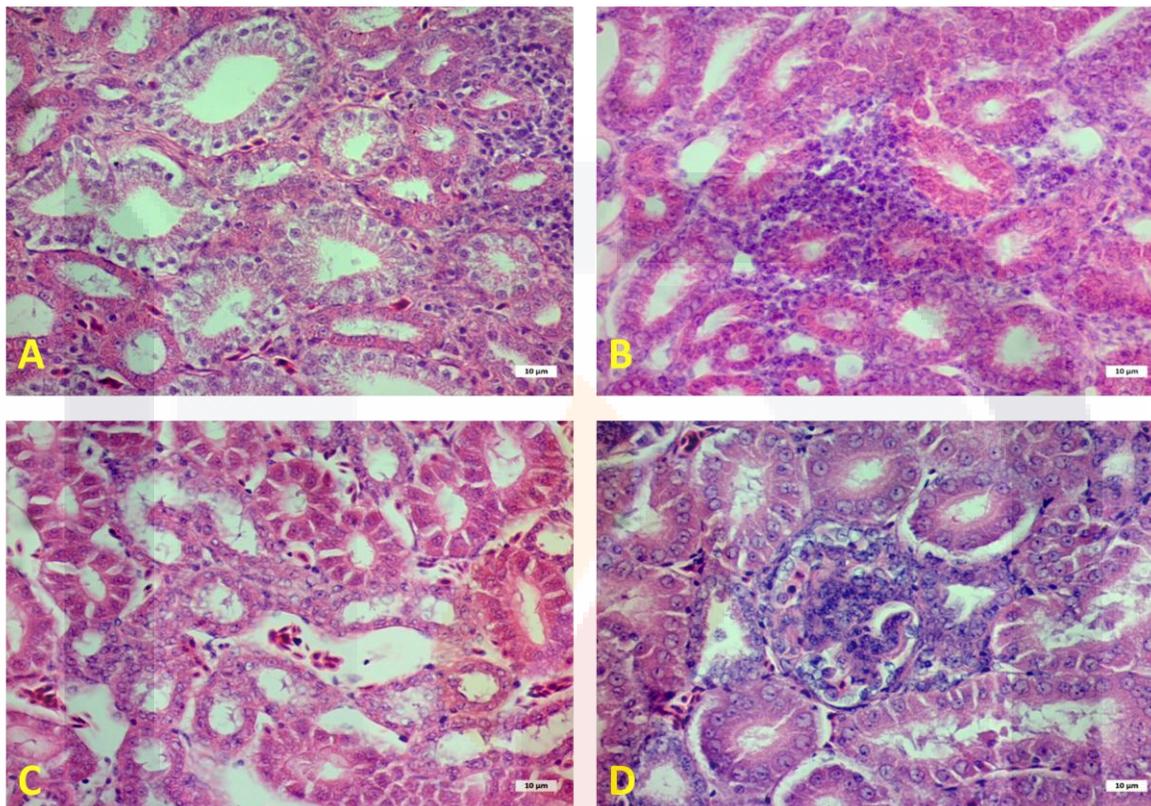


Figura 40. Riñón, H&E, 400X. Degeneración tubular en el riñón. AF con Sc. A. 0.0 mg/kg AF con SC a las 27 semanas de edad, 14 semanas de intoxicación. B. 1.0 mg/kg AF con Sc a las 31 semanas de edad, 20 semanas de intoxicación. C. 0.5 mg/kg AF con Sc a las 59 semanas de edad, 46 semanas de intoxicación. D. 1.5 mg/kg AF con Sc a las 85 semanas de edad, 72 semanas de intoxicación.

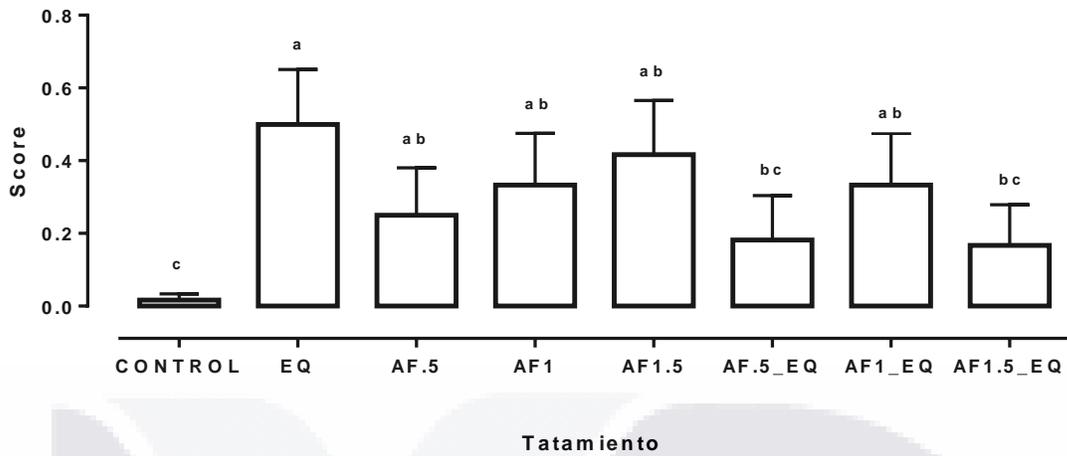


Figura 41. Ureteritis linfocítica. AF con EQ: 800 mg/kg. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

Para la ureteritis linfocítica no se observaron diferencias significativas en el caso de los tratamientos que recibieron EQ, como se observa en la figura 41 sin embargo esta lesión prevalece en la mayoría de los casos.

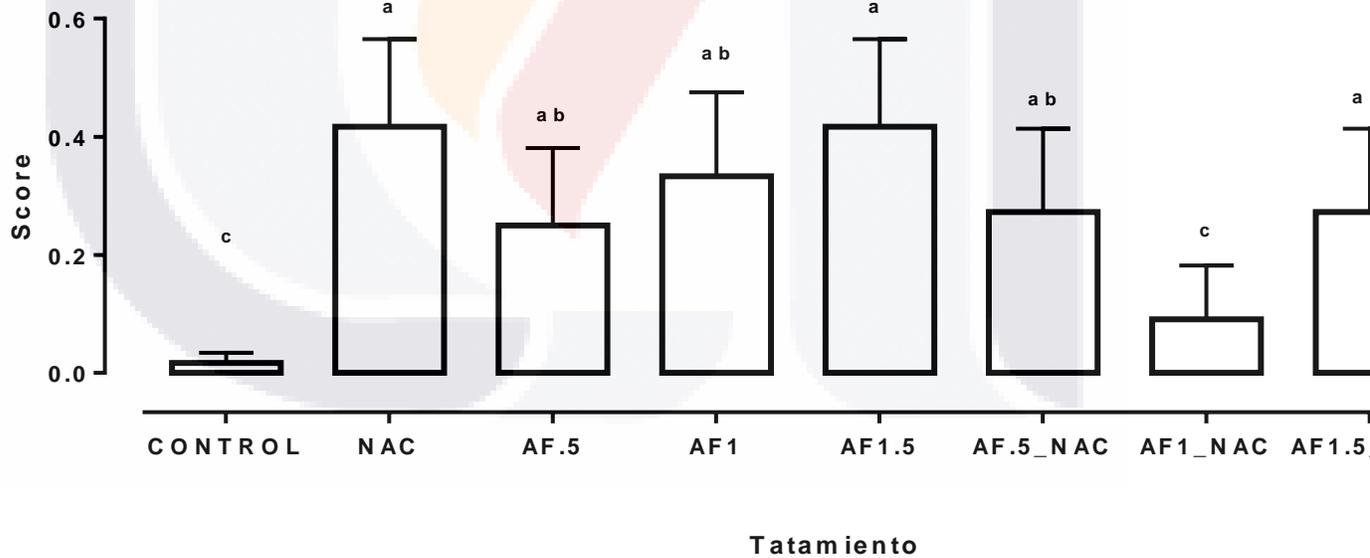


Figura 42. Ureteritis linfocítica. AF con NAC: 800 mg/kg. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

Para los grupos que recibieron NAC con la AF, significativamente hubo disminución de la lesión en el grupo que recibió 1.5 mg/kg de AF y aumento en el grupo que recibió 0.5 mg/kg de AF, que se señala en la figura 42.

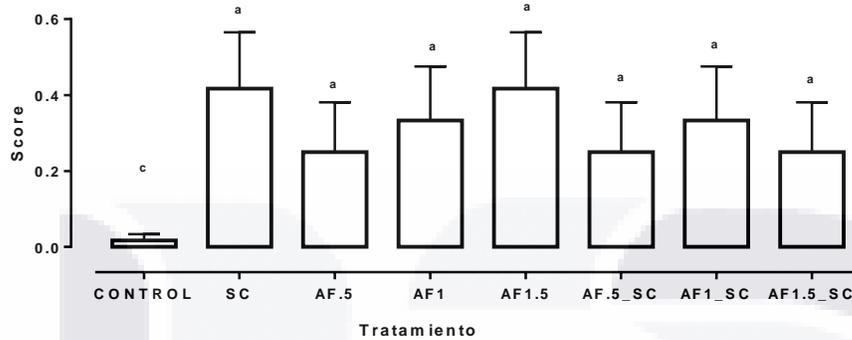


Figura 43. Ureteritis linfocítica. AF con Sc: 5 mg/kg. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según prueba LSD protegida de Fisher; ( $\alpha=0.05$ ).

En el caso de Sc, hubo disminución significativa en los tres grupos a los que se les administró Sc, lo que se puede apreciar en la figura 43 y en la figura 44, se señala esta lesión.

