

247.298

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



ESTUDIO MICROSCOPICO DE TESTICULO DE RATOS
ALIMENTADOS CON FURAZOLIDONA Y CON
HUEVOS DE GALLINAS ALIMENTADAS
CON FURAZOLIDONA

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :
SUSANO ZATARAIN LIZARRAGA

ASESORES:

M. V. Z. PABLO HERNANDEZ JAUREGUI
M. S. C. MA. CRISTINA REVILLA MONSALVE
M. V. Z. JUAN JOSE ROMANO PADRO

MEXICO, D. F.

1984





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
MATERIAL Y METODOS	6
RESULTADOS	11
DISCUSION	33
CONCLUSIONES	36
LITERATURA CITADA	37

ESTUDIO MICROSCOPICO DE TESTICULO DE RATONES ALI--
MENTADOS CON FURAZOLIDONA Y CON HUEVOS DE GALLINAS
ALIMENTADAS CON FURAZOLIDONA.

Susano Zatarain Lizárraga

Asesores: M.V.Z. Pablo Hernández-Jaúre
gui

M.Sc. Ma. Cristina Revilla -
Monsalve

M.V.Z. Juan José Romano Pa--
dró

RESUMEN.

Se llevaron a cabo conjuntamente dos ex-
perimentos para evaluar el probable efecto tóxico
de la furazolidona sobre la espermatogénesis en --
ratones; este fármaco fué agregado al alimento en
dosis profiláctica (0.011%) y en dosis terapéutica
(0.022%). En el experimento I los ratones consu-
mieron huevos liofilizados (procedentes de galli-
nas que recibieron furazolidona en las concentra-
ciones señaladas) mezclados con alimento comercial
para ratones. En el experimento II los ratones --
consumieron directamente el alimento medicado con
la furazolidona. Los resultados obtenidos mues- -
tran que ningún grupo de ratones (con excepción -
del IV del experimento I, que recibió alimento con
yema de la dosis terapéutica) de los dos experimen-
tos sufrió disminución significativa en el peso --
testicular. Asimismo, el grado de avance de la es-
permatogénesis no fué alterada significativamente,
completándola normalmente todos los ratones de los
dos experimentos.

La evaluación con el microscopio electrónico --
realizada sobre los ratones del experimento II, -
muestra una serie de lesiones en los espermatoцитos
primarios que, salvo la irregularidad nuclear; no

fueron estadísticamente significativas. La espermatógenesis no sufrió detención ni disminución.

Febrero, 1984

INTRODUCCION.

Los nitrofuranos son compuestos sintéticos con propiedades antimicrobianas utilizados tanto en medicina humana como en veterinaria; son derivados del furán y requieren la presencia del radical 5-Nitro en el anillo furánico para que ejerzan acción antimicrobiana. Su mecanismo de acción aún no está del todo establecido; inhiben algunos sistemas enzimáticos esenciales para el crecimiento microbiano (23).

Los nitrofuranos requieren una reducción metabólica a productos intermediarios para que desarrollen actividad antimicrobiana, y en ocasiones, daño celular (12, 13, 19, 20); esta reducción metabólica se ve favorecida en un medio anaerobio (13,19). Entre otros, la furazolidona, N-(5-nitro-furfuriliden)-1-amino-2-oxazolidona, forma parte de este grupo de compuestos.

Actualmente es un hecho relativamente frecuente el uso de la furozolidona como aditivo en los alimentos balanceados para los animales, y en ocasiones también como aditivo en el alimento de uso humano. Ha sido demostrado que a través del grupo nitro algunos nitrofuranos tienen la propiedad de formar neoplasias (1,3,4,5,14) y mutaciones (9,13).

Cohen y Sagi (2), en un experimento con nifurprazina y furazolidona, encontraron que estos compuestos causaban diferentes grados de supresión mitótica, siendo más marcada la causada por furazolidona, encontrándose también ruptura de cromosomas. En diversos trabajos con nitrofuranos se ha visto que la administración de éstos a ratas o a ratones ha producido disminución o detención de la espermatogénesis en diferentes etapas de la misma, y en ocasiones atrofia testicular (6,16,17,18,21).

Nelson y Bunge (15), encontraron que el furantadín administrado oralmente (en humanos), puede producir depresión espermática temporal. Yunda y Kushniruk (26), estudiaron el efecto de la nitrofurantoina y del furagín sobre la espermatogénesis en ratas; las preparaciones estudiadas mostraron tener una acción gonotóxica específica. Los procesos principalmente afectados fueron la espermiogénesis y las etapas tardías del ciclo del epitelio espermatogénico. Estos disturbios fueron acompañados por disminución en el contenido de ácido nucleico en las células, especialmente en las series de espermatoцитos y espermátides. En la mayoría de los túbulos seminíferos la espermatogénesis fué detenida en la fase de espermatoцитo primario.

Hershberger et al. (8), trataron ratones machos con diferentes concentraciones de nitrofurazona. A partir de la tercera semana de tratamiento estos ratones se aparearon con hembras. Los machos tratados con nitrofurazona a razón de 6 mg/día no fueron capaces de fertilizar a ninguna hembra.

Recientemente han sido estudiados los testículos de gallos que consumieron concentraciones profilácticas y terapéuticas de furazolidona (7,25). Los resultados de dicho estudio permiten conocer hoy en día que con concentraciones profilácticas del fármaco en cuestión se produce disminución de la espermatogénesis, ya que los túbulos seminíferos de los testículos de estos gallos tuvieron la espermatogénesis en un 70% a nivel de espermatoцитos primarios; el 30% restante de los túbulos completaron la espermatogénesis normal. Utilizando el microscopio electrónico se pudo determinar que con la concentración profiláctica de furazolidona existe la formación de vesículas intranucleares, tanto en las espermatogonias como en los espermatoцитos primarios, particularmente los

paquitenos (tercera etapa de la profase de la primera división meiótica). Cuando fueron utilizadas concentraciones mayores de furazolidona, como lo es la dosis terapéutica, el daño que se produce en los túbulos seminíferos de los testículos de gallos alimentados con estas concentraciones por espacio de 15 días, es mayor. Las lesiones se localizan preferentemente en los espermatoцитos primarios paquitenos y se describen una gama de lesiones que se inician con la irregularidad de la membrana nuclear, pérdida de la granulación de la cromatina y mayor densidad de esta última. La formación de vesículas intranucleares fué prominente, y el desarreglo de la cromatina nuclear con ruptura de la membrana y liberación del material intranuclear fueron hallazgos frecuentes.

El propósito del presente trabajo fué el determinar si la posible presencia de metabolitos de furazolidona en el huevo de gallinas que han consumido dosis profilácticas (0.011%) o dosis terapéuticas (0.022%) en el alimento, son capaces de producir alteraciones en los testículos de mamíferos que se alimentan con esos huevos. Así como el evaluar ultraestructuralmente el efecto de la furazolidona (administrada directamente en el alimento) sobre la espermatogénesis en ratones.

MATERIAL Y METODOS.

EXPERIMENTO I

Se alojaron en jaulas individuales 15 gallinas de la raza Leghorn, de 58 semanas de edad, que se encontraban en oviposición. Las aves fueron separadas en tres grupos de cinco animales cada uno, se les dió un alimento para la fase Postura - II, compuesto de los siguientes ingredientes:

Sorgo	603.0	Kgs.
Soya	215.5	"
Girasol	50.0	"
Harina de pescado	10.0	"
Aceite	5.0	"
Carbonato de calcio	77.0	"
Hueso	22.5	"
Alfalfa	8.7	"
Cromofil oro	0.5	"
Pigsafil rojo	0.8	"
Vitaminas postura	2.5	"
Minerales ave	0.5	"
Metionina	1.0	"
Sal	3.0	"

Todas las gallinas fueron alimentadas bajo el mismo régimen de formulación durante 45 días, variando únicamente la concentración de furozolidona en los grupos de prueba; antes de ésto se les dió un período de acondicionamiento de una semana, durante la cual todas consumieron alimento sin medicar.

El grupo I de las gallinas recibió en el alimento la concentración de 0.011% de furazolidona; el grupo II recibió la dosis terapéutica (0.022%); y el grupo III no recibió furazolidona en el alimento y sirvió como control en el experimento.

