



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CORRELACION DE LOS NIVELES DE GLUTATION SANGUINEO,
HEPATICO, CARDIACO Y GONADAL EN POLLO DE ENGORDA
AL QUE SE LE ADICIONARON NITROFURANOS EN EL ALIMENTO
Y EN EL AGUA DE BEBIDA A DOSIS TERAPEUTICAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
IVONNE CABALLERO CRUZ



ASESORES: MSc. MVZ Alma E. Rocha H.
MVZ Ezequiel Sánchez R.
MC Sergio Corona G.
DRA. Martha Zentella de P.

MEXICO, D F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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 está 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.

CONTENIDO

- 1.- TITULO**
- 2.- RESUMEN**
- 3.- INTRODUCCION**
- 4.- HIPOTESIS**
- 5.- OBJETIVOS**
- 6.- MATERIAL Y METODO**
- 7.- RESULTADOS**
- 8.- DISCUSION**
- 9.- LITERATURA CITADA**
- 10.- CUADROS DE RESULTADOS**
- 11.- GRAFICAS**

INDICE

	PAGINA
1.0. CONTENIDO.....	I
2.0. INDICE.....	II
3.0. RESUMEN.....	1
4.0. INTRODUCCION.....	3
4.1. GENERALIDADES DE NITROFURANOS.....	4
4.2. ACCION DE LOS NITROFURANOS.....	5
4.3. CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS.....	5
4.4. FURAZOLIDONA.....	7
4.5. FURALTADONA.....	8
4.6. DISTRIBUCION EN EL ORGANISMO.....	9
4.7. TOXICIDAD.....	10
5.0. GENERALIDADES DE GLUTATION.....	12
5.1. SINTESIS DE GLUTATION.....	14
5.2. PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS.....	15
5.3. FUNCION DEL GLUTATION.....	16
5.4. STATUS DE GLUTATION EN ALGUNOS TEJIDOS.....	18
6.0. HIPOTESIS.....	20
7.0. OBJETIVOS.....	20
8.0. MATERIAL Y METODO.....	21
8.1. TECNICA PARA DETERMINAR GLUTATION.....	25

9.0. RESULTADOS.....	29
10.0. DISCUSION.....	33
11.0. LITERATURA CITADA.....	36
12.0. CUADROS DE RESULTADOS.....	41
13.0. GRAFICAS.....	47

**CORRELACION DE LOS NIVELES DE GLUTATION SANGUINEO, HEPATICO
CARDIACO Y GONADAL EN POLLO DE ENGORDA AL QUE SE LE
ADICIONARON NITROFURANOS EN EL ALIMENTO Y EN EL AGUA DE
BEBIDA A DOSIS TERAPEUTICAS.**

RESUMEN

CABALLERO CRUZ IVONNE. Correlación de los niveles de glutatión sanguíneo, hepático, cardiaco y gonadal en pollo de engorda al que se le adicionaron nitrofuranos en el alimento y en el agua de bebida a dosis terapéuticas. (bajo la dirección de: MSc Alma E. Rocha H., MVZ Ezequiel Sánchez R., M en C. Sergio Corona G. y la Dra. Martha Zentella de P.). El uso común de los nitrofuranos como mejoradores de la conversión alimenticia, promotores de crecimiento y como medida terapéutica ante diversas enfermedades bacterianas y parasitarias, es motivo de que las aves, por su rápido crecimiento y debido al volumen corporal que alcanzan en unas cuantas semanas así como por el manejo a que son sometidas, se mantengan en constante estrés que se ve reflejado en el llamado estrés oxidativo a nivel molecular. En el presente trabajo, se estudió el comportamiento del glutatión durante las ocho semanas de vida en pollos de engorda a los que se les adicionaron nitrofuranos en el alimento y en el agua de bebida a dosis terapéuticas. Los resultados muestran que existe una correlación negativa ($P < 0.05$) entre los niveles de GT y GSH sanguíneo con respecto al peso corporal y la edad en los pollos del grupo control durante las primeras cinco semanas de vida. El nivel

de GT Y GSH en pollos que consumieron nitrofuranos toda su vida tuvieron una correlación negativa ($P<0.05$ y $P<0.01$, respectivamente). Las aves que consumieron nitrofuranos (55 ppm) en el alimento durante toda su vida alcanzaron un peso corporal significativo ($P<0.05$). En la primera semana de edad el grupo 1 alcanzó niveles significativos ($P<0.05$) de GSSG con respecto del control. En la segunda semana de edad el grupo 1 mostró un descenso ($P<0.05$) de GT y el grupo control mostró un nivel mayor de GT en comparación con todos los grupos tratados. En la tercera semana el grupo que consumió nitrofuranos en el alimento toda su vida mostró niveles de GT y de GSH sanguíneo significativos ($P<0.05$). En la cuarta semana el grupo 1 mostró niveles elevados de GT sanguíneo ($P<0.05$), al igual que el resto de los tratamientos, aunque estos no alcanzaron niveles de significancia. En la quinta semana todos los tratamientos alcanzaron niveles ligeramente superiores de GT y de GSH (principalmente el GT del grupo 3 y 5), aunque no significativos en comparación con el control. En los resultados correspondientes a GT en tejidos de grupos tratados con nitrofuranos, los niveles de GT disminuyeron ($P<0.05$). Mientras que los niveles de GT en los grupos control se mantuvieron, habiendo un incremento de GT ($P<0.05$) en la octava semana a partir de muestras de hígado.