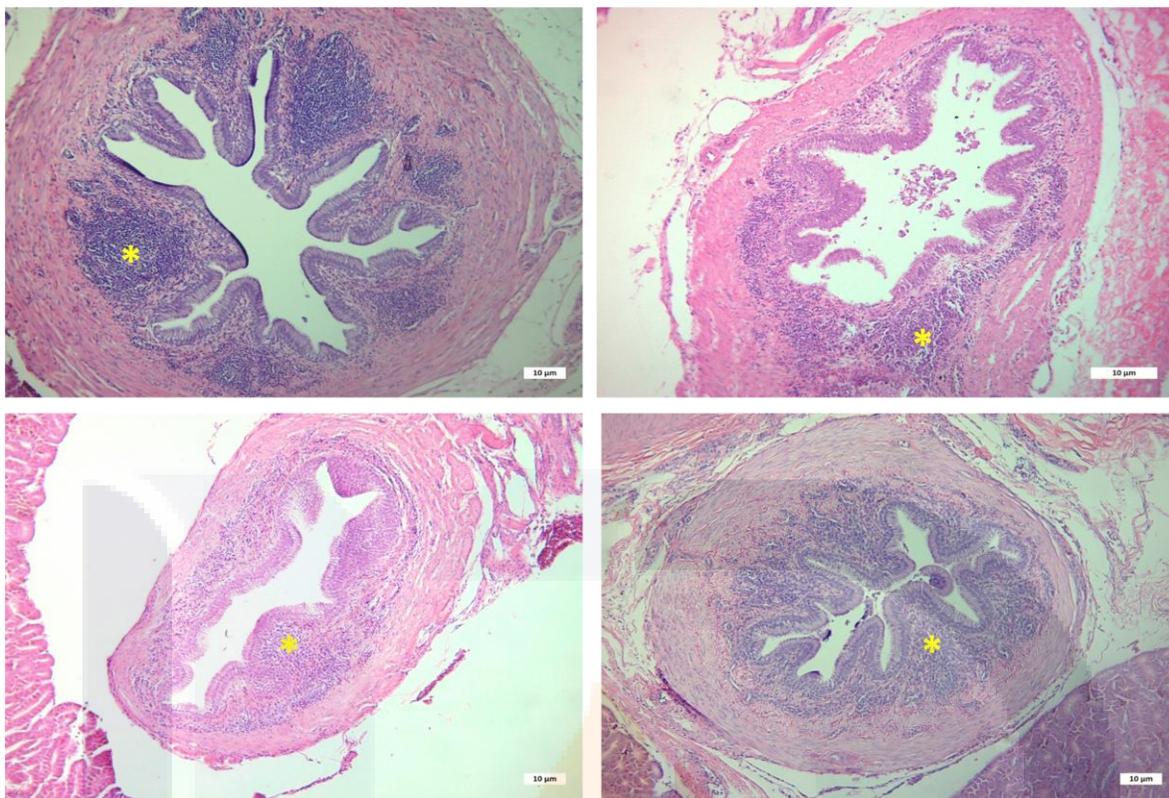


Figura 44. Riñón, H&E, 100X. Ureteritis linfocítica. El asterisco se ubica inmerso en e abundante infiltrado inflamatorio por linfocitos y en algunas ocasiones se acompaña por heterófilos.

## 5. DISCUSIÓN

La EQ, la NAC y el Sc, son sustancias que se han empleado por la industria alimentaria con diferentes fines, en esta investigación se estudiaron los efectos histopatológicos de la exposición dietética crónica a tres dosis de AF (0.5, 1.0, 1.5 mg/kg), y su interacción con la EQ (500 mg/kg), NAC (800 mg/kg) y Sc (5 mg/kg), hasta las 72 semanas. El análisis histopatológico del hígado y el riñón reveló que la exposición dietética a AF condujo a alteraciones degenerativas, inflamatorias y en el metabolismo de los lípidos, con las tres dosis de AF y al adicionarles el quimioprotector hubo disminución de éstas con algunos niveles de AF.

En el caso de la administración de AF en sus diferentes dosis como se observa en las figuras de la 17 a la 39, los grupos que recibieron la AF se comportan de acuerdo a lo reportado por diversos autores como Fernandez et al., en 2007, que reportaron cambios en la arquitectura tisular del hígado como las vacuolas de grasa contenidas en el citoplasma de los hepatocitos, consistentes con los obtenidos en esta investigación, dicho cambio se presentó al añadir en la dieta de aves de postura (Leghorn blanco), de 27 semanas de edad, AF en dosis 2.5 y 5 mg/kg de alimento durante 32 días, así mismo describen otras lesiones en el hígado de las aves como la proliferación de ductos biliares, ausentes en esta investigación. En los riñones observaron cariorrexis y picnosis de los núcleos de los túbulos proximales, dichos cambios no fueron significativos en este trabajo. Otro trabajo experimental consistió en administrar a aves de postura de 9 semanas de edad (Leghorn blanca), AF en concentraciones de 2.5, 3.13 y 3.91 mg/kg de alimento durante 40 semanas, tiempo más cercano a la duración de esta investigación, los hallazgos anatomopatológicos que reportan para hígado fueron: la degeneración vacuolar en hepatocitos y el infiltrado inflamatorio mononuclear, ambos consistentes con lo descrito

en este trabajo excepto la hiperplasia de ductos biliares. Para los riñones examinados, los cambios fueron la degeneración tubular y la infiltración de células mononucleares (Chauhan y Pandey, 2007), ambos coinciden con los hallazgos en riñón de esta investigación, también reportan necrosis, aunque en este trabajo experimental no fue significativa su presencia. En el caso de las lesiones por la AF sola, se puede observar como coinciden dichas lesiones por las descritas por la literatura, la mayoría siguen un aumento ascendente en conjunto con el tiempo, conforme aumentan las semanas éstas aumentan.

Respecto a los quimioprotectores por sí solos se observó que en la mayoría de los grupos que a los que fueron administrados no causaron lesiones, sin embargo en el caso de la inflamación linfocítica la lesión en algunos grupos de riñón e hígado, se presentó, al aplicarse por sí solos, las aves presentaron aumentó en la presencia de nefritis linfocítica, y ureteritis con el mismo tipo de infiltrado inflamatorio y ocasionalmente heterófilos lo que nos permite decir que son lesiones consistentes con algún otro tipo de agente y que no está asociada a la interacción con los protectores, ya que no hay reportes de que alguno de los quimioprotectores generen este tipo de patrón en la respuesta inflamatoria (Abdul-Aziz, 2016), además de la nefritis intersticial y la ureteritis, también algunos casos presentaron nefritis tubular ascendente, además en el hígado se observó el misma patrón de respuesta inflamatoria.

La esteatosis se incrementó significativamente cuando se dieron en conjunto la AF y la EQ, esto concuerda con la literatura que señala que la exposición dietética subcrónica a la EQ en niveles superiores a 10 mg / kg de peso corporal / día interrumpe el metabolismo de los lípidos hepáticos a través de la degradación de la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos, lo que lleva a un aumento de la deposición de lípidos y la esteatosis, esto en ratones BALB / c (Bernhard et al. 2018).

La NAC logró mejoría en la presentación de las lesiones significativas; como es sabido los mecanismos de lesión hepática son causados por una gran cantidad de factores, sin embargo la gran mayoría implican lesiones oxidativas en membranas celulares y orgánulos, proteínas, enzimas y lípidos, NAC provee de protección contra lesiones oxidativas y enfoques capaces de mantener un adecuado saldo redox (Kívia, 2015), sin embargo en el caso de la interacción de esta con la dosis de 0.5 mg/kg de AF, se observó que al incluir con esta dosis que es la menor de los tres tratamientos, la degeneración tubular aumentó; recapitulando, tenemos que la degeneración hidrópica, es la expresión más común y fundamental de la lesión celular, además los túbulos son de las células más vulnerables a padecerla, sin embargo si se restaura el oxígeno adecuado a las células y la lesión de la membrana se repara antes de que se alcance un cierto punto, el "punto de no retorno", la mayoría de las células pueden restablecerse a su función normal o casi normal. La degeneración tubular se produce en respuesta a la pérdida de la homeostasis de la célula secundaria a lesiones mecánicas, hipóxicas, tóxicas, radicales libres, viral, bacteriana y lesiones inmunomediadas (Maxie 2015), en este caso el incremento en la lesión pudo deberse al estrés oxidativo que se generó en la aves durante el experimento y no directamente a la NAC, por ejemplo los resultados obtenidos en un estudio realizado por Valdivia et al., (2001), realizado en pollos de engorda, intoxicados con AFB<sub>1</sub>, sugieren que la ingesta de NAC disminuye la gravedad de los efectos tóxicos de estas así como la mejora de parámetros productivos y puede ser utilizada para prevenir los efectos de la ingestión de AFB<sub>1</sub>. Thong-ngam et al. (2007), comprobaron que la adición NAC en la dieta atenuó el estrés oxidativo medido en el aumento o disminución de GSH y mejoró la histología hepática en ratas con esteato-necrosis no alcohólica

Sc ofreció en la mayoría de los tratamientos logró disminuir las lesiones inducidas por la AF como ha sido reportado por la literatura, algunos autores han demostrado que los componentes de la pared celular de Sc, llamados manano-oligosacáridos (MOS),

después de la esterificación, son capaces de fijar más del 95% de AFB<sub>1</sub>. La adición de glucomananos al 0,05% adicionado a la dieta mejoró el rendimiento del pollo de engorda (Aravind et al. 2003). Otros autores coinciden en que Sc puede usarse como adsorbente efectivo de micotoxinas en pollos de engorda (Ortatatli, 2005; Kusumaningtyas et al. 2006; Oelshlaeger, 2010; Pizzolitto et al. 2013; Razzaghi-Abyaneh, 2013). Otros trabajos han usado a Sc en adición con selenio, logrando también la mejora de algunos parámetros productivos en pollos de engorda intoxicados con 0.07 mg/kg de AFB<sub>1</sub> por 42 días (Fernandes et al. 2013). También se ha empleado en gallinas reproductoras con éxito (Matur et al. 2010).