Los huevos que produjeron las gallinas de los diferentes grupos fueron obtenidos e identificados; posteriormente fueron separadas la clara y la yema y luego liofilizadas y concentradas en forma separada. Después de esto, se procedió a micromezclar estas claras y yemas con alimento comercial para ratones. Una vez hechas las micromezclas, el alimento fué peletizado, de tal manera que quedaron los siguientes tipos de alimento:

- I.- Alim. comercial para ratón (91%) + clara - profiláctica (9%)
- II.- Alim. comercial para ratón (79%) + yema - profiláctica (21%)
- III.- Alim. comercial para ratón (91%) + clara terapéutica (9%)
- IV.- Alim. comercial para ratón (79%) + yema - terapéutica (21%)
- V.- Alim. comercial para ratón (91%) + clara control (9%)
- VI.- Alim. comercial para ratón (79%) + yema - control (21%)
- T.- Alim. comercial para ratón, únicamente (control).

Se formaron seis grupos de 10 ratones cada uno, y uno de 5 (grupo T=Testigo); se identificaron de igual manera que los tipos de alimento que consumieron: grupos I, II, III, IV, V, VI y T.

NOTA: Todos los ratones de los dos experimentos fueron de la Cepa NIH, obtenidos bajo condiciones de barrera y libres de patógenos específicos

(S.P.F.); machos sexualmente maduros, de fertilidad comprobada y con un peso promedio de 34 g.

EXPERIMENTO II

En este experimento, además de la evaluación con el microscopio de luz, se realizó un estudio con el microscopio electrónico para conocer el efecto de la furazolidona sobre los testículos de ratones sexualmente maduros que consumieron directamente el alimento para gallinas medicado en las concentraciones anteriormente señaladas (profilácticas y terapéuticas). Esta parte del trabajo se realizó para obtener el conocimiento del efecto -- del fármaco en cuestión sobre la meiosis en mamíferos y compararlos con los obtenidos previamente en un estudio con gallos (7,25) bajo las mismas concentraciones. Se formaron 3 grupos de 10 ratones -- cada uno y uno de 5, y fueron identificados de la siguiente manera:

- I-G.- Alimento para gallinas con 0.011% de furazolidona.
- II-G.- Alimento para gallinas con 0.022% de furazolidona.
- III.G.- Alimento para gallinas sin furazolidona.
- IV.- Alimento comercial para ratón, sin furazolidona.

Los ratones de todos los grupos de los -- dos experimentos consumieron su respectivo régimen alimenticio durante 30 días, tiempo después del -- cual fueron sometidos a perfusión intracardiaca -- con una solución de Karnowsky (10), previa anestesia con droperidol y ketalar (0.20 y 0.10 ml. respectivamente, para cada 25 g. de peso, intraperitoneal). Una vez perfundidos los animales se obtuvieron los testículos y se dejaron a fijar por espacio de dos horas en la misma solución, por inmersión; pasado este tiempo, se obtuvieron secciones representativas de parénquima testicular de 1 mm³ -- que se lavaron en amortiguador de cacodilatos. Pos

teriormente fueron postfijados en tetróxido de osmio al 1% durante 90 minutos. Las muestras fueron deshidratadas en alcoholes que van de menor a mayor concentración, y finalmente fueron tratadas en forma convencional para su inclusión en resinas epoxy. Una vez obtenida la polimerización, se hicieron cortes de 1 micra de espesor en un ultramicrotomo Porter Blum MT-1 y fueron teñidos con Paragón y luego observados en el microscopio de luz para orientar la zona a estudiar, previa tinción con Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo (22), en el microscopio electrónico (Philips EM-300, Philips Corporation, Holanda).

Una parte de los testículos fijados fué sometida a deshidratación con alcoholes e incluidos en parafina para estudios convencionales de microscopía de luz. Cortes de 4 a 6 micras de espesor fueron teñidos con hematoxilina-eosina para su evaluación. De estos cortes se estudiaron 30 túbulos seminíferos escogidos al azar, en los cuales fué evaluado el grado alcanzado de la espermatogénesis y los posibles cambios que pudieran presentarse.

Tomando en cuenta los reportes en la literatura en el sentido de que los nitrofuranos pueden llegar a causar grados variables de atrofia testicular (6,16,17,18,21), fueron colectados y pesados los testículos izquierdos de los ratones de todos los grupos para determinar si existía diferencia entre los animales que recibieron furazolidona en el alimento y los que no la recibieron.

RESULTADOS.

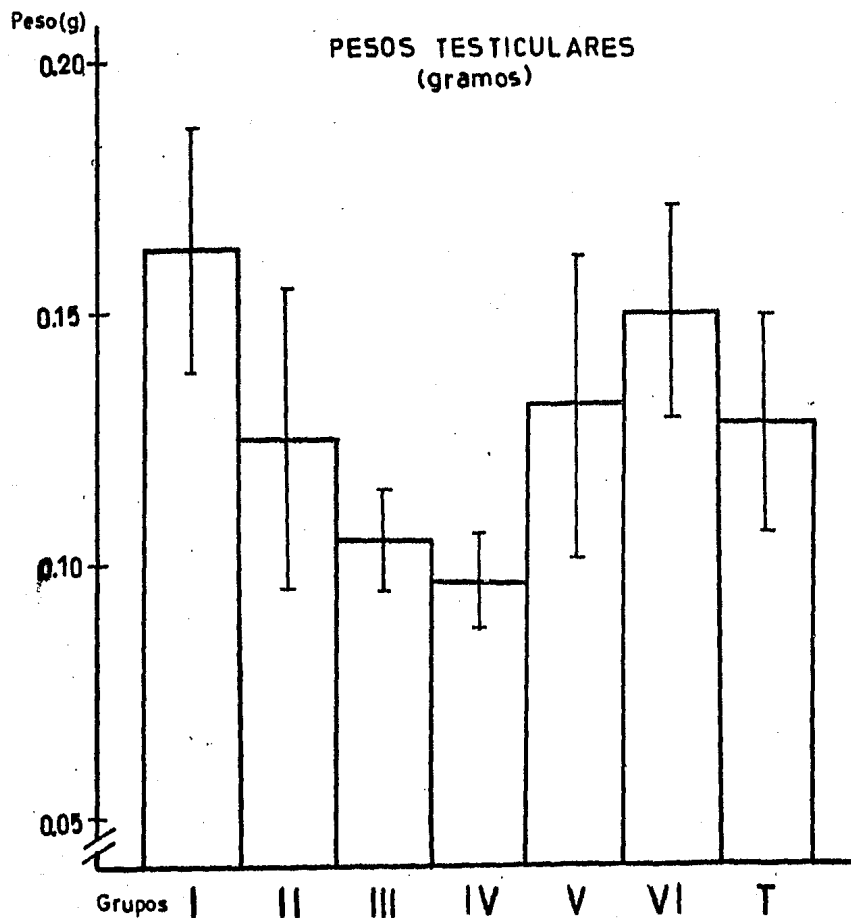
EXPERIMENTO I

Los resultados obtenidos luego de pesar el testículo izquierdo de los ratones de todos los grupos fueron sometidos a análisis estadístico ("t" de student); dicho análisis mostró que sólo el grupo IV (que recibió en su alimento yema terapéutica) presentó disminución significativa ($p > 0.005$) en el peso testicular, comparado con los grupos testigos. En la figura 1 se muestran gráficamente tales resultados.

La evaluación del grado de avance de la espermatogénesis fué hecha de acuerdo a la clasificación de Leblond y Clermont (11), que establecen 14 estadios diferentes en los túbulos seminíferos de ratones.

Después del conteo de los diferentes estadios de los túbulos seminíferos de los ratones de cada uno de los grupos, se optó por agruparlos del I al V, del VI al X y del XI al XIV por tener características similares, expresando la cantidad de los hallazgos en porcentaje.

En el cuadro 1 se muestran los porcentajes de los hallazgos de los estadios de los túbulos seminíferos de los ratones. Como puede ser apreciado, no hay diferencias significativas entre los siete grupos; todos completaron la espermatogénesis y se encuentran predominantemente en las fases del I al V.



Grupo I: Alimento con clara con dosis profiláctica (0.01%) de Furazolidona.