INTRODUCCION

Actualmente en México y en otros lugares del mundo la necesidad por incrementar la producción de alimentos y mejorar los ingresos económicos ha sido el motivo de que ciencias como la medicina, la Medicina Veterinaria y la Biología Molecular se relacionen y en conjunto busquen asegurar la producción de más y de mejores alimentos que favorezcan el bienestar en salud pública, cubriendo así las necesidades alimenticias, en donde la industria avícola ha desarrollado gran importancia, por ser de las empresas que abastecen por medio de su producción la proteína animal que más consume la población. Para tal fin, el empleo creciente de los aditivos o xenobióticos se ha incrementado por ser utilizados como mejoradores de la conversión alimenticia e incrementar la ganancia de peso además de emplearse como tratamientos y preventivos en diversas enfermedades. Los nitrofuranos forman parte de los fármacos más comunes que se emplean para obtener los beneficios antes mencionados, y es importante investigar cual es la vía metabólica por la cual se detoxifica o son eliminados del organismo. Existiendo la posibilidad de que los nitrofuranos sean eliminados del organismo mediante su conjugación con el glutatión. El glutatión se conoce como un tripéptido que se sintetiza principalmente en el hígado y que actúa como atrapador de radicales libres, estos radicales a su vez son

responsables de la lipoperoxidación de los ácidos grasos insaturados de la célula, y que en consecuencia disminuyen el tiempo de vida celular. Ante las complicaciones que el uso de los nitrofuranos presentan, surge el planteamiento posible de que la vía del glutatión sea empleada como una respuesta de protección celular o bien, no se encuentre involucrada.

GENERALIDADES

NITROFURANOS

Los nitrofuranos constituyen una amplia familia de los antimicrobianos de importancia terapéutica en clínica, donde el uso en el campo de la medicina humana como en la veterinaria es eficaz (13).

El uso de los nitrofuranos se desarrolló durante las últimas cuatro décadas a pesar de que se tenía conocimiento de estos fármacos desde el siglo XVIII (37).

En medicina veterinaria, el empleo inicial de los nitrofuranos fué en 1946 cuando se utilizó el Furacin (5-nitro-2-furaldehído semicarbazona) para el tratamiento de la mastitis bovina (35). Posteriormente se observó eficacia contra la coccidiosis en aves. Fue entonces cuando el uso de los nitrofuranos se incrementó para el tratamiento de numerosas enfermedades bacterianas y algunas producidas por hongos y protozoarios (33,37).

Diferentes estudios realizados con los nitrofuranos han señalado aspectos importantes de estos fármacos, tales como: la presencia de un grupo nitro en la posición 5 de la molécula que proporciona una acción bacteriostática a los derivados del furano (9, 10, 33, 35).

MECANISMO DE ACCION: La acción bacteriostática resulta útil contra organismos Gram (-), como Gram (+) (9, 33, 37, 40), al destruir la célula bacteriana a través de la inhibición del metabolismo enzimático cuando se asocia a anaerobiosis inicial en el metabolismo del piruvato, interviniendo en el uso y síntesis de ATP (Adenosintrifosfato) (21), alterando la estructura de la pared bacteriana, debilitandola y causando elongación y rompimiento de la misma (20, 21), además de inhibir la síntesis de DNA (7, 9, 13). Su actividad antibacteriana no se ve reducida por los fluidos orgánicos como: sangre, suero, leche o exudado (9, 37,). Los nitrofuranos por ser estables no presentan fecha de caducidad.

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS: Los nitrofuranos son obtenidos de forma sintética. Estos derivan de los furanos, que son compuestos orgánicos y que tienen en su estructura un anillo heterocíclico con cuatro moléculas de carbono y con una molécula de oxígeno, (12, 18, 26, 34, 36, 39). Ver Fig. 1.

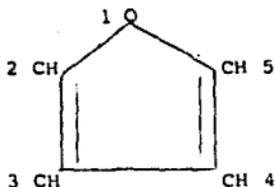


Figura 1. Molécula del furan

Los nitrofuranos derivan de las pentosas, las cuales son complejos polisacáridos que se encuentran en diversos subproductos vegetales, por lo que se sabe que cualquier sustancia que contenga pentosas es una fuente potencial de furfural, cuya fórmula estructural se muestra en la Fig. 2.

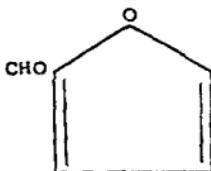


Figura 2. Molécula del furfural

La inclusión del grupo nitro en la posición 5 de la molécula del furfural, dejando abierto el carbono 2 para que se fijen radicales variables, lineales o cíclicos, constituye el núcleo fundamental de los nitrofuranos, cuya fórmula es la mostrada en la fig. 3.