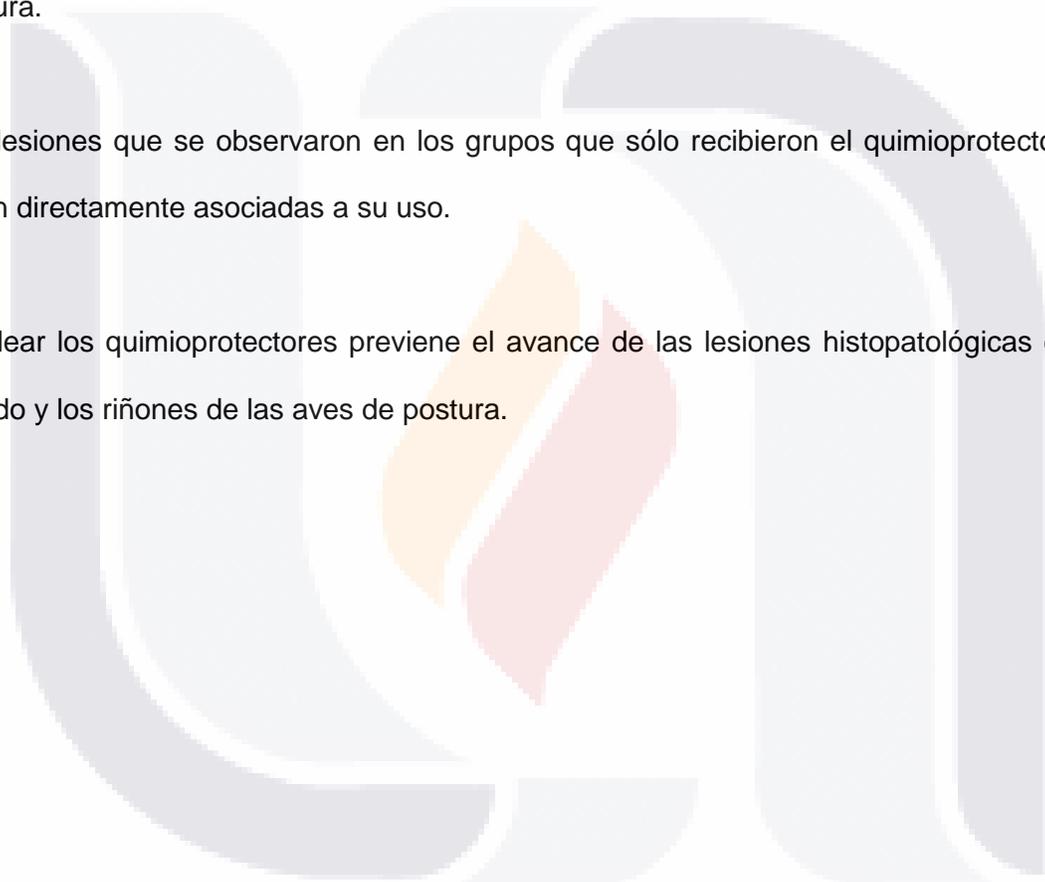


## 6. CONCLUSIONES

Los quimioprotectores Etoxiquina, N-acetilcisteína y *Saccharomyces cerevisiae* en la mayoría de las interacciones con las diferentes dosis de aflatoxinas lograron disminuir o mantener sin avance las lesiones microscópicas en el hígado y los riñones de las aves de postura.

Las lesiones que se observaron en los grupos que sólo recibieron el quimioprotector no están directamente asociadas a su uso.

Emplear los quimioprotectores previene el avance de las lesiones histopatológicas en el hígado y los riñones de las aves de postura.



## Glosario

**Ácido desoxirribonucleico (ADN).** Molécula compleja, integrante de los cromosomas, que almacena la información hereditaria en forma de variaciones en la secuencia de las bases de purina y pirimidina; esta información se traduce en la síntesis de las proteínas, por lo que es determinante de todas las características físicas y funcionales de las células y del organismo.

**Aflatoxicosis.** Intoxicación producida por el consumo de sustancias o alimentos contaminados con aflatoxinas.

**Aflatoxinas.** Micotoxinas producidas en pequeñas concentraciones por hongos del género *Aspergillus spp.*, principalmente.

**Agente adsorbente.** Es una sustancia que tiene la capacidad de adsorber toxinas u otras sustancias; el agente retiene átomos, iones o moléculas en la superficie de un material. Esto se contrapone a la absorción, que es un fenómeno de volumen.

**Aglutinantes.** Sustancias que mantienen unidos productos combinados, partículas o mezclas, las cuales son utilizadas especialmente en la producción de alimentos.

**Atrofia.** Disminución importante del tamaño de la célula y del órgano del que forma parte, debido a la pérdida de masa celular. Las células atróficas muestran una disminución de la función, pero no están muertas.

**Biodisponibilidad.** Grado y la velocidad con que una forma activa (el fármaco o uno de sus metabolitos) accede a la circulación, y alcanza de esta manera su lugar de acción.

**Biotransformación.** Cualquier transformación química de una sustancia producida por organismos vivos o por preparaciones obtenidas de éstos. Conversión de un químico desde una forma a otra por un organismo biológico.

**Carcinogénico.** Habilidad de una sustancia para causar cáncer.

**Cepa.** Conjunto de microorganismos derivados de las múltiples divisiones de una célula inicial.

**Citocromo P450** (sistema de). Encontrado en la mitocondria adrenal y en los microsomas hepáticos, es una cadena de transporte de electrones en la cual el componente terminal es el citocromo P450; este sistema participa en la detoxificación de sustancias extrañas por alterarlas para aumentar su solubilidad y facilitar la excreción. El término abarca un gran número de isoenzimas que son codificadas por una superfamilia de genes. Término relacionado, monooxigenasa, oxidasas de función mixta, reacciones de fase I.

**COS.** Número de cápsulas, de órganos y sobrantes.

**Fibronectina.** Glicoproteína de unos 440 kDa que puede presentarse en forma monomérica o dimérica y está presente en la matriz extracelular (MEC) de la mayoría de los tejidos celulares animales. Es soluble y circula por la sangre donde parece incrementar la coagulación de la sangre, la cicatrización y la fagocitosis.

**Flavina (7,8-dimetil-isoaloxazina).** Es una base nitrogenada cuya cadena principal es una sustancia heterocíclica nitrogenada de tres anillos y dos grupos oxo, conocida como isoaloxazina. Interviene en muchas reacciones bioquímicas de transferencia de hidrógeno.

**Genotoxicidad.** Capacidad para causar daño al material genético; el daño puede ser tipo mutágeno o carcinógeno.

**Glutati3n reducido (GSH).** Tripéptido no proteínico; es un antioxidante cuya funci3n es la de mantener la estabilidad de la membrana, reducir los factores de estrés oxidativo y las especies de oxígeno reactivas que se producen a partir del proceso de peroxidaci3n de lípidos.

**Hepatotóxico.** Sustancia nociva para las células del hígado.

**Hiperplasia.** Incremento del número de células de un órgano o tejido. Estas células parecen normales al microscopio. No son cancerosas, pero se pueden volver cancerosas.

**Hormesis.** En toxicología, la hormesis (del griego ὁρμάω "estimular") es un fenómeno de respuesta a dosis, caracterizado por una estimulación por dosis baja y una inhibición para dosis altas, que resulta en una curva de respuesta a nuevas dosis en forma de J o de U invertida. Un contaminante o toxina que produzcan el efecto de hormesis tiene, pues, a bajas dosis el efecto contrario al que tiene en dosis más elevadas. Es una característica de incontables medicamentos: con las dosis recomendadas tienen un efecto curativo, pero en caso de sobredosis se dan efectos dañinos para la salud.

**Intoxicación.** Proceso patológico, con signos y síntomas clínicos, causado por una sustancia de origen exógeno o endógeno.

**Metabolito.** Cualquier producto intermedio o final resultante del metabolismo. Término relacionado con la biotransformación.

**Micotoxina.** Metabolito secundario tóxico, de composición variada, producidos por organismos del reino fungi; suele referirse a sustancias tóxicas producidas por hongos que afectan a animales vertebrados en bajas concentraciones.

**Mutagénico.** Cualquier sustancia que puede inducir cambios heredables (mutaciones) en el genotipo de una célula como consecuencia de alteraciones o de pérdida de genes o de cromosomas o de parte de los mismos. Perturba a la secuencia de bases del ADN y causa una mutación; con frecuencia son químicos pero pueden también ser fuentes de energía tales como la luz ultravioleta.

**Nefrotóxico.** Sustancia nociva para las células de los riñones.

**Necroinflamatoria.** Consiste en la necrosis de los hepatocitos vecinos al espacio porta la lesión fundamental para valorar el daño histológico en la hepatitis crónica (proceso inflamatorio), conociéndose indistintamente esta lesión como necrosis periportal, necrosis

de la lámina limitante y más recientemente como necrosis de la interfase del tejido conectivo del espacio porta y los hepatocitos.

**Secuestrantes.** Compuestos químicos que tienen la propiedad de poder asociarse a los iones de los metales formando complejos estables, también se les llama agentes quelantes.

**Teratogénico.** Agente que por administración a la madre en periodo prenatal induce malformaciones estructurales o defectos en la descendencia.

**Tiol.** Es un compuesto que contiene el grupo funcional formado por un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno (-SH). Siendo el azufre análogo de un grupo hidroxilo (-OH), este grupo funcional es llamado grupo tiol o grupo sulfhidrilo. Tradicionalmente los tioles son denominados mercaptanos.

**Toxicidad.** Capacidad para producir daño a un organismo vivo, en relación con la cantidad o dosis de sustancia administrada o absorbida, la vía de administración y su distribución en el tiempo (dosis única o repetidas), tipo y severidad del daño, tiempo necesario para producir éste, la naturaleza del organismo afectado y otras condiciones intervinientes.