Grupo II: Alimento con yema con dosis profiláctica de Furazolidona.

Grupo III: Alimento con clara con dosis terapéutica (0.022%) de Furazolidona.

Grupo IV: Alimento con yema con dosis terapéutica de Furazolidona.

Grupo V: Alimento con clara sin Furazolidona.

Grupo VI: Alimento con yema sin Furazolidona.

Grupo T: Alimento comercial para ratón, sin Furazolidona.

Figura 1.-Histograma de los pesos testiculares de ratones que consumieron alimento para ratón adicionado con clara o yema provenientes de gallinas alimentadas con diferentes concentraciones de furazolidona.

CUADRO No. 1

PORCENTAJES DE HALLAZGOS DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DE -
 LOS TUBULOS SEMINIFEROS DE LOS RATONES QUE RECIBIERON --
 HUEVOS LIOFILIZADOS EN SU ALIMENTO.

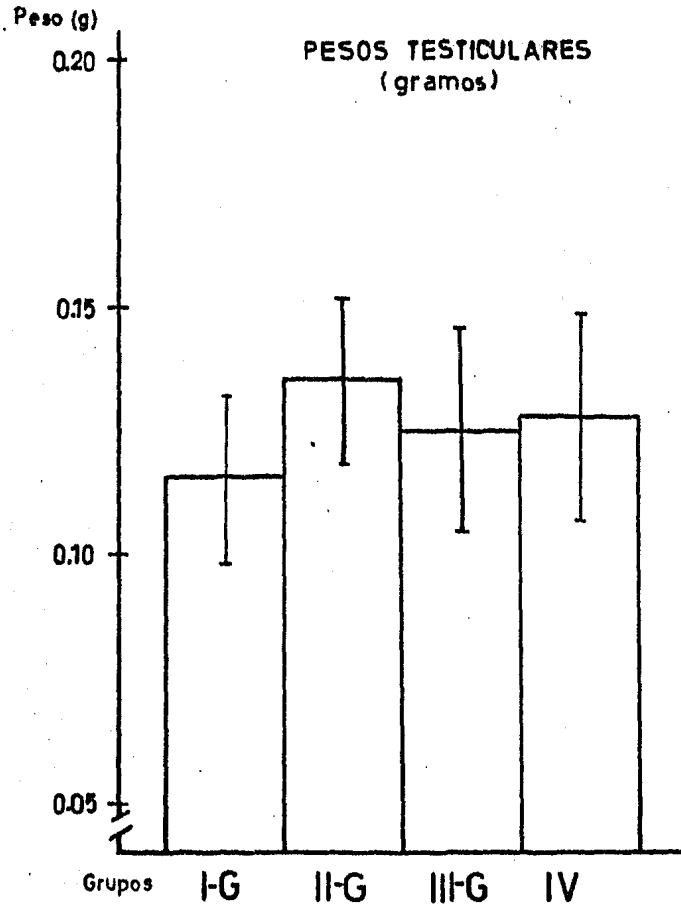
GRUPO	ESTADIOS		
	I al V	VI al X	XI al XIV
I	43.70	38.51	17.77
II	52.38	35.23	12.38
III	48.33	36.25	15.41
IV	37.40	37.40	25.18
V	48.09	30.04	12.85
VI	42.66	40.66	16.66
T	56.66	30.00	13.33

EXPERIMENTO II

En este experimento también se pesaron los testículos izquierdos de los ratones de todos los grupos. Después de analizar estadísticamente los resultados de dicho pesaje, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.2$) entre los grupos que consumieron furazolidona en el alimento -- (I-G y II-G) y los grupos de ratones que no la consumieron (III-G y IV). En la Figura No. 2 se muestran gráficamente estos resultados.

De igual manera que en el experimento I, aquí también se evaluó el grado de avance de la espermatogénesis de acuerdo con lo establecido por Leblond y Clermont (11). Los resultados pueden ser observados en el cuadro No. 2, donde puede apreciarse que no existen diferencias significativas en los porcentajes de hallazgos de los diferentes estadios de los túbulos seminíferos de los cuatro grupos de ratones. Todos completaron su espermatogénesis normal, encontrándose predominantemente en los estadios de I al V.

En las Figuras 3 y 4 pueden apreciarse microfotografías que muestran túbulos seminíferos con diferentes grados de avance de la espermatogénesis.



Grupo I-G: Alimento para gallina + dosis profiláctica (0.011%) de Furazolidona.

Grupo II-G: Alimento para gallina + dosis terapéutica (0.022%) de Furazolidona.

Grupo III-G: Alimento para gallina sin Furazolidona.

Grupo IV: Alimento para ratón sin Furazolidona.

P > 0.2

Figura 2. Histograma de los pesos testiculares de ratones que consumieron alimento para gallina con diferentes concentraciones de furazolidona.

CUADRO No. 2

PORCENTAJE DE HALLAZGOS DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DE LOS TUBULOS SEMINIFEROS DE LOS GRUPOS DE RATONES QUE RECIBIERON DIRECTAMENTE LA FURAZOLIDONA EN EL ALIMENTO.

GRUPO	Estadios		
	I al V	VI al X	XI al XIV
I-G	57.77	27.40	14.81
II-G	49.58	32.91	17.50
III- G	47.61	30.47	21.90
IV	56.66	30.00	13.33

Fig. 3.- Micrografía de varios túbulos seminíferos de un ratón del grupo II-G (que recibió 0.022% de furazolidona) que muestra diferentes grados de avance de la espermatogénesis que se enumeran de acuerdo a lo establecido por Leblond y Clermont (11). En el espacio intertubular se aprecian células de Leydig (CL). X 1,000