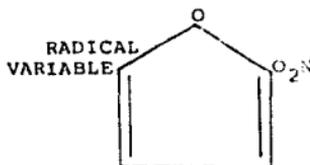


Figura 3. Molécula de los nitrofuranos.

Modificando la cadena lateral han sido sintetizados más de 1100 compuestos nitrofuranos, entre los cuales se encuentran, la furazolidona y la furaltadona (9). Ver Fig. 4

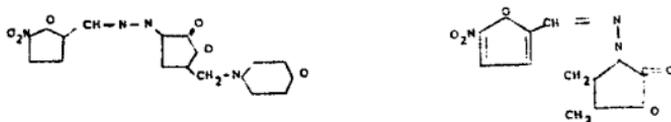


Figura 4. Estructura molecular de la furaltadona y la furazolidona.

FURAZOLIDONA: N-(5-Nitro-2-furfurilideno)-3-amino-2-oxazolidona; algunos de los productos existentes en el mercado son: NF180, Furovag, Furoxona, Furonona, Glarlan, Giardil, Medaron, Neftin, Nicolen, Nifulidona, Ortazol, Roptazol, Ticofuran, y Topazone. La furazolidona es un polvo cristalino amarillo e inodoro que es prácticamente insoluble en agua, en etanol y en otros solventes orgánicos (53), se dice que su solubilidad en agua es baja, llegando a alcanzar 40 mg/litro (39). La furazolidona es un antimicrobiano sintetizado químicamente y usado

primariamente como ingrediente activo de aditivos en el alimento para prevención y tratamiento de diversas enfermedades en diferentes especies .

FURALTADONA: 5-(4-Morfolinimetil)-3 [5 nitro 2 furanil metilen amino]-2-oxazolidona. Algunos productos que lo contienen existentes en el mercado son: Altafer, Altabactina, Furazolin, Ibifur, Medifuran, Nitraldone, Otifuril, Sepsonolifur y Valsyn. La furaltadona es un cristal amarillo con actividad antibacteriana, empleado en medicina veterinaria. Se dice que su solubilidad en agua es de 75 mg/ 100 ml a 25°C (39).

En aves el uso de los nitrofuranos es frecuente en la prevención y tratamiento de la salmonelosis (tifoidea, pulorosis y paratifoidea), infección de los sacos aéreos (Enfermedad crónica respiratoria asociada a Escherichia coli), coccidiosis (producida por Eimeria tenella, E. necatrix y E. acervulina), parasitosis (Hexamita spp e Histomona spp), sin embargo su principal uso es contra Gram ,negativas (Salmonella spp y E. coli) (18, 25, 30, 34, 38, 41).

Al parecer la bacteria es más sensible a la furazolidona durante su desarrollo justamente antes de que efectúe la división celular (9). Por otro lado la furazolidona se utiliza como promotor de crecimiento y para mejorar la postura en aves, en donde la dosis óptima es de 10 gramos por tonelada de alimento (10).

DISTRIBUCION EN EL ORGANISMO: Los nitrofuranos una vez ingeridos tienen una rápida conversión a diferentes productos metabólicos estructuralmente relacionados, algunos de los cuales no han sido plenamente identificados (9). Los nitrofuranos requieren de una reducción metabólica a productos intermediarios para desarrollar actividad antibacteriana (9, 28, 33, 37). Para que se lleve a cabo su activación en los tejidos, requieren de una oxidación metabólica en ausencia de oxígeno. El hígado, el testículo, y el riñón metabolizan estos fármacos a gran velocidad experimentando cambios morfológicos y metabólicos (31). El músculo esquelético, el bazo, el pulmón y el corazón tienen una menor actividad metabólica y no muestran modificaciones morfológicas, aunque se ha demostrado que a nivel histopatológico, el corazón se ve afectado cuando se suministran cantidades superiores a las dosis indicadas, o bien cuando se suministra el fármaco por largos periodos de tiempo (6, 7, 9, 31, 37, 41). En la literatura se citan varias enzimas que reducen los componentes aromáticos nitro en los tejidos, dentro de los cuales está la xantino oxidasa, la cual reduce a la nitrofurazona bajo condiciones anaeróbicas (8, 22). Estudios de la relación estructura-actividad indican que la furazolidona puede ser metabolizada en parte a 2-hidroxietyl hidralacina, la cual es una potente inhibidora de la monoamino-oxidasa (4, 20,). Lo anterior correspondería a una reacción de activación, lo que implica

la transformación metabólica de la droga inicial aumentando su actividad (41).

En experimentos in vitro, se ha estudiado que todos los tejidos corporales, excepto sangre, degradan rápidamente a la furazolidona, siendo la tasa de degradación de 100 mg/Kg de tejido por hora (26, 231).