## REFERENCIAS

- “Aves de Corral. FAO División de Producción y Sanidad Animal.” 2016. Accessed April 2. <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/poultry/home.html>.
- “Guía de Manejo Hy-Line W-36.” 2017. Accessed April 2. [http://www.hyline.com/userdocs/pages/36\\_COM\\_SPN.pdf](http://www.hyline.com/userdocs/pages/36_COM_SPN.pdf).
- Abdel-Wahab, Wessam M, Farouzia I Moussa, and Najwa A Saad. 2017. “Synergistic Protective Effect of N -Acetylcysteine and Taurine against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats.” *Drug Design, Development and Therapy* 11: 901–8. [doi:10.2147/DDDT.S131316](https://doi.org/10.2147/DDDT.S131316).
- Abdul-Aziz, Tahseen, Oscar J. Fletcher, and H. John Barnes. 2016. “Avian Histopathology.”
- Andrade, Kívia Queiroz, Morua, Fabiana Andréa, Marques dos Santos, Jhon, Pimentel de Araújo, Orlando Roberto, de Farias Santos, Juliana, Fonseca Goulart, Marília Oliveira De. 2015. “Oxidative Stress and Inflammation in Hepatic Diseases: Therapeutic Possibilities of N -Acetylcysteine,” 30269–308. [doi:10.3390/ijms161226225](https://doi.org/10.3390/ijms161226225).
- Andreu, Catherine I., Ute Woehlbier, Mauricio Torres, and Claudio Hetz. 2012. “Protein Disulfide Isomerases in Neurodegeneration: From Disease Mechanisms to Biomedical Applications.” *FEBS Letters* 586 (18). Federation of European Biochemical Societies: 2826–34. [doi:10.1016/j.febslet.2012.07.023](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.07.023).
- Anfossi, L., F. Di Nardo, C. Giovannoli, C. Passini, and C. Baggiani. 2015. “Enzyme Immunoassay for Monitoring Aflatoxins in Eggs.” *Food Control* 57: 115–21. [doi:10.1016/j.foodcont.2015.04.013](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.04.013).
- Aravind, K L, V S Patil, G Devegowda, B Umakantha, and S P Ganpule. 2003. “Efficacy of Esterified Glucomannan to Counteract Mycotoxicosis in Naturally Contaminated Feed on Performance and Serum Biochemical and Hematological Parameters in Broilers.” *Poultry Science* 82: 571–76. [doi:10.1093/ps/82.4.571](https://doi.org/10.1093/ps/82.4.571).
- Ardic, Mustafa, Yakup Karakaya, Meryem Atasever, and Gulsah Adiguzel. 2009. “Aflatoxin M1 Levels of Turkish White Brined Cheese.” *Food Control* 20 (3). Elsevier Ltd: 196–99. [doi:10.1016/j.foodcont.2008.04.003](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.04.003).
- Avello, Marcia;, and Suwalsky Mario. 2006. “Radicales Libres, Antioxidantes Naturales y Mecanismos de Protección.” *Atenea*, no. 494: 161–72. [doi:10.4067](https://doi.org/10.4067).
- Bagchi, Manashi, Shirley Zafra-Stone, Debasis Bagchi, and Sangeeta Patel. 2012. “Chapter 27 - Oxidative Stress and Chemical Toxicity.” In *Veterinary Toxicology (Second Edition)*, edited by Ramesh C Gupta, Second Edi, 426–39. Boston: Academic Press. [doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385926-6.00027-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385926-6.00027-2).
- Banerjee, Atrayee, Max B. Trueblood, Xinsheng Zhang, Kalyan Reddy Manda, Prem Lobo, Philip D. Whitefield, Donald E. Hagen, and Nuran Ercal. 2009. “N-Acetylcysteineamide (NACA) Prevents Inflammation and Oxidative Stress in Animals Exposed to Diesel Engine Exhaust.” *Toxicology Letters* 187 (3): 187–93. [doi:10.1016/j.toxlet.2009.02.022](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.02.022).
- Banks, William J. 1996. *Histología Veterinaria Aplicada*. 2nd ed. México: El Manual Moderno.

- Bedard, Leanne L., and Thomas E. Massey. 2006. "Aflatoxin B1-Induced DNA Damage and Its Repair." *Cancer Letters* 241 (2): 174–83. [doi:10.1016/j.canlet.2005.11.018](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.11.018).
- Berlett, B S, and E R Stadtman. 1997. "Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress." *Journal of Biological Chemistry* 272 (33): 20313. [doi:10.1074/jbc.272.33.20313](https://doi.org/10.1074/jbc.272.33.20313).
- Bernabucci, Umberto, Luciana Colavecchia, Pier Paolo Danieli, Loredana Basiricò, Nicola Lacetera, Alessandro Nardone, and Bruno Ronchi. 2011. "Aflatoxin B1 and Fumonisin B1 Affect the Oxidative Status of Bovine Peripheral Blood Mononuclear Cells." *Toxicology in Vitro* 25 (3). Elsevier Ltd: 684–91. [doi:10.1016/j.tiv.2011.01.009](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.01.009).
- Bernhard, Annette, Josef D Rasinger, Helene Wislø, Øyvør Kolbjørnsen, Lene Secher, Marc H G Berntssen, Anne-katrine Lundebye, Robin Ørnsrud, and Lise Madsen. 2018. "Subchronic Dietary Exposure to Ethoxyquin Dimer Induces Microvesicular Steatosis in Male BALB / c Mice" 118 (March): 608–25. [doi:10.1016/j.fct.2018.06.005](https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.06.005).
- Birben, Esra, Umit Murat Sahiner, Cansin Sackesen, Serpil Erzurum, and Omer Kalayci. 2012. "Oxidative Stress and Antioxidant Defense." *The World Allergy Organization Journal* 5 (1): 9–19. [doi:10.1097/WOX.0b013e3182439613](https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613).
- Błaszczuk, Alina, and Janusz Skolimowski. 2015. "Cytotoxicity and Genotoxicity of Ethoxyquin Used As an Antioxidant." *Food Reviews International* 31 (3). Taylor & Francis: 222–35. [doi:10.1080/87559129.2014.994817](https://doi.org/10.1080/87559129.2014.994817).
- Bortoluzzi, C., J. M. Schmidt, H. L F Bordignon, L. M. F, Iber, J. R. Layter, and J. I M Fernandes. 2016. "Efficacy of Yeast Derived Glucomannan or Algae-Based Antioxidant or Both as Feed Additives to Ameliorate Mycotoxicosis in Heat Stressed and Unstressed Broiler Chickens." *Livestock Science* 193 (August). Elsevier: 20–25. [doi:10.1016/j.livsci.2016.09.005](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.09.005).
- Bovo, Campagnollo Fernanda, Karina C. Ganev, Khaneghah Amin Mousavi, Jéssica B. Portela, Adriano G. Cruz, Daniel Granato, Carlos H. Corassin, Carlos Augusto F Oliveira, and Anderson S. Sant'Ana. 2016. "The Occurrence and Effect of Unit Operations for Dairy Products Processing on the Fate of Aflatoxin M1: A Review." *Food Control* 68: 310–29. [doi:10.1016/j.foodcont.2016.04.007](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.007).
- Bruchim, Y., G. Segev, U. Sela, T. Bdolah-Abram, A. Salomon, and I. Aroch. 2012. "Accidental Fatal Aflatoxicosis Due to Contaminated Commercial Diet in 50 Dogs." *Research in Veterinary Science* 93 (1). Elsevier Ltd: 279–87. [doi:10.1016/j.rvsc.2011.07.024](https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.07.024).
- Cabañas, F. Javier, M. Lourdes Abarca, M. Rosa Bragulat, and Gemma Castellá. 2007. "Especies Productoras de Micotoxinas." In *Micotoxinas En Alimentos*, edited by José Miguel Soriano, 1st ed., 30–61. España.
- Castillo, Rodrigo, Patricio Huerta, Rodrigo Carrasco, and Ramón Rodrigo. 2003. "Estrés Oxidativo y Daño Renal." *Ciencia e Investigación Médica Estudiantil Latinoamericana* 8 (1): 44–53. <http://www.redalyc.org/pdf/717/71780109.pdf>.
- Çelýk, Kemal, Muzaffer Denlý, and Türker Savas. 2003. "Reduction of Toxic Effects of Aflatoxin B 1 by Using Baker Y East ( Saccharomyces Cerevisiae ) in Growing Broiler Chicks Diets Redução Dos Efeitos Tóxicos Da Aflatoxina B 1 , Utilizando-Se Levedura de Panificação ( Saccharomyces Cerevisiae ), Na Dieta De." *R. Bras. Zootec.* 3: 615–19. [doi:http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982003000300013](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982003000300013).