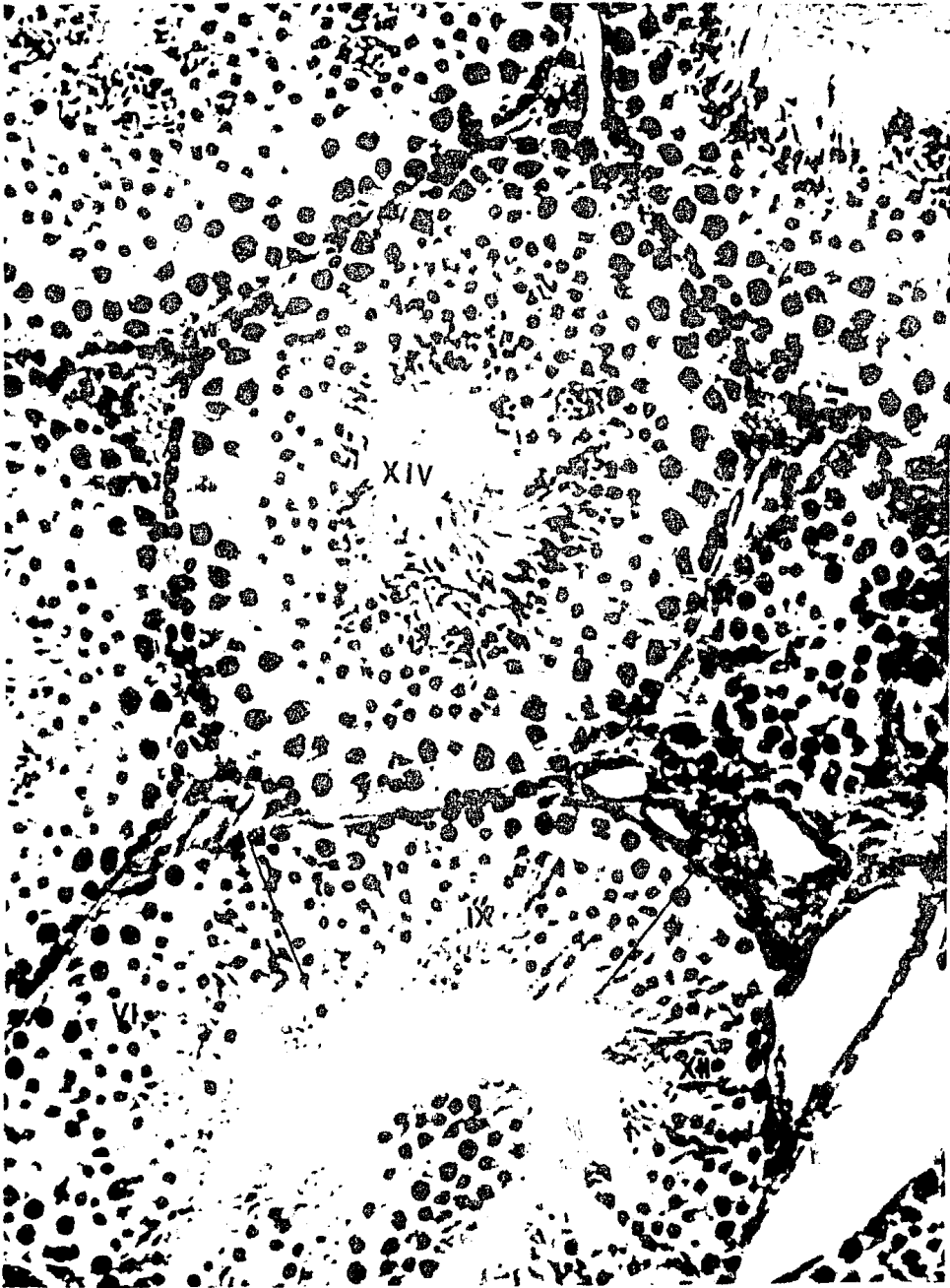
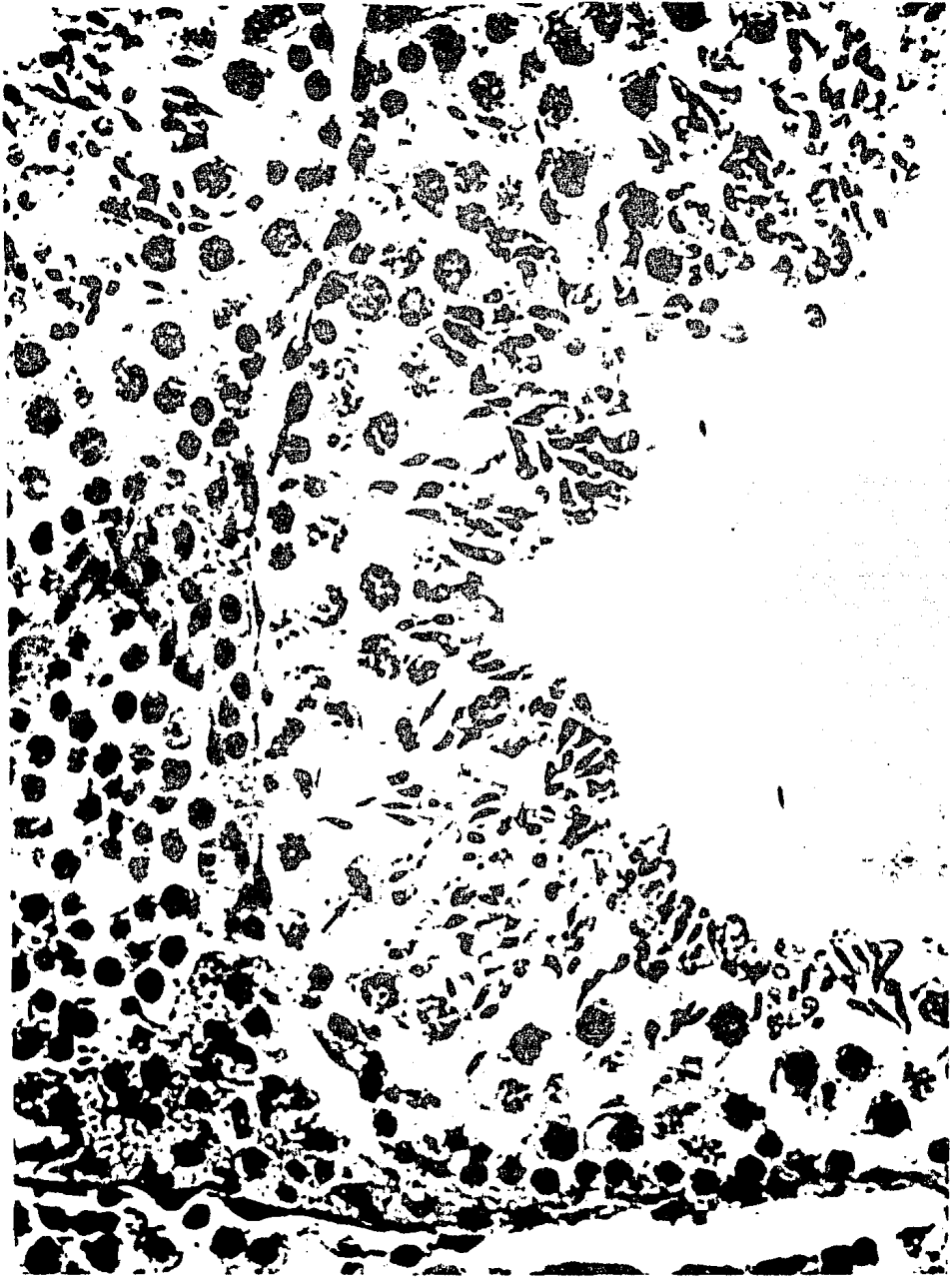


Fig. 4.- Micrografía a mayor aumento de un túbulo-seminífero de un ratón del mismo grupo -- (II-G), que muestra con detalle la morfología del avance de la espermatogénesis.- Pueden apreciarse células en división -- (flechas). X 1,600



La evaluación con el microscopio electrónico del efecto de la furazolidona sobre la espermatogénesis en los ratones se hizo sobre los espermatozoides primarios paquitenos, ya que es en éstos donde pueden ser vistas con más facilidad las alteraciones celulares producidas por los nitrofuranos. Los paquitenos de los ratones que recibieron la dosis profiláctica (0.011%) en el alimento mostraron irregularidad nuclear; se encontró también en tres de ellos cromatina desorganizada. De igual modo, muchos de estos paquitenos presentaron núcleo vacuolado, otros citoplasma vacuolado, y algunos con núcleo y citoplasma vacuolado. Los paquitenos de los ratones que consumieron la dosis terapéutica (0.022%) mostraron alteraciones cuantitativa y cualitativamente similares a las presentadas por los ratones con la dosis profiláctica (ver cuadro 3). Sin embargo, entre estos grupos que recibieron furazolidona (I-G y II-G), comparados con los grupos testigos (III-G y IV) que no la recibieron, sólo existen diferencias estadísticamente significativas en lo que se refiere a número de paquitenos anormales y a paquitenos con núcleo irregular. Estos resultados fueron sometidos al análisis estadístico utilizando la prueba no paramétrica de "U de Mann-Whitney" (24).

En las Figuras 5,6,7,8 y 9 se muestran algunas electromicrografías donde pueden ser apreciadas diferentes tipos de lesiones celulares.

NUMERO ANIMAL	NUMERO DE PAQUITENOS	PAQUITENOS NORMALES	PAQUITENOS ANORMALES	NUCLEO IRREGULAR	CROMATINA DESORGAN.	NUCLEO VACUOLADO	CITOPLASMA VACUOLADO	CITOPLASMA NUCLEO VACUOLADO
IG 1	30	17	13	"	2	-	7	-
IG-2	30	11	19	1	-	2	15	1
IG-3	30	10	20	1	-	5	14	-
IG-4	30	12	18	2	-	9	4	3
IG-5	30	18	12	2	1	9	-	-
IG-6	30	14	16	2	-	-	14	-
IG-7	30	16	14	3	-	2	9	-
IG-9	30	10	20	6	-	7	7	-
TOTAL:	240 (100%)	108 (45%)	132 (55%)	21 (15.9%)	3 (2.3%)	34 (25.8%)	70 (53%)	4 (3%)
IIG-1	30	15	15	4	-	2	9	-
IIG-2	30	10	20	2	-	-	18	-
IIG-3	30	13	17	3	2	4	8	-
IIG-4	30	5	25	5	1	1	18	-
IIG-5	30	23	7	1	-	1	5	-
IIG-6	30	11	19	4	-	2	12	1
IIG-8	30	9	21	3	-	2	15	1
IIG-9	30	6	24	4	4	2	14	-
IIG-10	30	8	22	3	3	1	14	-
TOTAL:	270 (100%)	100 (37%)	170 (63%)	29 (17.1%)	10 (5.9%)	15 (8.8%)	113 (66.5%)	3 (1.8%)
IIIG-1	30	26	4	-	-	4	-	-
IIIG-2	30	18	12	-	-	2	10	-
IIIG-3	30	20	10	-	-	1	9	-
IIIG-4	30	17	13	1	-	1	11	-
IIIG-5	30	17	13	-	-	1	12	-
IIIG-7	30	17	13	3	-	1	9	-
IIIG-8	30	28	2	-	-	2	-	-
IIIG-9	30	22	8	-	-	1	7	-
TOTAL:	240 (100%)	165 (69%)	75 (31%)	4 (5.3%)	-	13 (17.3%)	58 (77.3%)	-
IVT-1	30	20	10	-	-	-	10	-
IVT-2	30	27	3	-	-	-	3	-
IVT-3	30	19	11	1	-	3	6	1
IVT-4	30	18	12	-	-	-	11	1
TOTAL:	120 (100%)	84 (70%)	36 (30%)	1 (0.83%)	-	3 (2.5%)	30 (25%)	2 (1.66%)