TOXICIDAD: Los efectos colaterales de los nitrofuranos han sido estudiados en diversos trabajos, donde se encontró marcada destrucción de glándulas sebáceas de la piel de ratón, en dosis que variaban de 0.05 a 5 mg / ratón. Se sabe que el DNA puede ser el blanco principal de los nitrofuranos y que la reducción metabólica o activación de éstos puede ser un prerrequisito para tal daño (20), comprobándose que la activación de este fármaco se realiza en células de mamífero bajo condiciones de baja tensión de oxígeno. Diferentes estudios ponen en evidencia los efectos mutagénicos y carcinogénicos de los nitrofuranos (20, 25), ya que en cultivo de leucocitos han habido anomalías cromosómicas y reacomodo de material genético, provocados por productos como la furoxona en concentraciones de 1 a 10 mg/ ml, o el furpirinol y la furilfuramida en concentraciones que varían de 1.12 a 45 mg/ml (29). La nitrofurazona produce cambios histológicos específicos en el epitelio germinal del testículo de rata deteniendo la espermatogénesis a un estado de espermatocito primario (37, 9, 13, 37). Se sabe que la furazolidona es causante de

diversas patologías, debido a dosificaciones altas o a la administración por tiempos prolongados, causando el llamado síndrome hemorrágico en becerros, resultante de una hipoplasia o aplasia de la médula ósea (14). Hay otros investigadores que describen signos nerviosos y presencia de petequias y equimosis en membranas serosas y mucosas. Trabajos con bacteriófagos muestran que la furazolidona altera la síntesis de DNA, RNA y proteínas (26). Particularmente en aves y específicamente en pavos se demostró que la furazolidona causa cardiomiopatía caracterizada por dilatación cardíaca masiva (corazón redondo), y disminución en la ganancia de peso e incremento en la mortalidad. El mecanismo por el cual se causa cardiomiopatía es aún desconocido, sin embargo, estudios in vitro han demostrado que la droga en bajas concentraciones y en anaerobiosis inhibe significativamente la oxidación de piruvato a acetil-Coenzima A y a concentraciones altas en aerobiosis también ocasiona inhibición (7, 8, 21, 22,). Se sabe que causa daño hepático con reducción de las proteínas plasmáticas totales (22), hiperplasia de conductos biliares, fibrosis portal y vacuolización intracitoplasmática en hepatocitos (22, 31), debido posiblemente a que el efecto inicial de la droga ocurre por inhibición enzimática que altera la estructura de las membranas celulares mitocondriales y miofibrilares con incremento subsecuente de glucógeno citoplasmático (22). Al suministrar diferentes dosis de nitrofuranos (de 220 ppm por 15 días a 400 ppm por

35 días) en el alimento se comprobó que existen cambios morfológicos y ultraestructurales en testículo, habiendo una disminución en el peso de los testículos, y un descenso en la fertilidad en gallinas que fueron tratadas con nitrofuranos (11, 13, 16, 27, 37).

GLUTATION

En 1921 el inglés Frederick Gowland Hopkins aísla en diferentes tejidos una molécula dipeptídica a la que llamó glutatión, por encontrar en ella la presencia de cisteína y ácido glutámico, en la cual observó que era fácilmente oxidable. Más tarde se comprobó que el glutatión forma la parte principal como constituyente de azufre (S) orgánico no proteico de los organismos (29). En 1929 Pice, Pinhey, Kendal y Col. determinaron la estructura química del glutatión a través del análisis químico que se basó en soluciones ácidas y básicas, dando a conocer que el glutatión se compone por tres aminoácidos que son: ácido glutámico, cisteína y glicina. Ver fig. 5

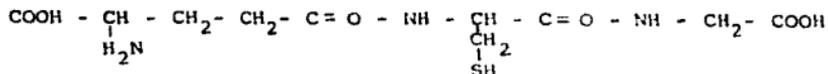


Figura 5.- Estructura molecular del glutatión

En 1953 Colowick y Col. estudiaron algunos aspectos sobre la síntesis, el metabolismo y las propiedades fisicoquímicas del glutatión, así como su relación con patologías fisiológicas en el ser vivo. Para 1970, Tuckey y

Kilgour realizan estudios sobre los niveles de glutatión en eritrocitos de carnero. En 1971 y 1973 Flone y Col. realizaron un modelo que intentó explicar el mecanismo de acción del glutatión y de las enzimas que se involucran en la síntesis del glutatión, encontrando gran relación con el ciclo de la gama-glutamilcisteína. Atroschi en 1979, Moreno y Col. en 1987, Tuñón y Col. en 1989 determinaron niveles de glutatión de diferentes tejidos, asociando algunos datos a diversos estados patológicos de tejidos y de especies animales.

En 1976 Arias y Col. relacionaron al glutatión con el metabolismo de sustancias endógenas en el hígado.

Actualmente la literatura cita al glutatión (gama-glutamilcisteinil-glicina) como un tripéptido de origen no proteico, compuesto por 3 aminoácidos (ácido glutámico, cisteína y glicina), formando parte esencial de la célula al mantener a los grupos sulfhídricos (-SH) en su forma funcional reducida, permaneciendo aún la idea planteada desde 1969, de que actúa como un principal protector de las membranas celulares (1, 5, 23, 42).

GLUTATION: Tíol tripeptídico de origen no proteico, compuesto por tres aminoácidos no esenciales (gama-glutamil-cisteinil-glicina).

