

ISBN 970-27-1045-6

EFFECTOS DE LA INGESTIÓN DEL CLENBUTEROL DURANTE LA ETAPA DE GESTACIÓN Y LACTANCIA SOBRE DAÑO EN HIGADO, RIÑÓN Y CORAZÓN DE CRIAS RECIEN NACIDAS, AL DESTETE Y A LOS 60 DIAS DE EDAD

**EMVZ Mayra Fabiola Carbajal Andrade, Dra. Esther Albarrán Rodríguez,
Dr. David Ávila Figueroa., MVZ Xochitl Ávila Dávila.,
MVZ Jorge Hernández Mercado., M en C Guillermo Nolasco Rodríguez.,
Dr. Manuel Rosales Cortes**

División de Ciencias Veterinarias C.U.C.B.A., U de G.
Km 15.5 carretera Guadalajara-Nogales, Predio las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal.

Introducción

El clenbuterol es conocido como un fármaco β -agonista. Además de su valor clínico y terapéutico, presenta un efecto dual al aumentar la masa muscular y disminuir la deposición de grasa (Hanrahan, 1987), por la característica antes mencionada, presenta importantes beneficios económicos en la producción de carne comercial. Esto ha conducido al uso no adecuado e ilegal de esta droga y de otros β -agonistas (así como fenoterol, metaproterenol, salbutamol y terbutalina) como promotores de crecimiento en animales de interés pecuario.

La utilización del clenbuterol en el ganado de consumo a dosis elevadas favorece la aparición de depósitos en hígado, músculo, retina, pelo, entre otros. Estos depósitos pueden originar intoxicaciones en las personas que consuman dichos tejidos, cuando la suspensión del fármaco no se hace con tiempo suficiente para que desaparezca totalmente de los productos destinados a consumo humano (Elliot, 1993).

A nivel nacional, durante 2002, Jalisco se ubicó en el primer sitio al registrar 114 personas intoxicadas. Este problema ha aumentado en los dos últimos años con las siguientes cifras: en 2005 se registraron 225 casos y para octubre del 2006 se tienen reportados oficialmente un total de 249 casos para el estado (SSJ, 2006).

Los síntomas, con un período de latencia de entre 30 min. y 6 h, se caracterizan por la aparición brusca de temblores musculares, palpitations, taquicardia, nerviosismo, cefaleas y mialgias, dichos síntomas tienen una duración de 40 h (Hoffman, 2001). Los signos de toxicidad como temblores musculares, sudación, intranquilidad, entre otros, se manifiestan también en los humanos cuando consumen carne (sobre todo hígado) de animales tratados con clenbuterol de forma no autorizada y por lo tanto fraudulenta y peligrosa (Botana, 2002).

Este fármaco presenta una serie de efectos sobre diversos procesos fisiológicos, solo se mencionaran los mas importantes para el presente trabajo: el clenbuterol es un medicamento capaz de retardar el proceso de parto en especies como yeguas, ovejas, vacas y mujer (Sumano y col., 2002), además, existen publicaciones que indican que dicho compuesto atraviesa la barrera placentaria en diversas especies animales entre ellas roedores, perro y mandril (Kopitar, 1969; Rominger and Schrank, 1982; Schmid, 1980). También se indica que puede inducir hipertrofia muscular e inhibición del crecimiento longitudinal de huesos en ratas jóvenes (Kitaura y col., 2002). Por ultimo, se asocia con mortalidad neonatal en roedores, sin que se conozcan los mecanismos asociados con este fenómeno (FAO/WHO, 1993).

A pesar de la prohibición del uso del clenbuterol en nuestro país como anabolizante, clandestinamente se sigue empleando, lo que hace necesario el desarrollo de técnicas analíticas sensibles para su detección, además de conocer sus efectos en diferentes órganos y a diferentes niveles.

Hipótesis

Si la administración repetida de clenbuterol en ratas hembras gestantes se asocia a mortalidad de las crías, sin que se conozcan los mecanismos relacionados, entonces se podrán encontrar alteraciones o daños, en órganos como hígado, riñones y corazón, evidentes a nivel histopatológico.

Objetivos general

Evaluar los efectos de la ingestión del clenbuterol durante la etapa de gestación y lactancia sobre daño en hígado, riñones y corazón de crías de ratas recién nacidas, al destete y a los 60 días de edad.

Materiales y métodos

El presente trabajo se realizara en el Laboratorio de Morfofisiología del Departamento de Medicina Veterinaria de la División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara.

Se utilizaran un total de 40 hembras y 5 machos adultos de la cepa Wistar, se obtendrán del Zooterio del Centro Universitario. Durante la fase de adaptación y experimental los animales se alojaran en el bioterio del Lab. de Morfofisiología que cuenta con las siguientes condiciones ambientales: temperatura 17-22 C, 12h luz-12h oscuridad, recambio de aire constante y 45-65% de humedad relativa. La

limpieza de jaulas se realizara 2 veces por semana, contarán con alimentación (Rodent Lab Chow 5001, Tradico Inc.) y agua *ad libitum*. Para el manejo reproductivo se utilizara un macho por cada 3 hembras, por lo tanto se alojaran en jaulas colectivas durante 7 días.