CUADRO No. 3 Parametros evaluados con el microscopio electrónico en espermatocitos primarios paquitenos.

Fig. 5.- Micrografía electrónica de un túbulo seminífero de un ratón del grupo testigo (IV que consumió alimento sin furazolidona) que muestra 2 espermatoцитos primarios paquitenos con características morfológicas normales (1 y 2). En los núcleos se puede observar la condensación de la cromatina nuclear en forma de grumos y la formación de complejos sinaptonémicos (flechas), que son característicos en esta etapa de la meiosis. Las relaciones con células de Sertoli (S) son normales. Pared tubular -- (PT). X 6,000.

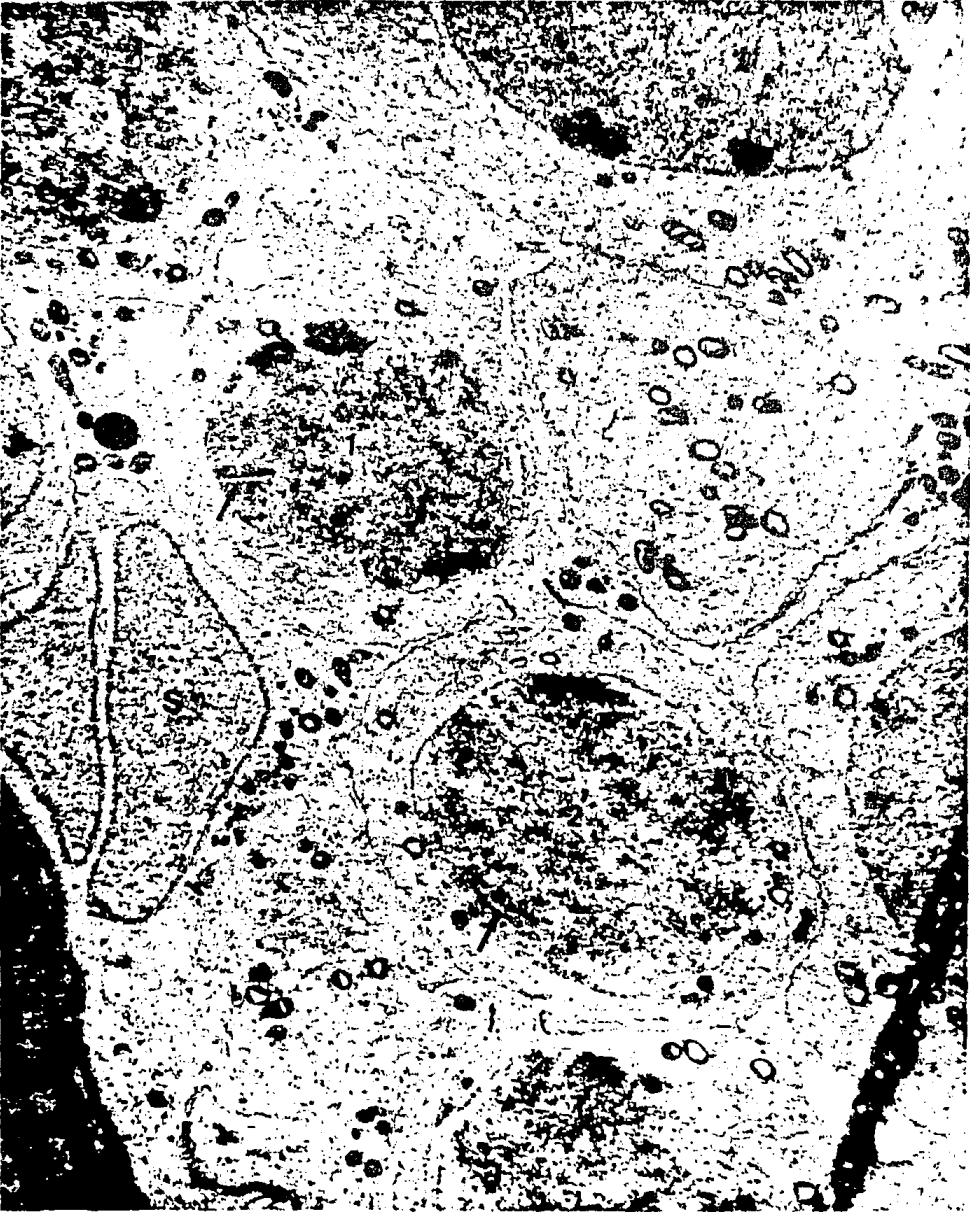


Fig. 6.- Micrografía electrónica de un espermatocito primario paquiteno de un ratón del grupo I-G (que recibió 0.011% de furazolidona). Note la irregularidad en el contorno de la membrana nuclear (dobles flechas), la concentración de la cromatina y presencia del complejo sinaptonémico (flecha). En el citoplasma se pueden observar grupos de mitocondrias (M), bandas del retículo endoplásmico liso (REL), y múltiples vesículas (V). La asociación con otra célula germinal se establece a través de un puente intercelular (PI). X 26,000.