Esta molécula se sintetiza principalmente en el hígado y es transportado a todas las células del organismo, actuando

como atrapador de radicales libres(1, 3, 40, 42).

SINTESIS: El glutatión puede ser sintetizado en tejidos como el riñón, el cerebro, el intestino, el cristalino, el músculo estriado, los eritrocitos y en el hígado, siendo este último en donde se sintetiza principalmente. También se sintetiza por organismos como las levaduras, bacilos y plantas (1, 5). La síntesis del glutatión se lleva a cabo por medio de enzimas específicas que requieren de ATP, y no por los mecanismos generales de síntesis de proteína (29) Bloch y Col. mencionaron que la biosíntesis del glutatión se lleva a cabo desde los pasos catalizadores, en la síntesis de la gamma-glutamilcisteína. La síntesis intracelular del glutatión es catalizada por la actividad de la gamma-glutamilcisteína sintetasa y la glutatión sintetasa, en donde se requerirá de glutamato, de cisteína, de glicina y de adenosin fosfato. Ver fig. 6.

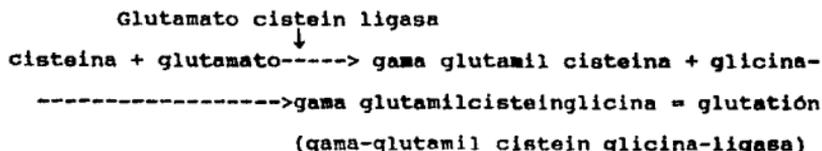


Figura 6.- Síntesis del glutatión

En cuanto al efecto oxidorreductor, hay grupos enzimáticos básicos que median la reacción oxidorreductora del glutatión. Tales enzimas son: las reductasas (glutatión reductasa), a través de la cual se lleva a cabo la siguiente reacción. Ver fig. 7.

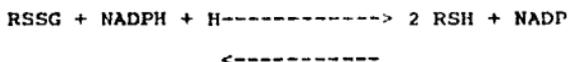


Figura 7.- Paso de glutatión oxidado a reducido y viceversa

La RSH es el resultado de la transhidrogenación o hidrógeno cedido por el NADPH hacia el RSSG, donde actuará también la tiol trasferasa.

Las oxidasas tales como; la glutatión peroxidasa y la catalasa revierten la acción reductora.

Resumiendo así que la síntesis del glutatión se realiza en dos etapas, a partir de L-glutamato y la L-cisteina y glicina (1, 5). Por cada enlace peptídico formará una molécula de ATP, resultante de la degradación del ADP y Fosfato. Observandose que en la molécula del ácido glutámico está unido por un enlace peptídico gama en vez del carboxilo alfa que sería lo normal.

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DEL GLUTATION: El glutatión reducido (GSH) y el glutatión oxidado (GSSG), son cristales blanquecinos, semitransparentes, solubles en agua y etanol con un peso molecular de 307.3 y 642.6 respectivamente.

FUNCION DEL GLUTATION: La principal función del glutatión es la de mantener reducidos los grupos sulfhídricos, actuando como donador o aceptador de hidrógeno, protegiendo los lípidos de las membranas de la acción oxidativa de los radicales libres. En un pH 6.8 o menos, el glutatión, tiene la forma SH-R que es la más estable; la forma disulfuro tiende a hidrogenarse y a transformarse en la primera, por lo cual su función es deshidrogenante u oxidante. En reacción alcalina, es más estable la forma oxidada (SS-glutatión), la forma SH- del glutatión tiende a transformarse en la primera, cediendo su H, o sea oxidándose y reiterando su función reductora (29). El glutatión en su forma reducida juega un papel importante en la desintoxicación al reaccionar con peróxidos de hidrógeno, evitando así la lipoperoxidación de membranas, las cuales a su vez son indicadoras del grado de toxicidad ante la presencia de radicales libres (40).

Algunas de las funciones del glutatión son: la desintoxicación de compuestos organofosforados, y de algunos xenobióticos (3, 4), el GSH como protector de membrana celular impide la transformación en los glóbulos rojos del óxido ferroso a óxido férrico, ya que al formarse la metahemoglobina, el glóbulo rojo es incapaz de transportar oxígeno (42), desencadenando diversas patologías en el ser vivo, debido a una mala oxigenación (3, 4). Puesto que las células nerviosas tienen altas concentraciones de glutatión, es posible que la neuro transmisión neuronal se vea

favorecida ante la presencia de ácido glutámico que es un aminoácido constituyente del glutatión (1).

El glutatión forma conjugados que pueden o no metabolizarse y se eliminan como tal a través de la bilis y de la orina, sin embargo se debe recordar que el glutatión como tior protector de la membrana celular interviene en un sin número de actividades que se llevan a cabo en las células que no son dañadas, y como molécula que neutraliza radicales libres, eliminándolos por las vías ya mencionadas.

DETERMINACION: Se realiza a través del empleo de técnicas que utilizan aparatos tales como: espectrofotómetro y cromatógrafo (1, 5).

STATUS DE GLUTATION: Diversos estudios y análisis se han realizado desde que se descubrió la molécula, siendo uno de los primeros reportes el de glutatión en conejo. Ver tabla 1.