- Chauhan, I. Pandey a & S.S. 2007. "Studies on Production Performance and Toxin Residues in Tissues and Eggs of Layer Chickens Fed on Diets with Various Concentrations of Aflatoxin AFB1," no. January 2015: 37–41. [doi:10.1080/00071660701713534](https://doi.org/10.1080/00071660701713534).
- Chen, Jin, Kejie Chen, Shibin Yuan, Xi Peng, Jing Fang, Fengyuan Wang, Hengmin Cui, Zhengli Chen, Jingxin Yuan, and Yi Geng. 2016. "Effects of Aflatoxin B<sub>1</sub> on Oxidative Stress Markers and Apoptosis of Splens in Broilers." *Toxicology and Industrial Health* 32 (2): 278–84. [doi:10.1177/0748233713500819](https://doi.org/10.1177/0748233713500819).
- Chen, Kejie, Gang Shu, Xi Peng, Jing Fang, Hengmin Cui, Jin Chen, Fengyuan Wang, et al. 2013. "Protective Role of Sodium Selenite on Histopathological Lesions, Decreased T-Cell Subsets and Increased Apoptosis of Thymus in Broilers Intoxicated with Aflatoxin B1." *Food and Chemical Toxicology* 59. Elsevier Ltd: 446–54. [doi:10.1016/j.fct.2013.06.032](https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.06.032).
- Cortez RMO, Aldana MM, Valdivia FA, Quezada TT, Ortiz MR. 2009. "Toxicología Ambiental." In *Toxicología Ambiental*, edited by Jaramillo JF; Rincón AR; Rico MR. Aguascalientes, México.
- Coulombe, Roger A., John A. Guarisco, Patrick J. Klein, and Jeffery O. Hall. 2005. "Chemoprevention of Aflatoxicosis in Poultry by Dietary Butylated Hydroxytoluene." *Animal Feed Science and Technology* 121 (1–2): 217–25. [doi:10.1016/j.anifeedsci.2005.03.001](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.03.001).
- Dai, Yaqi, Kunlun Huang, Boyang Zhang, Liye Zhu, and Wentao Xu. 2017. "Aflatoxin B1-Induced Epigenetic Alterations: An Overview." *Food and Chemical Toxicology* 109 (17): 683–89. [doi:10.1016/j.fct.2017.06.034](https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.06.034).
- Denli, M, F Okan, and F Doran. 2004. "Effect of Dietary Conjugated Linoleic Acid ( CLA ) on Carcass Quality , Serum Lipid Variables and Histopathological Changes of Broiler Chickens Infected with Aflatoxin B 1." *South African Journal of Animal Science* 35 (2): 109–16.
- Dhanasekaran, Dharumadurai, Annamalai Panneerselvam, and Noorudin Thajuddin. 2009. "Evaluation of Aflatoxicosis in Hens Fed with Commercial Poultry Feed." *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 33 (5): 385–91. [doi:10.3906/vet-0801-21](https://doi.org/10.3906/vet-0801-21).
- Dickey, D Thomas, Leslie L Muldoon, Nancy D Doolittle, Darryl R Peterson, Dale F Kraemer, and Edward A Neuwelt. 2009. "Effect of N-Acetylcysteine Route of Administration on Chemoprotection against Cisplatin-Induced Toxicity in Rat Models." *Cancer Chemother Pharmacol* 62 (2): 235–41. [doi:10.1007/s00280-007-0597-2.Effect](https://doi.org/10.1007/s00280-007-0597-2.Effect).
- Doyle, M P, L R Beuchat, and T J Montville. 2001. *Microbiología de Los Alimentos: Fundamentos y Fronteras*. Acribia.
- El-saad, Ahmed M Abu, Mohammed A Al-kahtani, and Ashraf M Abdel-moneim. 2016. "N-Acetylcysteine and Meso-2,3 Dimercaptosuccinic Acid Alleviate Oxidative Stress and Hepatic Dysfunction Induced by Sodium Arsenite in Male Rats." *Dove Medical Press* 10: 3425–34. [doi:10.2147/DDDT.S115339](https://doi.org/10.2147/DDDT.S115339).
- European Food Safety Authority (EFSA). 2009. "Review of Mycotoxin-Detoxifying Agents Used as Feed Additives: Mode of Action, Efficacy and Feed/Food Safety." *EFSA Journal* 1 (178): 1–192. [doi:10.2903/SP.EFSA.2009.EN-22](https://doi.org/10.2903/SP.EFSA.2009.EN-22).
- Fan, Yu, Lihong Zhao, Cheng Ji, Xiaoying Li, Jia Ru, Lin XI, Jianyun Zhang, and Qiugang Ma. 2015. "Protective Effects of Bacillus Subtilis ANSB060 on Serum Biochemistry, Histopathological Changes and Antioxidant Enzyme Activities of Broilers Fed Moldy Peanut

Meal Naturally Contaminated with Aflatoxins.” *Toxins* 7 (8): 3330–43.  
[doi:10.3390/toxins7083330](https://doi.org/10.3390/toxins7083330).

FAO - ONU. 2004. “Reglamentos a Nivel Mundial Para Las Micotoxinas En Los Alimentos y En Las Raciones.” Estudio FAO. Alimentación y Nutrición, 45.

Fao. 2003. “Summary for Policymakers.” In *Climate Change 2013 - The Physical Science Basis*, edited by Intergovernmental Panel on Climate Change, 1–30. Cambridge: Cambridge University Press. <http://ebooks.cambridge.org/ref/id/CBO9781107415324A009>.

Fernandes, Oliveira Carlos Augusto, Fernanda Bovo, Carlos Humberto Corassin, Jager Alessandra Vincenzi, and Reddy Kasa Ravindranadha. 2013. “Recent Trends in Microbiological Decontamination of Aflatoxins in Foodstuffs.” In *Aflatoxins - Recent Advances and Future Prospects*, edited by Mehdi Razzaghi-Abyaneh, 1st ed., 59–92.  
[doi:http://dx.doi.org/10.5772/51120](https://doi.org/10.5772/51120).

Fernandez, A, Maria Teresa Verde, M Gascon, J Ramos, J Gomez, and G Chavez. 2007. “Variations of Clinical Biochemical Parameters of Laying Hens and Broiler Chickens Fed Aflatoxin - Containing Feed Laying Hens and Broiler Chickens Fed” 9457.  
[doi:10.1080/03079459408418973](https://doi.org/10.1080/03079459408418973).

Fetaih, Hamdy A., Amina A. Dessouki, Abeer A I Hassanin, and Ahmed S. Tahan. 2014. “Toxopathological and Cytogenetic Effects of Aflatoxin B1 (AFB1) on Pregnant Rats.” *Pathology Research and Practice* 210 (12). Elsevier GmbH.: 1079–89.  
[doi:10.1016/j.prp.2014.06.001](https://doi.org/10.1016/j.prp.2014.06.001).

Flores Ortiz, C.M., J. Vázquez Medrano, Hernández Portilla, and Luis Barbo. 2006. “Contaminación Con Micotoxinas En Alimento Balanceado y Granos de Uso Pecuario En México En El Año 2003.” *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 44 (2): 247–256.  
<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2030809>.

Gacem, Mohamed Amine, and Aminata Ould El Hadj-Khelil. 2016. “Toxicology, Biosynthesis, Bio-Control of Aflatoxin and New Methods of Detection.” *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6 (9). Elsevier B.V.: 808–14. [doi:10.1016/j.apitb.2016.07.012](https://doi.org/10.1016/j.apitb.2016.07.012).

Galle, J. 2001. “Oxidative Stress in Chronic Renal Failure.” *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 16 (11): 2135–37. [doi:10.1093/ndt/16.11.2135](https://doi.org/10.1093/ndt/16.11.2135).

Gao, J, H J Zhang, S G Wu, S H Yu, I Yoon, D Moore, Y P Gao, H J Yan, and G H Qi. 2009. “Effect of *Saccharomyces Cerevisiae* Fermentation Product on Immune Functions of Broilers Challenged with *Eimeria Tenella*.” [doi:10.3382/ps.2009-00151](https://doi.org/10.3382/ps.2009-00151).

Gao, J, H J Zhang, S H Yu, S G Wu, I Yoon, J Quigley, Y P Gao, and G H Qi. 2008. “Effects of Yeast Culture in Broiler Diets on Performance and Immunomodulatory Functions.” [doi:10.3382/ps.2007-00418](https://doi.org/10.3382/ps.2007-00418).

Gómez, Carlos O., Darwain Arrieta-Mendoza Ferrer Alexis, Lachmann Mariela, Novoa Elizabet, and Román-Bravos Rafael. 2009. “Efecto de La Ingestión de Cultivo *Saccharomyces Cerevisiae* y Selenio En Pollos de Engorde Expuestos a Bajos Niveles de Aflatoxina B1 En La Dieta.” *Revista Científica FCV-LUZ* 19: 390–99.

- Grizzle, Judith, Tarah L Hadley, David S Rotstein, Shannon L Perrin, Lillian E Gerhardt, James D Beam, Arnold M Saxton, Michael P Jones, and Gregory B Daniel. 2009. "Effects of Dietary Milk Thistle on Blood Parameters, Liver Pathology, and Hepatobiliary Scintigraphy in White Carneaux Pigeons (*Columba Livia*) Challenged with B1 Aflatoxin." *Journal of Avian Medicine and Surgery* 23 (2): 114–24. [doi:10.1647/2008-020.1](https://doi.org/10.1647/2008-020.1).
- Gross-Steinmeyer, Kerstin, and David L. Eaton. 2012. "Dietary Modulation of the Biotransformation and Genotoxicity of Aflatoxin B1." *Toxicology* 299 (2–3). Elsevier Ireland Ltd: 69–79. [doi:10.1016/j.tox.2012.05.016](https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.05.016).
- Guarisco, J. A., J. O. Hall, and R. A. Coulombe. 2008. "Butylated Hydroxytoluene Chemoprevention of Aflatoxicosis - Effects on Aflatoxin B1 Bioavailability, Hepatic DNA Adduct Formation, and Biliary Excretion." *Food and Chemical Toxicology* 46 (12). Elsevier Ltd: 3727–31. [doi:10.1016/j.fct.2008.09.050](https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.050).
- Guarisco, John A., Jeffery O. Hall, and Roger A. Coulombe. 2008. "Mechanisms of Butylated Hydroxytoluene Chemoprevention of Aflatoxicosis-Inhibition of Aflatoxin B1 Metabolism." *Toxicology and Applied Pharmacology* 227 (3): 339–46. [doi:10.1016/j.taap.2007.11.017](https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.11.017).
- Gutleb, A C, F Caloni, F Giraud, C Cortinovis, F Pizzo, L Hoffmann, T Bohn, and M Pasquali. 2015. "Detection of Multiple Mycotoxin Occurrences in Soy Animal Feed by Traditional Mycological Identification Combined with Molecular Species Identification." *Toxicology Reports* 2: 275–79. [doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.01.006](http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.01.006).
- Hathout, Amal S., and Soher E. Aly. 2014. "Biological Detoxification of Mycotoxins: A Review." *Annals of Microbiology* 64 (3): 905–19. [doi:10.1007/s13213-014-0899-7](https://doi.org/10.1007/s13213-014-0899-7).
- Hayes, J. D., S. A. Chanas, C.J. Henderson, M. McMahon, C. Sun, G.J. Moffat, C. R. Wolf, and M. Yamamoto. 2000. "The Nrf2 Transcription Factor Contributes Both to the Basal Expression of Glutathione S-Transferases in Mouse Liver and to Their Induction by the Chemopreventive Synthetic Antioxidants, Butylated Hydroxyanisole and Ethoxyquin." *Biochemical Society Transactions* 28 (2): 33–41. [doi:10.1042/bst0280033](https://doi.org/10.1042/bst0280033).
- He, J, K Y Zhang, D W Chen, X M Ding, G D Feng, and X Ao. 2013. "Effects of Maize Naturally Contaminated with Aflatoxin B1 on Growth Performance, Blood Profiles and Hepatic Histopathology in Ducks." *Livestock Science* 152 (2–3): 192–99. [doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2012.12.019](http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2012.12.019).
- Hernández-Rodríguez, Sergio, José Gutiérrez-Salinas, Liliana García-Ortíz, Paul Mondragón-Terán, Sotero Ramírez-García, and Norma R. Núñez-Ramos. 2014. "Estrés oxidativo y Nitrosativo Como Mecanismo de Daño Al Hepatocito Producido Por El Metabolismo Del Etanol." *Medicina Interna de Mexico* 30 (3): 295–308.
- Herzallah, Saqer M. 2009. "Determination of Aflatoxins in Eggs, Milk, Meat and Meat Products Using HPLC Fluorescent and UV Detectors." *Food Chemistry* 114 (3). Elsevier Ltd: 1141–46. [doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.077](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.077).
- Holgado, M, J M DE LUIS GONZALEZ, and J F MACIAS NUNEZ. 1994. "Características de Los Radicales Libres." *Revista Española de Geriatria y Gerontología* 29 (3). Garsi: 155–67.
- Hussain, Zahid, Kashif Muhammad Zargham, Khan Muhammad Saleemi, Ahrar Khan, and Shaid Rafique. 2016. "Clinicopathological Effects of Prolonged Intoxication of Aflatoxin B1 in Broiler Chiken." *Pakistan Veterinary Journal* 15: 477–81. [doi:10.1097/QCO.0b013e3283638104](https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283638104).