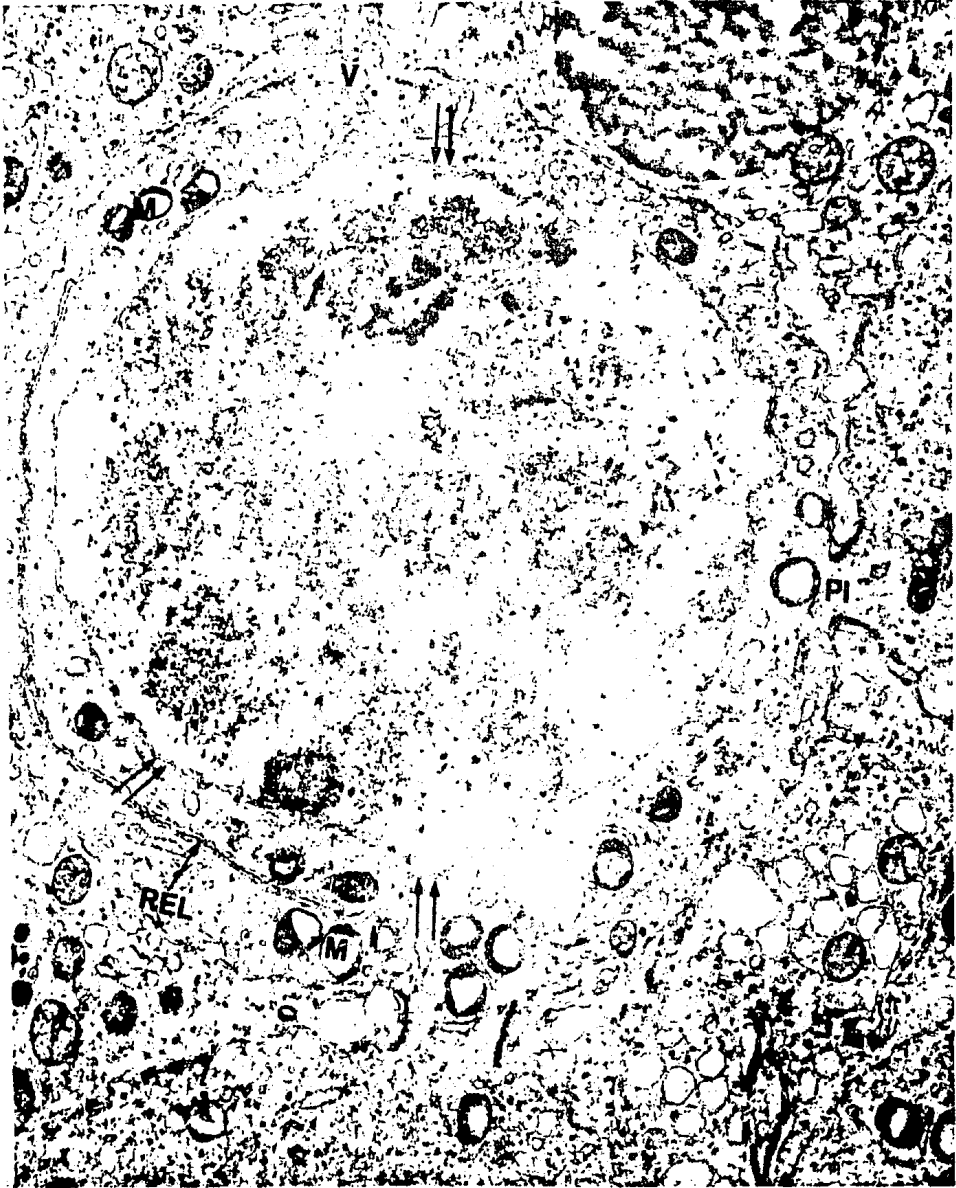


Fig. 7.- Micrografía electrónica de un espermato--
cito primario paquiteno de un ratón del -
grupo II-G (que recibió 0.022% de furazo-
lidona). El núcleo muestra irregularidad-
de la membrana nuclear (flechas), desor-
ganización de la cromatina y formación
de vesículas intranucleares (V). X - - -
26,000

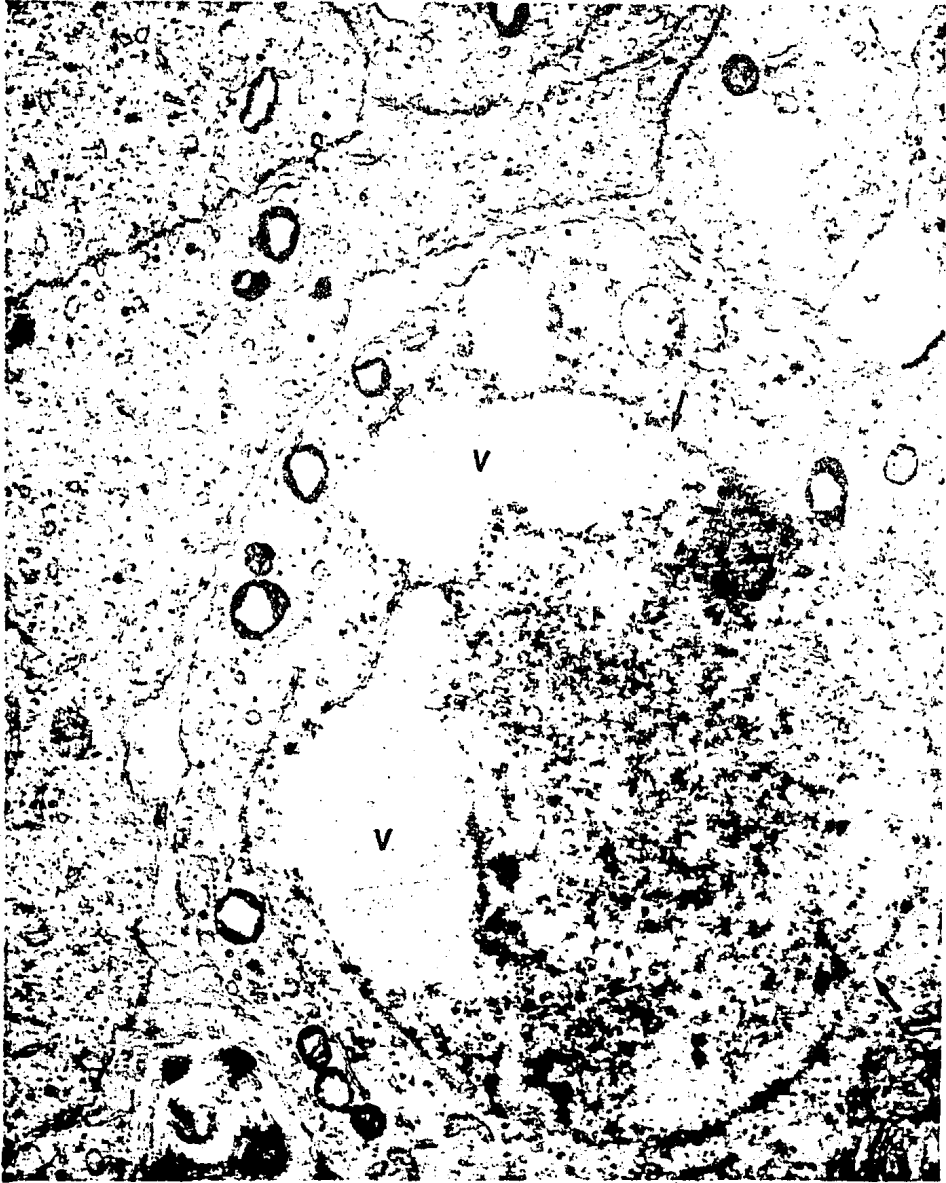


Fig. 8.- Micrografía electrónica de un túbulo seminífero de un ratón del grupo II-G (que recibió 0.022% de furazolidona) que muestra tres espermatocitos primarios paquitenos (1-3) de características morfológicas normales y uno con desintegración de la estructura nuclear (4). Célula de Sertoli, vacuola de lípido (L). X 6,000