Durante la fase experimental las hembras gestantes o lactando se alojaron en jaulas individuales. El manejo y sacrificio de las ratas se realizaron con base a normas nacionales (NOM-ZOO-064-1999) e internacionales (Howard-Jones, 1985; NRC, 1999).

Diseño Experimental

Se utilizaran 40 ratas Wistar jóvenes adultas de 250 a 300 g de peso, gestantes, con las cuales se formaran: un grupo control (n=10) y tres experimental (n=30). De cada rata gestante se obtendrán las crías, que se identificarán para conformar tres subgrupos o edades. Se utilizará un diseño experimental completamente al azar:

$$Y = \mu + ti + e$$

Y = variables en evaluación

μ = media

ti = tratamientos: control, experimentales 1,2 y 3

e= error experimental

Grupo control

Diez ratas se mantendrán en condiciones de bioterio con alimentación y agua a libre acceso a lo largo de la gestación y durante la lactancia (21 días). Las crías al nacer se identificarán para conformar 3 subgrupos: recién nacidas (12-24 hrs), destetadas (21 días) y 60 días.

Grupo experimental 1

Diez ratas se les suministraran por vía oral una dosis de 20 mg/Kg de peso vivo, de clenbuterol durante el segundo y tercer tercio de la gestación. Al nacimiento las crías se identificarán para conformar 3 subgrupos: recién nacidas (12-24 hrs), destetadas (21 días) y a los 60 días.

Grupo experimental 2

Diez ratas gestantes se les suministraran por vía oral una dosis de 20 mg/kg de peso vivo, de clenbuterol durante el segundo y tercer tercio de la gestación y durante la lactancia (21 días). Al destete las crías se separarán en 2 subgrupos: destetadas (21 días) y 60 días

Grupo experimental 3

Diez ratas se les suministraran por vía oral una dosis de 20 mg/kg de peso vivo, de clenbuterol durante la lactancia (21 días). Al nacimiento las crías se identificarán para conformar 2 subgrupos: destetadas (21 días) y a los 60 días.

Estudio Histopatológico

Para cada una de los subgrupos se sacrificará una muestra representativa de crías (n=6). Los animales se anestésarán con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sodico a una dosis de 40 mg/Kg. Se realizará una perfusión intracardiaca, utilizando como solución lavadora, solución salina fisiológica (NaCl 0.95, heparina 1000 U/Lt y procaina 0.1%), y como solución fijadora paraformaldehído al 4% en buffer de fosfatos 0.1 M, pH 7.3 a 37 C. El volumen de las soluciones por animal será de 50, 100 y 250 ml a una presión de 125 mmHg, para crías recién nacidas, 21 y 60 días de edad respectivamente.

Para la evaluación histopatológica se obtendrán muestras representativas de hígado, corazón y riñones, se procesarán por la técnica histológica rutinaria: deshidratación en series crecientes de etanol 70, 80, 90, 96 y 100%, alcohol absoluto-xilol, infiltración en parafina, inclusión en parafina (Procesador de tejidos Microm Modelo STP-120). Se obtendrán cortes de 5 μ m de espesor que se tiñeran con Hematoxilina y Eosina (HE) (AFIP, 1995).

Literatura citada

- AFIP. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. Métodos Histotecnológicos. Editado por Edna B. Propnet, Bob Mills, Jacquelyn B. Arrington, Leslie H Sobin. Versión en Castellano editada y traducida por Clara S. Haffess, Forabel G. Mullick. 1995;253.
- BOTANA, LM Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Edición 2002. 124-287-288.
- ELLIOT, C. AND S.H.D. MCCAUGHEY W.J., Residues of the β -agonist clenbuterol in tissues of medicated farm animals. Food additives and contaminants, 1993. 2(10): p. 231-244.
- FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Fortieth report of Joint World Health Organization. WHO-Technical report series. New York : WHO, 1993:832-862.
- HANRAHAN, J., B- Agonists and their effects on animal growth and carcass quality. Elsevier, London, 1987.
- HOFFMAN, R. and C.F. RS HOFFMAN, RH POPPENG AND LEWIS S., Clenbuterol Ingestion Prolonged Tachycardia, Hypocalcemia and Hypophosphatemia with Confirmation by Quantitative Levels. Clinical Toxicology, 2001. 39(4): p. 339-344.
- HOWARD-JONES N. El código ético del COICM sobre los experimentos con animales. Crónica de la OMS. 1985;39:55.
- KITAURA T, TSUNEKAWA N, KRAEMER WJ. Inhibited longitudinal growth of bones in young rats by clenbuterol. Med Sci Sports Exerc. 2002. 34: 267-273.
- NOM-EM-015-ZOO-2002. Especificaciones técnicas para el control del uso de beta-agonistas en los animales. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, pesca y Alimentación.
- NRC. National Research Council. National Academy Press. Nutrient requirements of laboratory animals. Fourth Revised Edition. 1995;12.

SUMANO LH., OCAMPO CL., GUTIÉRREZ OL. Clenbuterol y otros β -agonistas, ¿una opción para la producción pecuaria o un riesgo para la salud pública? Vet. Mex. 2002. 33: 137-159.