- Hussain, Zahid, Muhammad Zargham Khan, Ahrar Khan, Ijaz Javed, Muhammad Kashif Saleemi, Sultan Mahmood, and Muhammad Rafique Asi. 2010. "Residues of Aflatoxin B1 in Broiler Meat: Effect of Age and Dietary Aflatoxin B1 Levels." *Food and Chemical Toxicology* 48 (12). Elsevier Ltd: 3304–7. [doi:10.1016/j.fct.2010.08.016](https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.08.016).
- Iqbal, S Z, M R Asi, and A Ariño. 2017. "Aflatoxins." In *Reference Module in Life Sciences*. Elsevier. [doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.06021-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.06021-0).
- Iqbal, Shahzad Zafar, Sonia Nisar, Muhammad Rafique Asi, and S. Jinap. 2014. "Natural Incidence of Aflatoxins, Ochratoxin A and Zearalenone in Chicken Meat and Eggs." *Food Control* 43: 98–103. [doi:10.1016/j.foodcont.2014.02.046](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.02.046).
- Ji, Cheng, Yu Fan, and Lihong Zhao. 2016. "Review on Biological Degradation of Mycotoxins." *Animal Nutrition* 2 (3): 127–33. [doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2016.07.003](http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2016.07.003).
- Jia, Ru, Qiugang Ma, Yu Fan, Cheng Ji, Jianyun Zhang, Tao Liu, and Lihong Zhao. 2016. "The Toxic Effects of Combined Aflatoxins and Zearalenone in Naturally Contaminated Diets on Laying Performance, Egg Quality and Mycotoxins Residues in Eggs of Layers and the Protective Effect of *Bacillus Subtilis* Biodegradation Product." *Food and Chemical Toxicology* 90. Elsevier Ltd: 142–50. [doi:10.1016/j.fct.2016.02.010](https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.02.010).
- Jones, Dean P., Joanne L. Carlson, Vino C. Mody, Jiyang Cai, Michael J. Lynn, and Paul Sternberg. 2000. "Redox State of Glutathione in Human Plasma." *Free Radical Biology and Medicine* 28 (4): 625–35. [doi:10.1016/S0891-5849\(99\)00275-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00275-0).
- Juan, Cristina, José Miguel Soriano, and P Burdaspal. 2007. "Aflatoxinas Del Grupo B y G." In *Micotoxinas En Alimentos*, edited by José Manuel Soriano del Castillo, one, 167–84. España.
- Karaman, M, H Basmacioglu, M Ortatatli, and H Oguz. 2005. "Evaluation of the Detoxifying Effect of Yeast Glucomanan on Aflatoxicosis in Broilers as Assessed by Gross Examination and Histopathology." *British Poultry Science* 46 (3): 394–400. [doi:10.1080/00071660500124487](https://doi.org/10.1080/00071660500124487).
- Kim, Sejeong, Heeyoung Lee, Soomin Lee, Jeeyeon Lee, Jimyeong Ha, Yukyung Choi, Yohan Yoon, and Kyoung-Hee Choi. 2017. "Invited Review: Microbe-Mediated Aflatoxin Decontamination of Dairy Products and Feeds." *Journal of Dairy Science* 100 (2). American Dairy Science Association: 871–80. [doi:10.3168/jds.2016-11264](https://doi.org/10.3168/jds.2016-11264).
- Koning, Adrianus J. de. 2002. "The Antioxidant Ethoxyquin and Its Analogues: A Review." *International Journal of Food Properties* 5 (2): 451–61. [doi:10.1081/JFP-120005797](https://doi.org/10.1081/JFP-120005797).
- Kubena, L F, R B Harvey, R H Bailey, S A Buckley, and G E Rottinghaus. 1998. "Effects of a Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate (T-Bind™) on Mycotoxicosis in Young Broiler Chickens." *Poultry Science* 77: 1502–9.
- Kusumaningtyas, E., R. Widiastuti, and R. Maryam. 2006. "Reduction of Aflatoxin B1 in Chicken Feed by Using *Saccharomyces Cerevisiae*, *Rhizopus Oligosporus* and Their Combination." *Mycopathologia* 162 (4): 307–11. [doi:10.1007/s11046-006-0047-4](https://doi.org/10.1007/s11046-006-0047-4).
- Lala, A. O., O. L. Ajayi, A. O. Oso, M. O. Ajao, O. O. Oni, N. Okwelum, and O. M. O. Idowu. 2016. "Effect of Dietary Supplementation with Clay-Based Binders on Biochemical and Histopathological Changes in Organs of Turkey Fed with Aflatoxin-Contaminated Diets." *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 100 (6): 1191–1202. [doi:10.1111/jpn.12421](https://doi.org/10.1111/jpn.12421).

- Ledoux, D. R., G. E. Rottinghaus, A. J. Bermudez, and M. Alonso-Debolt. 1999. "Efficacy of a Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate to Ameliorate the Toxic Effects of Aflatoxin in Broiler Chicks." *Poultry Science* 78 (2): 204–10. [doi:10.1093/ps/78.2.204](https://doi.org/10.1093/ps/78.2.204).
- Leong, Veronica Yin-ming, and T P Brown. 1992. "Toxicosis in Broiler Chicks Due to Excess Dietary Ethoxyquin" 36 (4): 1102–6.
- Li, Xiaoying, Lihong Zhao, Yu Fan, Yaxiong Jia, Lei Sun, Shanshan Ma, Cheng Ji, Qiugang Ma, and Jianyun Zhang. 2014. "Occurrence of Mycotoxins in Feed Ingredients and Complete Feeds Obtained from the Beijing Region of China." *Journal of Animal Science and Biotechnology* 5 (1): 37. [doi:10.1186/2049-1891-5-37](https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-37).
- Li, Yan, Qiu Gang Ma, Li Hong Zhao, Hua Wei, Guo Xiang Duan, Jian Yun Zhang, and Cheng Ji. 2014. "Effects of Lipoic Acid on Immune Function, the Antioxidant Defense System, and Inflammation-Related Genes Expression of Broiler Chickens Fed Aflatoxin Contaminated Diets." *International Journal of Molecular Sciences* 15 (4): 5649–62. [doi:10.3390/ijms15045649](https://doi.org/10.3390/ijms15045649).
- Liu, Yan, Chung-Chou H. Chang, Gary M. Marsh, and Felicia Wu. 2012. "Population Attributable Risk of Aflatoxin-Related Liver Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis." *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)* 48 (14). Elsevier Ltd: 2125–36. [doi:10.1016/j.ejca.2012.02.009](https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.02.009).
- Lu, Xiaoyan, Bin Hu, Li Shao, Yu Tian, Tingting Jin, Yachao Jin, Shen Ji, and Xiaohui Fan. 2013. "Integrated Analysis of Transcriptomics and Metabonomics Profiles in Aflatoxin B1-Induced Hepatotoxicity in Rat." *Food and Chemical Toxicology* 55: 444–55. [doi:10.1016/j.fct.2013.01.020](https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.020).
- Luis Delgado Olivares, Gabriel Betanzos Cabrera, Maria Teresa Sumaya Marti z. 2010. "Importancia de Los Antioxidantes Dietarios En La Disminución Del Estrés Oxidativo." *Investigación y Ciencia de La Universidad Autónoma de Aguascalientes*, no. 1665–4412: 3–8. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67415744003>.
- Luna, López María Carolina De, Flores A G Valdivia, Velázquez W P Reyes, and Villalobos C M Bucio. 2009. "Efecto Protector de Etoxicina, Saccharomyces Cerevisiae y N-Acetilcisteína Contra La Intoxicación Alimentaria Crónica Por Aflatoxinas En Gallinas de Postura." *Universidad Autónoma de Aguascalientes*.
- Luna, López María Carolina De, Flores Arturo Gerardo Valdivia, Juárez Fernando Jaramillo, José Luis Reyes, Martínez Raúl Ortiz, and Tristán Teódulo Quezada. 2013. "Association between Aspergillus Flavus Colonization and Aflatoxins Producton in Immature Grains of Maize Genotypes." *Journal of Food Science and Engineering* 3: 688–98.
- Lushchak, V I. 2007. "Free Radical Oxidation of Proteins and Its Relationship with Functional State of Organisms." *Biochemistry (Moscow)* 72 (8): 809–27. [doi:10.1134/S0006297907080020](https://doi.org/10.1134/S0006297907080020).
- Ma, Q. G., X. Gao, T. Zhou, L. H. Zhao, Y. Fan, X. Y. Li, Y. P. Lei, C. Ji, and J. Y. Zhang. 2012. "Protective Effect of Bacillus Subtilis ANSB060 on Egg Quality, Biochemical and Histopathological Changes in Layers Exposed to Aflatoxin B1." *Poultry Science* 91 (11): 2852–57. [doi:10.3382/ps.2012-02474](https://doi.org/10.3382/ps.2012-02474).
- Magnoli, A P, M P Monge, F N Nazar, C E Magnoli, L R Cavaglieri, G Bagnis, A M Dalcero, and R H Marin. 2012. "Combined Effects of Aflatoxin B1 and Corticosterone Treatment on Selected

Performance Indices and Liver Histopathology in Japanese Quail.” *Poultry Science* 91 (2): 354–61. [doi:10.3382/ps.2011-01763](https://doi.org/10.3382/ps.2011-01763).