TEJIDO	GLUTATION TOTAL	GLUTATION REDUCIDO
Hígado	255	250
Riñón	108	90
Corazón	89	75
Sangre	31	30

Tabla 1.- Valores de glutatión de conejo dados en miligramos por ciento; en donde el glutatión se determina en forma de complejo con lactato de cadmio (Randani 1948)(29).

Algunos otros valores se han dado a conocer tales como los recopilados y publicados por Akerboom y Col.1981. Ver Tabla 2.

TEJIDO	GSH	GSSG
Riñón de ratón	($\mu\text{mol/g}$) 3.3	0.004
Corazón de ratón	($\mu\text{mol/g}$) 0.9	0.006
Hígado de ratón	($\mu\text{mol/g}$) 3.0	0.08
Hígado de feto ratón	($\mu\text{mol/g}$) 8.6	0.44
Eritrocitos de humano	($\mu\text{mol/ml}$) 2.29	0.004

Tabla 2.- Los niveles de glutatión se ven influenciados por niveles hormonales y el aporte de los aminoácidos que se involucran en la síntesis del glutatión.

Akerboom menciona que la relación entre GSH y GSSG es de 300 Akerboom y Col. 1981 (1).

HIPOTESIS

1.- Existen diferencias entre los niveles de glutatión total (GT) en sangre, de pollo de engorda que consumieron nitrofuranos en el alimento y en el agua de bebida a dosis terapéuticas durante las primeras cinco semanas de vida, con respecto a los que no lo consumieron.

2.- Existen diferencias entre los niveles de glutatión total (GT) en hígado, corazón y gónadas de pollo de engorda. que consumieron nitrofuranos en el alimento y en el agua de bebida a dosis terapéuticas de la sexta a la octava semana de vida, con respecto a los que no lo consumieron.

OBJETIVOS

1.- Conocer los niveles de glutatión total (GT), de glutatión reducido (GSH), y de glutatión oxidado (GSSG) en la sangre de pollo de engorda durante las primeras cinco semanas de vida.

2.- Conocer los niveles de GT, GSH y GSSG en la sangre de pollo de engorda que consumieron nitrofuranos en el alimento y en el agua de bebida a dosis terapéuticas durante las primeras cinco semanas de vida.

3.- Conocer los niveles de GT hepático, cardiaco y gonadal en pollo de engorda durante la sexta, séptima y octava semana de edad de los grupos 5 y 6.

MATERIAL Y METODO

Se emplearon 300 pollos de engorda de la estirpe Arbor Acress de un día de edad, los cuales se caracterizan por manifestar uniformidad en las parvadas en cuanto a tamaño, peso y conversión alimenticia. Estas aves fueron instaladas en corrales que midieron 50 por 60 cm² de superficie. Los corrales se hicieron de malla de alambre, y el material que se empleó como cama fue viruta de madera, se utilizaron focos de luz infrarroja como fuente de calor desde el primer día de edad (un foco de 250 W por 2 corrales). Se suministró agua potable en vitroleros de 4 litros de capacidad, se colocó un comedero lineal de 52 cm² por corral. Todo lo anterior fué colocado y desinfectado previamente para recibir al pollito. Posteriormente se asignaron los pollitos a tratamientos por medio del método estadístico de números aleatorizados en tablas desde el primer día de edad. Se asignaron 50 aves por tratamiento, distribuyéndolas en cinco repeticiones de diez aves cada una. Se les proporcionó agua y alimento ad libitum durante los 56 días. El alimento se elaboró en la granja Veracruz cubriendo las necesidades establecidas por el NRC (24).

Los tratamientos consistieron en:

- 1.- * Furaltadona 0.5 g por litro de agua de bebida administrada del día 2 al 4 de edad.
- 2.- * Furaltadona 1 g por litro de agua de bebida, administrada del día 13 al 15 de edad.

- 3.- * Furaltadona 0.5 g por litro de agua de bebida administrada del día 2 al 4 de edad, y furaltadona 1.0 g por litro de agua de bebida administrada del día 13 al 15 de edad.
- 4.- ** Furazolidona 96.5 ppm por litro de agua de bebida administrada del día 2 al 11 de edad.
- 5.- ** Furazolidona 96.5 ppm por litro de agua de bebida administrada del día 2 al 11 de edad, y en forma simultánea a *** furazolidona a razón de 55 ppm en el alimento.
- 6.- Testigo (sin tratamiento).
 - * "Valsyn", Lab. Columbia.
 - ** "Furosel", Lab. Russel.
 - *** "NF180", Lab. Columbia.