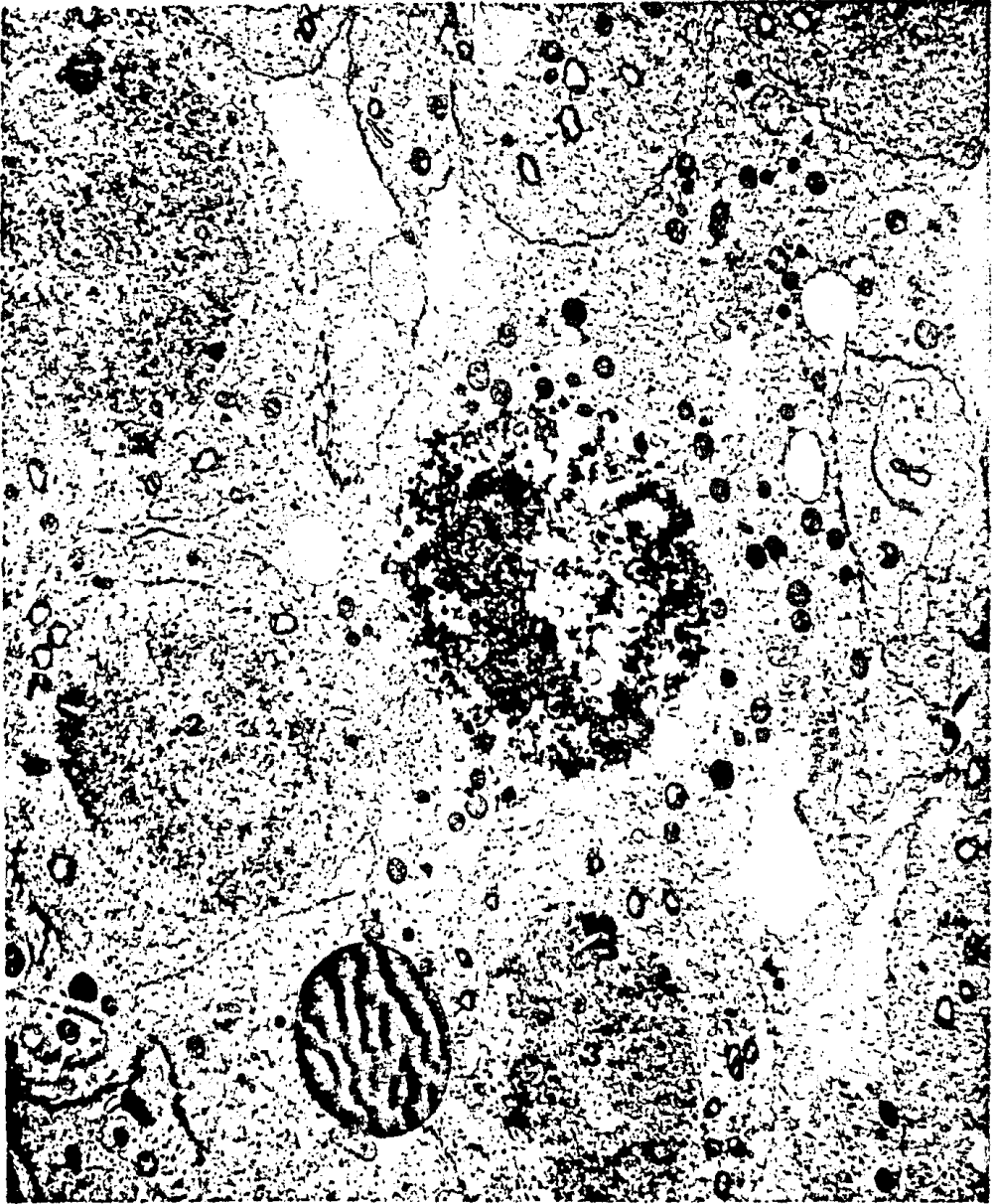
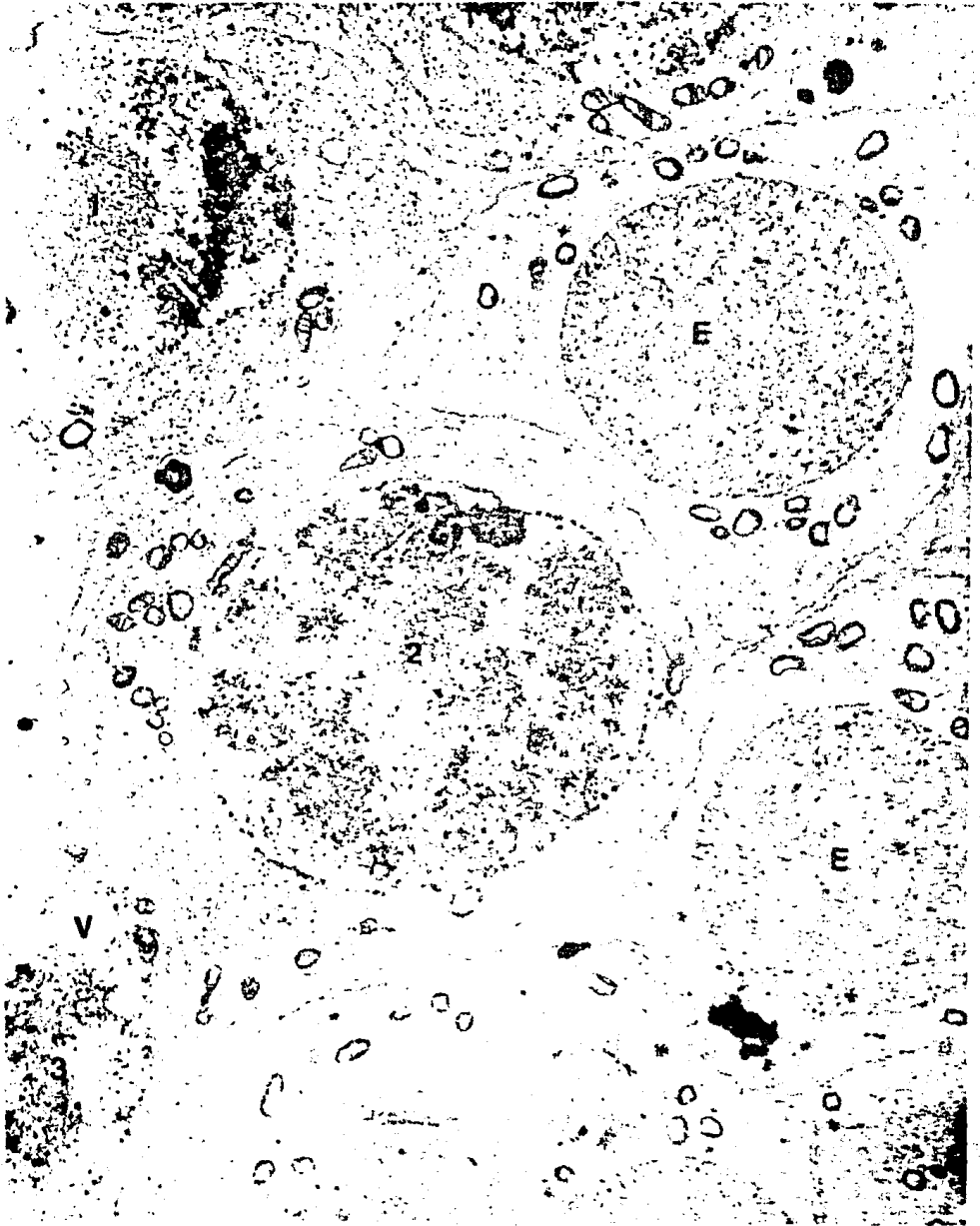


Fig. 9.- Micrografía electrónica de un túbulo seminífero de un ratón del grupo II-G. Se pueden observar dos paquitenos con características normales (1 y 2) y un tercero (3) con vesículas intranucleares (V). También se observan espermátides inmaduras (E). X 15,500



DISCUSION.

Al analizar el peso testicular de los grupos de ratones de los dos experimentos se pudo apreciar que con la excepción del grupo IV del experimento I (que consumió alimento con yema terapéutica), ninguno mostró disminución significativa en dicho peso testicular. Varios autores mencionan en sus trabajos sobre el efecto de los nitrofuranos, diferentes grados de atrofia testicular en los ratones que consumieron este tipo de compuesto (6,16,18,21). Cabe aclarar que en estos estudios el derivado furánico con que se trabajó fué la nitrofurazona, sólo Paul, et al. (21), usaron, como en el presente trabajo, furazolidona. Además del diferente grado de toxicidad que puedan tener la nitrofurazona y la furazolidona, la concentración de estos fármacos en el alimento es definitivo en el grado de lesión que puedan desarrollar. Por ejemplo, Nissim y Lond (18), encontraron una reducción del 59% en el peso testicular de ratones adultos blancos usando concentraciones de nitrofurazona que iban de 0.15 a 0.3%, cantidades que se consideran altas.

Por otro lado, si en el experimento II ningún grupo de ratones (que recibieron directamente el alimento medicado con furazolidona) mostró disminución del peso testicular, no se tiene una explicación lógica del porqué el grupo IV (que recibió alimento con yema terapéutica) del experimento I sí haya sufrido disminución de dicho peso testicular.

Los resultados de la evaluación del grado de avance de la espermatogénesis, realizada de acuerdo al patrón establecido por Leblond y Clermont (11), en cuanto a los diferentes tipos celulares presentes en cada uno de los catorce estadios

del epitelio seminífero muestran que en todos los grupos de ratones de los dos experimentos la espermatogénesis fué completa, no existiendo diferencias significativas entre los grupos prueba y los testigos. Friedgood y Green (6) y Nelson y Pataneli (16), reportan disminución gametogénica en ratones subsecuente a la administración de nitrofurazona; Nelson y Steinberger (17), también reportan detención de la espermatogénesis en la etapa de espermatocono primario en ratas después de la administración de furadroxyl. Nissim y Lond (18), encontraron que administrando nitrofurazona se produjo marcada atrofia testicular asociada con degeneración de los túbulos seminíferos, involucrando todas las fases de la espermatogénesis; las espermatogonias fueron las últimas en ser afectadas. Yunda y Kushniruk (26), trabajando con nitrofurantoina y furagín, encontraron también gran disminución en la espermatogénesis, la cual fué detenida en la fase de espermatocono primario en la mayoría de los túbulos seminíferos de ratas. Hernández-Jáuregui (7), trabajando con gallos y usando furazolidona en las mismas dosis del presente trabajo, observó detención de la espermatogénesis en un 70% a nivel de espermatocono primario, completando el otro 30% su espermatogénesis normal. La explicación de porqué la furazolidona no afectó a los ratones del presente trabajo en lo que respecta a la espermatogénesis, contrariamente a lo que sucedió con los gallos, puede ser una mayor resistencia del ratón a la acción gonotóxica de la furazolidona. Asimismo, los otros autores que sí encontraron disminución o detención de la espermatogénesis, en su mayoría trabajaron con derivados furánicos diferentes, con dosis diferentes (por lo general mayores a las usadas en este estudio) y con diferente duración de la exposición de los animales al fármaco en prueba.