Magnoli, A P, M P Monge, R D Miazzo, L R Cavaglieri, C E Magnoli, C I Merkis, A L Cristofolini, A M Dalcerro, and S M Chiacchiera. 2011. “Effect of Low Levels of Aflatoxin B<sub>1</sub> on Performance, Biochemical Parameters, and Aflatoxin B<sub>1</sub> in Broiler Liver Tissues in the Presence of Monensin and Sodium Bentonite.” *Poultry Science* 90 (1): 48–58. [doi:10.3382/ps.2010-00971](https://doi.org/10.3382/ps.2010-00971).

Makki, Omid Fani, Arash Omid, Nik Hossein Ansari, Seyed Ahmad Hasheminejad, and Senjedak Seyed Morteza Hosseini. 2009. “Anti-Aflatoxin B1 Effects of Shirazi Thyme (*Zataria Multiflora*) in Broilers: Evaluation of Performance and Liver Histopathology.” *Veterinary Science Development* 6: 1–18. [doi:10.4081/vsd.2015.6090](https://doi.org/10.4081/vsd.2015.6090).

Maldonado, O, E Jiménez, M Bernabé, G Ceballos, and E Méndez. 2010. “Radicales Libres y Su Papel En Las Enfermedades Crónico-Degenerativas.” *Rev Med UV*, no. 272: 32–39. [https://www.uv.mx/rm/num\\_anteriores/revmedica\\_vol10\\_num2/articulos/radicales.pdf](https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf).

Manahan, SE. n.d. *Introducción a La Química Ambiental*.

Manson, M. M., J. A. Green, and H. E. Driver. 1987. “Ethoxyquin Alone Induces Preneoplastic Changes in Rat Kidney Whilst Preventing Induction of Such Lesions in Liver by Aflatoxin B<sub>1</sub>.” *Carcinogenesis* 8 (5): 723–28. [doi:10.1093/carcin/8.5.723](https://doi.org/10.1093/carcin/8.5.723).

Martínez de Anda, A, AG Valdivia, F Jaramillo Juárez, J L Reyes, R Ortiz, T Quezada, M C de Luna, and M L Rodríguez. 2010. “Effects of Aflatoxin Chronic Intoxication in Renal Function of Laying Hens.” *Poultry Science* 89 (8): 1622–28. [doi:10.3382/ps.2010-00763](https://doi.org/10.3382/ps.2010-00763).

Mary, Verónica S., Martín G. Theumer, Silvina L. Arias, and Héctor R. Rubinstein. 2012. “Reactive Oxygen Species Sources and Biomolecular Oxidative Damage Induced by Aflatoxin B<sub>1</sub> and Fumonisin B<sub>1</sub> in Rat Spleen Mononuclear Cells.” *Toxicology* 302 (2–3). Elsevier Ireland Ltd: 299–307. [doi:10.1016/j.tox.2012.08.012](https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.08.012).

Matur, E, E Ergul, I Akyazi, E Eraslan, and Z T Cirakli. 2010. “The Effects of *Saccharomyces Cerevisiae* Extract on the Weight of Some Organs, Liver, and Pancreatic Digestive Enzyme Activity in Breeder Hens Fed Diets Contaminated with Aflatoxins.” *Poultry Science* 89 (10): 2213–20. [doi:10.3382/ps.2010-00821](https://doi.org/10.3382/ps.2010-00821).

Maxie, G. 2015. *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Elsevier Health Sciences. <https://books.google.com.mx/books?id=X7RgCgAAQBAJ>.

Mclean, Michelle, and Michael F. Dutton. 1995. “Cellular Interactions and Metabolism of Aflatoxin : An Update” 65 (94): 163–92. [doi:https://doi.org/10.1016/0163-7258\(94\)00054-7](https://doi.org/10.1016/0163-7258(94)00054-7).

Meyskens, Frank L., Hasan Mukhtar, Cheryl L. Rock, Jack Cuzick, Thomas W. Kensler, Chung S. Yang, Scott D. Ramsey, Scott M. Lippman, and David S. Alberts. 2016. “Cancer Prevention: Obstacles, Challenges, and the Road Ahead.” *Journal of the National Cancer Institute* 108 (2): 1–8. [doi:10.1093/jnci/djv309](https://doi.org/10.1093/jnci/djv309).

Mézes, Miklós, Krisztián Balogh, and Katalin Tóth. 2010. “Preventive and Therapeutic Methods against the Toxic Effects of Mycotoxins — A Review.” *Acta Veterinaria Hungarica* 58 (1): 1–17. [doi:10.1556/AVet.58.2010.1.1](https://doi.org/10.1556/AVet.58.2010.1.1).

- Miazzo, R, C a Rosa, E C De Queiroz Carvalho, C Magnoli, S M Chiacchiera, G Palacio, M Saenz, A Kikot, E Basaldella, and A Dalcero. 2000. "Efficacy of Synthetic Zeolite to Reduce the Toxicity of Aflatoxin in Broiler Chicks." *Poultry Science* 79 (1): 1–6. [doi:https://doi.org/10.1093/ps/79.1.1](https://doi.org/10.1093/ps/79.1.1).
- Mishra, Sakshi, Premendra D. Dwivedi, Haushila P. Pandey, and Mukul Das. 2014. "Role of Oxidative Stress in Deoxynivalenol Induced Toxicity." *Food and Chemical Toxicology* 72. Elsevier Ltd: 20–29. [doi:10.1016/j.fct.2014.06.027](https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.06.027).
- Monson, Melissa, Roger Coulombe, and Kent Reed. 2015. "Aflatoxicosis: Lessons from Toxicity and Responses to Aflatoxin B1 in Poultry." *Agriculture* 5 (3): 742–77. [doi:10.3390/agriculture5030742](https://doi.org/10.3390/agriculture5030742).
- Nagy, Péter. 2013. "Forum Review Article Kinetics and Mechanisms of Thiol-Disulfide Exchange Covering Direct Substitution and Thiol Oxidation-Mediated Pathways" 6996: 1–59.
- Nimse, Satish Balasaheb, and Dilipkumar Pal. 2015. Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. RSC Adv. Vol. 5. [doi:10.1039/C4RA13315C](https://doi.org/10.1039/C4RA13315C).
- Oakley, Aaron. 2011. "Glutathione Transferases: A Structural Perspective." *Drug Metabolism Reviews* 43 (2): 138–51. [doi:10.3109/03602532.2011.558093](https://doi.org/10.3109/03602532.2011.558093).
- Oelschlaeger, Tobias A. 2010. "Mechanisms of Probiotic Actions - A Review." *International Journal of Medical Microbiology* 300 (1). Elsevier: 57–62. [doi:10.1016/j.ijmm.2009.08.005](https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.08.005).
- Oikawa, Shinji, Keitaro Yamada, Naruto Yamashita, Saeko Tada-Oikawa, and Shosuke Kawanishi. 1999. "N-Acetylcysteine, a Cancer Chemopreventive Agent, Causes Oxidative Damage to Cellular and Isolated DNA." *Carcinogenesis* 20 (8): 1485–90. [doi:10.1093/carcin/20.8.1485](https://doi.org/10.1093/carcin/20.8.1485).
- Ortatatli, M., H. Oğuz, F. Hatipoğlu, and M. Karaman. 2005. "Evaluation of Pathological Changes in Broilers during Chronic Aflatoxin (50 and 100 Ppb) and Clinoptilolite Exposure." *Research in Veterinary Science* 78 (1): 61–68. [doi:10.1016/j.rvsc.2004.06.006](https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2004.06.006).
- Peña, Doralinda Guzmán De. 2007. "La Exposición a La Aflatoxina B1 En Animales de Laboratorio y Su Significado En La Salud Pública." *Salud Publica de Mexico* 49 (3): 227–35. [doi:10.1590/S0036-36342007000300008](https://doi.org/10.1590/S0036-36342007000300008).
- Pham-Huy, Lien Ai, Hua He, and Chuong Pham-Huy. 2008. "Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health." *International Journal of Biomedical Science: IJBS* 4 (2): 89–96. [doi:10.1073/pnas.0804252105](https://doi.org/10.1073/pnas.0804252105).
- Pimpukdee, K, L F Kubena, C a Bailey, H J Huebner, E Afriyie-Gyawu, and T D Phillips. 2004. "Aflatoxin-Induced Toxicity and Depletion of Hepatic Vitamin A in Young Broiler Chicks: Protection of Chicks in the Presence of Low Levels of NovaSil PLUS in the Diet." *Poultry Science* 83: 737–44. [doi:10.1093/ps/83.5.737](https://doi.org/10.1093/ps/83.5.737).
- Pizzolitto, R P, M R Armando, M A Salvano, A M Dalcero, and C A Rosa. 2013. "Evaluation of *Saccharomyces Cerevisiae* as an Antiaflatoxicogenic Agent in Broiler Feedstuffs." *Poultry Science* 92 (6): 1655–63. [doi:10.3382/ps.2012-02846](https://doi.org/10.3382/ps.2012-02846).
- Prawan A, Kundu JK, Surh YJ. 2005. "Implications for Chemoprevention and Chemoprotection" 7: 1688–1703.