En lo que se refiere a la evaluación con el microscopio electrónico, que se realizó en el experimento II, a diferencia de lo encontrado por Hernández-Jáuregui (7) y Yunda y Kushniruk (26), en el presente trabajo no se encontraron lesiones cuantitativa ni cualitativamente significativas, con la excepción del parámetro irregularidad nuclear paquiténica, donde sí se observó la existencia de un mayor número de paquitenos con esta alteración en los grupos que recibieron furazolidona en el alimento (I-G y II-G), comparados con los grupos que no la recibieron (III-G y IV). Yunda y Kushniruk (26), proporcionaron nitrofurantoina y furagín a ratas macho albinas y encontraron que estos productos produjeron disminución en el contenido de ácido nucleico en los espermatoцитos principalmente; reportaron también que los disturbios de la espermatogénesis fueron acompañados por cambios en el contenido y carácter de la distribución de la estructura de la cromatina nuclear. Similarmente, en el trabajo de Hernández Jáuregui (7), ya mencionado anteriormente, donde se evaluó el efecto de la furazolidona en gallos, se vió que con la dosis terapéutica se produjeron una serie de lesiones de los espermatoцитos primarios paquitenos que se iniciaban con irregularidad de la membrana nuclear, pérdida de la granulación de la cromatina y mayor densidad de ésta; se encontró también formación de vesículas intranucleares, ruptura de la membrana y liberación del material intranuclear. Como ya se dijo antes, la explicación de porqué en el actual trabajo no se encontraron lesiones importantes en los espermatoцитos primarios paquitenos probablemente sea el hecho de que los ratones posean una menor susceptibilidad a los efectos tóxicos de la furazolidona, comparados con los gallos; además, las concentraciones usadas en este trabajo fueron relativamente bajas.

CONCLUSIONES.

La furazolidona a las dosis utilizadas - en este trabajo no alteró la masa testicular de los ratones.

De igual modo, tampoco la espermatogénesis sufrió cambios significativos en su grado de avance, encontrándose que todos los ratones de los dos experimentos la completaron normalmente.

La furazolidona administrada directamente en el alimento a concentraciones de 0.011% y 0.022% durante un mes a ratones, produce lesiones a nivel de espermatoцитos de primer orden sin llegar a detener la espermatogénesis.

Ahora bien, de acuerdo a los resultados obtenidos y considerando que los ratones consumieron en su alimento un alto porcentaje (21%) de yema en polvo, la posibilidad de que el humano llegue a ser afectado a través del consumo de huevos de aves que han recibido furazolidona en su dieta, es muy remota.

LITERATURA CITADA.

1.- Cohen, S. M., Erturk, E., Price, J. M. and Bryan, G.T.: Comparative carcinogenicity in the rat of 2-hydranotiazoles with nitrofuryl, nitrophenyl or aminophenyl substituents in the 4-position. Cancer Res., 30: 879-901 (1970).

2.- Cohen, M.M. and Sagi, M.: The effect of nitrofurans on mitosis, chromosome breakage and sister-chromatid exchanges in human peripheral lymphocytes. Mutat. Res., 59: 139-142 (1979).

3.- Erturk, E., Cohen, S.M. and Bryan, G.T.: Carcinogenicity of N-(4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl) acetamide in female rats. Cancer Res., 30: 936-941 (1970).

4.- Erturk, M., Morris, J.E., Cohen, S.M., Price, J.M. and Bryan, G.T.: Transplantable rat mammary tumors induced by 5-nitro-2-furaldehyde semicarbazone and by formic acid 2-(4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl) hydrazide. Cancer Res., 30: 1409-1412 (1970).

5.- Erturk, E., Morris, J.E., Cohen, S.M., Von Esch, A.M., Crovetti, A.J., Price, J. M. and Bryan, G.T.: Comparative carcinogenicity of formic acid 2-(4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl)-hidrazide and related chemicals in the rat. J. Natl. Cancer Inst., 47: 437-445 (1971).

6.- Friedgood, C.E. and Green, M.N.: The effect of nitrofurazone on growth of fibrosarcome in mice. Cancer Res., 10: 613-615 (1950).

7.- Hernández-Jáuregui, P.: The testicular morphology of the rooster after furazolidone treatment. Light and Electron Microscopy study. Am. J. Vet. Res. (En prensa).

- 8.-Hershberger, L.G., Hansen, D.M. and Hansen, L.M.: Effects of antifertility agents on male mice as determined by a serial mating method Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 131: 667-669 (1969).
- 9.- Inui, N., Kaketomi, M. and Nishi, Y. Mutagenic effects of AF-2, a food additive, on embryonic cells of the Syrian Golden Hamster on transplacental application. Mutat. Res., 41: 351-360 (1976).
- 10.- Karnowsky, M.J.: A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J. Cell Biol., 27: 137 A (1965).
- 11.- Leblond, C.P. and Clermont, Y.: Spermogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the "Periodic Acid Fushin Sulfurous Acid" Technique. Am. J. Anat., 90: 167-215 (1952).
- 12.- Mc Calla, D.R., Reuvers, A. and Kaiser, C.: "Activation" of nitrofurazone in animal tissues. Biochemical Pharmacology, 20: 3532-3537 (1971).
- 13.- Mc Calla, D. R. and Voutsinos, D.: On the mutagenicity of nitrofurans. Mutat. Res., 26: 3-16 (1974).
- 14.- Morris, J.E., Price, J.M., Lalich, and stein, R.J.: The carcinogenic activity of some 5-nitrofurantoin derivatives in the rat. Cancer Res., 29: 2145-2156 (1969).
- 15.- Nelson, W.O. and Bunge, R.C.: The effect of therapeutic dosages of nitrofurantoin (furadantin) upon spermatogenesis in man. J. Urol., 77:275 (1957)

- 16.- Nelson, W.O. and Patanelli, O.J.: Atrophy of the testicles after nitrofurazone treatment. Fedn. Proc., 20: 418 (1961).
- 17.- Nelson, W.O. and Steinberger, E.: - The effect of furadroxyl upon the testis of the -- rat. Anat. Rec., 112: 367 (1952).
- 18.- Nissim, J.A. and Lond, M.D.: Increased pituitary gonadotrophin activity after degeneration of seminiferous tubules produced by nitro--furazone. Lancet, 1: 304-305 (1957).
- 19.- Olive, P.L. and Mc Calla, D.R.: Cytotoxicity and DNA damage to mammalian cells by -- nitrofurans. Chem. Biol. Interactions, 16: 223-233 (1977).
- 20.- Olive, P.L.: Nitrofurazone-induced DNA damage to tissues of mice. Chem. Biol. Interactions, 20: 323-331 (1978).
- 21.- Paul, H. E., Paul, M.F., Kopko, F., Bender, R.C. and Everett, G.: Carbohydrate metabolims studies on the testis of rats fed certain -- nitrofurans. Endocrinology, 53: 585-592 (1953).
- 22.- Reynolds, E.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17: 208-213 (1963).
- 23.- Seneca, H.: Biological basis of chemotherapy of infections and infestations. F.A. Davis Company, Philadelphia, 1971.
- 24.- Siegel, S.: Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences. Mc. Graw- Hill Book -- Company, Inc., New York, 1956.

25.- Villanueva, J.E.: Evaluación ultraestructural del efecto de la furazolidona sobre la meiosis en aves. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1983.

26.- Yunda, I.F. and Kushniruk, Y.I.: - Effect of nitrofurán preparations on spermatogenesis. Bull. Exp. Biol. Med., 77: 534-536 (1974).