- Prophet, Edna. 1995. *Metodos Histotecnológicos*. Washington.
- Qian, Guoqing, Franklin Wang, Lili Tang, Michael E Massey, Nicole J Mitchell, Jianjia Su, Jonathan H Williams, Timothy D Phillips, and Jia-Sheng Wang. 2013. "Integrative Toxicopathological Evaluation of Aflatoxin B<sub>1</sub> Exposure in F344 Rats." *Toxicologic Pathology* 41 (8): 1093–1105. [doi:10.1177/0192623313477256](https://doi.org/10.1177/0192623313477256).
- Rawal, Sumit, and Roger A. Coulombe. 2011. "Metabolism of Aflatoxin B<sub>1</sub> in Turkey Liver Microsomes: The Relative Roles of Cytochromes P450 1A5 and 3A37." *Toxicology and Applied Pharmacology* 254 (3). Elsevier Inc.: 349–54. [doi:10.1016/j.taap.2011.05.010](https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.05.010).
- Rawal, Sumit, Ji Eun Kim, and Roger Coulombe. 2010. "Aflatoxin B<sub>1</sub> in Poultry: Toxicology, Metabolism and Prevention." *Research in Veterinary Science* 89 (3). Elsevier Ltd: 325–31. [doi:10.1016/j.rvsc.2010.04.011](https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.04.011).
- Razzaghi-Abyaneh, Medhi. 2013. *Aflatoxins - Recent Advances And Future Prospects*. Edited by Mehdi Razzaghi-Abyaneh. 1st ed. Croacia: InTech. [doi:dx.doi.org/10.5772/2500](https://doi.org/10.5772/2500).
- Resnik, Silvia, M.Lourdes Costarrica, and Ana Pacin. 1995. "Mycotoxins in Latin America and the Caribbean." *Food Control* 6 (1): 19–28. [doi:10.1016/0956-7135\(95\)91450-Y](https://doi.org/10.1016/0956-7135(95)91450-Y).
- Reuter, Simone, Subash C Gupta, Madan M Chaturvedi, and Bharat B Aggarwal. 2010. "Free Radical Biology & Medicine Oxidative Stress , Inflammation, and Cancer : How Are They Linked?" *Free Radical Biology and Medicine* 49 (11). Elsevier Inc.: 1603–16. [doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006).
- Rotimi, O.A., S.O. Rotimi, C.U. Duru, O.J. Ebebeinwe, A.O. Abiodun, B.O. Oyeniyi, and F.A. Faduyile. 2017. "Acute Aflatoxin B<sub>1</sub> – Induced Hepatotoxicity Alters Gene Expression and Disrupts Lipid and Lipoprotein Metabolism in Rats." *Toxicology Reports* 4 (March). Elsevier: 408–14. [doi:10.1016/j.toxrep.2017.07.006](https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.07.006).
- Samet, James M., and Phillip A. Wages. 2018. "Oxidative Stress from Environmental Exposures." *Current Opinion in Toxicology* 7. Elsevier Ltd: 60–66. [doi:10.1016/j.cotox.2017.10.008](https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.10.008).
- Samuni, Yuval, Sara Goldstein, Olivia M Dean, and Michael Berk. 2013. "Biochimica et Biophysica Acta The Chemistry and Biological Activities of N-Acetylcysteine." *BBA - General Subjects* 1830 (8). Elsevier B.V.: 4117–29. [doi:10.1016/j.bbagen.2013.04.016](https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.04.016).
- Sanchis, Vicente, Sonia Marín, and Antonio J. Ramos. 2007. "Factores Determinantes En La Producción de Micotoxinas." In *Micotoxinas En Alimentos*, edited by J. Castillo, 1st ed., 64–89. España.
- Scanes, Colin G. 2015. *Avian Physiology*. Edited by Colin G. Scanes. 6th ed.
- Snedecor, GW, and WG Cochran. 1967. *Statistical Methods*. Ames.
- Stadtman, E. R., and R. L. Levine. 2003. "Free Radical-Mediated Oxidation of Free Amino Acids and Amino Acid Residues in Proteins." *Amino Acids* 25 (3–4): 207–18. [doi:10.1007/s00726-003-0011-2](https://doi.org/10.1007/s00726-003-0011-2).
- Thong-ngam, Duangporn, Suchittra Samuhasaneeto, Onanong Kulaputana, and Naruemon Klaikeaw. 2007. "N-Acetylcysteine Attenuates Oxidative Stress and Liver Pathology in Rats with Non-Alcoholic Steatohepatitis" 13 (38): 5127–32.

- Tulpule, P G, and Drug Toxicology. 1981. "Clinical Oncology." *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 137–42.
- Uribe-Yunda, Diego Fernando, and María Cristina Navas. 2012. "Mecanismos Moleculares Involucrados En La Mutagenicidad Inducida Por Aflatoxina B1." *Revista Ciencias de La Salud* 10 (3): 403–19.
- Valdivia, A G, A Martínez, F J Damián, T Quezada, R Ortíz, C Martínez, J Llamas, et al. 2001. "Efficacy of N-Acetylcysteine to Reduce the Effects of Aflatoxin B1 Intoxication in Broiler Chickens." *Poultry Science* 80 (6): 727–34. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11441839>.
- Vipin, AV, Raksha RK, KK Nawneet, KA Anu Appaiah, and G Venkateswaran. 2017. "Protective Effects of Phenolics Rich Extract of Ginger against Aflatoxin B1-Induced Oxidative Stress and Hepatotoxicity." *Biomedicine and Pharmacotherapy* 91. Elsevier Masson SAS: 415–24. [doi:10.1016/j.biopha.2017.04.107](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.04.107).
- Wang, Jia Sheng, and John D. Groopman. 1999. "DNA Damage by Mycotoxins." *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 424 (1–2): 167–81. [doi:10.1016/S0027-5107\(99\)00017-2](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00017-2).
- Wattenberg, Lee W. 1996. "Chemoprevention of Cancer." *The Lancet* 342 (8881): 1211–13. [doi:10.1016/0140-6736\(93\)92189-Z](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)92189-Z).
- Willcox, Joye K., Sarah L. Ash, and George L. Catignani. 2004. "Antioxidants and Prevention of Chronic Disease." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44 (4): 275–95. [doi:10.1080/10408690490468489](https://doi.org/10.1080/10408690490468489).
- Wittwer, F; Chihuailaf RH; A. Contreras, P. 2002. "Patogénesis Del Estrés Oxidativo : Consecuencias y Evaluación En Salud Animal," no. September 2015.
- Wu, Qinghua, Alena Jezkova, Zonghui Yuan, Lucie Pavlikova, Vlastimil Dohnal, and Kamil Kuca. 2009. "Biological Degradation of Aflatoxins." *Drug Metabolism Reviews* 41 (1): 1–7. [doi:10.1080/03602530802563850](https://doi.org/10.1080/03602530802563850).
- Yang, Xuan, Yangjun Lv, Kunlun Huang, Yunbo Luo, and Wentao Xu. 2016. "Zinc Inhibits Aflatoxin B1-Induced Cytotoxicity and Genotoxicity in Human Hepatocytes (HepG2 Cells)." *Food and Chemical Toxicology* 92. Elsevier Ltd: 17–25. [doi:10.1016/j.fct.2016.03.012](https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.03.012).
- Yarru, L P, R S Settivari, E Antoniou, D R Ledoux, and G E Rottinghaus. 2009. "Toxicological and Gene Expression Analysis of the Impact of Aflatoxin B1 on Hepatic Function of Male Broiler Chicks." *Poultry Science*, no. December: 360–71. [doi:10.3382/ps.2008-00258](https://doi.org/10.3382/ps.2008-00258).
- Yuef, Hadassa, Martínez Padrón, Sanjuana Hernández Delgado, and Centro De Biotecnología Genómica. 2013. "El Género *Aspergillus* y Sus Micotoxinas En Maíz En México : Problemática y Perspectivas The Genus *Aspergillus* and Their Mycotoxins in Maize in Mexico : Problems and Perspectives." *Revista Mexicana De Fitopatología* 31: 126–46. [doi:0185-3309](https://doi.org/10.185-3309).
- Zafarullah, M., W. Q. Li, J. Sylvester, and M. Ahmad. 2003. "Molecular Mechanisms of N-Acetylcysteine Actions." *Cellular and Molecular Life Sciences* 60 (1): 6–20. [doi:10.1007/s000180300001](https://doi.org/10.1007/s000180300001).
- Zain, Mohamed E. 2011. "Impact of Mycotoxins on Humans and Animals." *Journal of Saudi Chemical Society* 15 (2). King Saud University: 129–44. [doi:10.1016/j.jscs.2010.06.006](https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.06.006).

Zentella, P M, G S Corona, B Y Saldaña, and G E Piña. 1994. "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 13: 87–93.

Zhang, J., N. Zheng, J. Liu, F. D. Li, S. L. Li, and J. Q. Wang. 2015. "Aflatoxin B1 and Aflatoxin M1 Induced Cytotoxicity and DNA Damage in Differentiated and Undifferentiated Caco-2 Cells." Food and Chemical Toxicology 83: 54–60. [doi:10.1016/j.fct.2015.05.020](https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.05.020).

Zhou, Jian, Jiao-Jiao Xu, Jin-Mi Cong, Zeng-Xuan Cai, Jing-Shun Zhang, Jun-Lin Wang, and Yi-Ping Ren. 2017. "Optimization for QuEChERS Extraction of Mycotoxins and Veterinary Drugs by Response Surface Methodology for Application to Egg and Milk." Journal of Chromatography A. Elsevier B.V. [doi:10.1016/j.chroma.2017.11.050](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.11.050).