Diez pollos fueron pesados de manera individual semanalmente por cada tratamiento, a los cuales se les tomó una muestra de sangre de la vena yugular, de la primera a la segunda semana de edad, y de la tercera a la quinta semana de edad se les tomó la muestra de la vena braquial del ala. Se obtuvo un mililitro de sangre con jeringas que contenían anticoagulante (5 unidades de heparina/ ml), homogeneizando la muestra inmediatamente. Posteriormente, la muestra de sangre con anticoagulante se mezcló con 1 ml de ácido perclórico al 2M + EDTA 4mM como desproteinizante, obteniéndose una solución 1:1 V/V. Manteniéndola en hielo, al igual que el ácido perclórico. Las muestras obtenidas fueron centrifugadas a 5000 r.p.m a -10 °C en una centrifuga

Sur Vall RC- 5B, Refrigerated Superspeed. Se decantó el sabrenadante en tubos de ensayo que fueron sellados con parafilm, conservandose congelados en un Revco Scientific Mc Asherville, a -51°C , hasta su análisis, que se realizó en un lapso no mayor de 5 días, evitando así la oxidación del glutatión reducido a oxidado .

El pocedimiento anterior se realizó con las muestras obtenidas de la primera a la octava semana de vida del pollo, mientras que las muestras de los tejidos (hígado, corazón y gónadas) se obtuvieron únicamente a partir de la sexta a la octava semana de vida de los tratamientos 5 y 6. En la toma de muestras de tejido, fueron anestesiadas las aves con una solución alcohol, éter 1:1. Después de insensibilizar al ave, se procedió a incidir con un bisturí a nivel de la punta del esternón (xifoides), siguiendo los bordes laterales de la pechuga (músculos pectorales) hasta donde se encuentra la articulación con la clavícula. Posteriormente se levantó la pechuga cuidadosamente, abriendo un ángulo de 50° aproximadamente, para introducir una tijera con la que se incidió y extrajeron dos centímetros cúbicos de hígado, el cual fué sumergido inmediatamente en bolsas de plástico que contenían nitrógeno líquido y que se identificaron con una cinta adherible y fueron engrapadas. La identificación consistió en escribir el peso corporal del ave y la clave del tratamiento asignado a cada ave.

La bolsa fué sumergida en un tanque de nitrógeno líquido en el que permanció la muestra para conservarse. Este mismo procedimiento se realizó para la obtención de gónadas y de corazón respectivamente, ya que al tomar la muestra el ave muere por choque hipovolémico. Las muestras de tejidos fueron conservadas hasta su procesamiento en nitrógeno líquido.

Para determinar el glutatión en los tejidos, estos se pesaron en una bascula digital y se tomaron unicamente 0.250 g de muestra, a la cual se le añadieron ocho veces su peso de ácido perclórico en un tubo homogenizador, donde se desproteinizó la muestra. Para tal efecto, el tubo y el ácido perclórico permanecieron en hielo a 4°C. Después se utilizó un homogeneizador (Ultra-Torrax- tipo 1812 Janke & Kunkel) durante 30 segundos, asegurando así un buen homogenizado de la muestra a una temperatura de 4°C. Realizando el anterior procedimiento la muestra fué centrifugada a 5000 r.p.m a -10°C, decantando el sobrenadante en tubos de ensaye y sellados a su vez con parafilm hasta su análisis. La muestra obtenida se mantuvo a -52°C en el Revco. Cabe hacer notar que todas las soluciones empleadas permanecieron en hielo a 4°C.

ANALISIS DE LA MUESTRA

El procedimiento de análisis realizado es el indicado por Akerboom et al 1981 (1).

REACTIVOS EMPLEADOS

- 1.- Fosfato de potasio monobásico
- 2.- Fosfato de potasio dibásico
- 3.- EDTA (Etilen dinitrilo tetracetato disódico) P.M. 372.25
- 4.- Agua bidestilada
- 5.- NADPH (B- Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato forma reducida, con una pureza de 95% y P.M 833.4
- 6.- DTNB 5,5'-Dithio-bis(2-Acido Nitrobenzoico) P.M. 396.3.
- 7.- Glutación reducido (enzima) 500 unidades grado IV.
- 8.- Glutación oxidado (enzima) Disodium Salt grado IV.
- 9.- Bicarbonato de sodio (NaHCO₃) P.M 8401.

MATERIAL Y APARATOS

- 1.- Espectrofotómetro marca Beckman. DU Modelo 2400.
- 2.- Homogeneizador.
- 3.- Centrífuga Sorvall RC-5B Refrigerated Superspeed centrifuge .

- 4.- Balanza digital Meter PC 440 Delta Range.
- 5.- Balanza analítica Mettler H54 AR.
- 6.- Cubetas de cuarzo 1 ml 181 OS.
- 7.- Micropipetas Hamilton de 25, 50 y 100 μ l.
- 8.- Pipetas Gilson 1000 μ lP.
- 9.- Reloj alarma Smiths.
- 10.- Papel secante (sanitas).
- 11.- Revco "Revco Cientific ins-aceville"
- 12.- Hielera Scotsman.
- 13.- Refrigerador Whirlpool.
- 14.- Generador de energía Dayton OH U.S.A impit 120 Volts.
- 15.- Etanol (alcohol etílico absoluto), al 99.9 %.
- 16.- Vasos de precipitado 100 ml "Nalgen".
- 17.- Vasos de precipitado 200 ml "Nalgen".
- 18.- Placa de agitación magnética Lindberg.
- 19.- Potenciómetro Swiss made.
- 20.- Buffer estándar pH 7.0
- 21.- Pissetas Cienceware.
- 22.- Tubos de ensayo.
- 23.- Mortero de porcelana Al Benwanger.
- 24.- Bala magnética.

PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR GT (Glutación total).

- 1.- Encendido del Espectrofotómetro.
- 2.- Calibración del espectrofotómetro a 412 nanómetros de absorbancia, con luz ultravioleta visible y calibrar a cero.
- 3.- En tres cubetas de cuarzo se deposita 1 ml de solución Buffer de fosfatos (pH 7) a una temperatura ambiente (21°C aprox.).
- 4.- Colocar con una micropipeta Hamilton 10, 20 y 30 ml de solución estándar respectivamente en las cubetas de cuarzo.
- 5.- Con otra pipeta Hamilton, se colocan 20 µl de NADPH (2 mg/0.5ml NaHCO₃ al 0.5%).
- 6.- Con una pipeta Hamilton limpia se colocan 20 µl de enzima glutación reductasa (6 Unidades/ml Buffer).
- 7.- Agitar suavemente evitando la formación de burbujas y dejar reposar por 2 minutos.
- 8.- Introducir la cubeta a la celdilla del espectrofotómetro y recalibrar a cero nuevamente.
- 9.- Depositar 20 µl de DTNB (0.75 mg/0.5ml de NaHCO₃ al 0.5%).
- 10.- Inmediatamente después de depositado el DTNB se marca el tiempo de inicio, hasta que se cumplan 5 minutos.

- 11.- Se agita la cubeta de cuarzo con su respectiva muestra.
- 12.- Pasados los 5 minutos se introduce inmediatamente la cubeta a la celdilla del espectrofotómetro, para realizar la lectura de la absorbancia.
- 13.- Si las lecturas obtenidas a partir de los estandares corresponden a las establecidas en un rango previamente establecido, se dice que los reactivos y el estandar empleados son los adecuados, de no ser así, se tendrá que iniciar nuevamente hasta que las lecturas sean las esperadas.
- 14.- Posteriormente se substituyen los estandares por una alícuota de 10 μ l de muestra problema y se realiza el mismo procedimiento para obtener la absorbancia de cada muestra.

En cada cambio de muestra fueron lavadas perfectamente las cubetas de cuarzo con agua corriente, desionizada y etanol al 99.9 %

Los reactivos empleados al igual que la muestra se conservaron en recipientes con hielo (4°C aprox.) durante el tiempo empleado para el análisis.

RESULTADOS

En la primera semana de vida (cuadro 1), las aves que recibieron furaltadona ("Valsyn") en el agua de bebida a dosis de 0.5 g/l del día 2 al 4 de edad (grupo 1), presentaron un incremento de GSSG de 0.27 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre ($P < 0.05$).

En la segunda semana (cuadro 2), las aves que recibieron furaltadona ("Valsyn") en el agua de bebida a dosis de 0.5 g /l del día 2 al 4 de edad (grupo 1), presentaron una disminución de GT de 2.01 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre ($P < 0.05$). El GT del grupo control fué más elevado que el resto de los tratamientos con 2.81 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre ($P < 0.05$).

En la tercera semana de vida (cuadro 3), las aves que recibieron furazolidona ("Furosel") en el agua de bebida a dosis de 96.5 ppm/l del día 2 al 11 de edad y a los que se les adicionó ("NF 180") en el alimento a razón de 55 ppm durante toda su vida (grupo 5), presentaron un incremento de GT de 1.59 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre ($P < 0.05$). El GSSG del grupo que consumió furazolidona ("Furosel") en agua de bebida a dosis de 96.5 ppm/l del día 2 al 11 de edad (grupo 4), presentaron un incremento de 0.20 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre ($P < 0.05$). El GSH del grupo que consumió furazolidona

("Furosel") en el agua de bebida a dosis de 96.5 ppm /l del día 2 al 11 de edad (grupo 4), presentaron una disminución de 0.92 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre ($P<0.05$). El GSH del grupo que consumió furazolidona ("NF 180") en el alimento a razón de 55 ppm durante toda su vida y furazolidona ("Furosel") en el agua de bebida a dosis de 96.5 ppm/l del día 2 al 11 de edad (grupo 5), presentaron un incremento de GSH sanguíneo de 1.49 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre ($P<0.05$).

En la cuarta semana de vida (cuadro 4), las aves del grupo control tuvieron menos GT (1.5 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre) ($P<0.05$), que las aves de los grupos tratados con nitrofuranos. El grupo control mostró más GSSG sanguíneo (0.176 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre) ($P<0.05$) que los grupos tratados con nitrofuranos. El grupo control mostró menos GSH sanguíneo (1.34 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre) ($P<0.05$), que los grupos tratados con nitrofuranos. El GT fué superior (1.93 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre) ($P<0.05$) en el grupo al que se le adicionó furazolidona ("Valsyn") 0.5g/l de agua de bebida del día 2 al 4 de edad (grupo 1). El GSH del grupo al que se le adicionó furazolidona ("Valsyn") 0.5g/l de agua de bebida del día 2 al 4 de edad (grupo 1), fué mayor (1.77 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre) ($P<0.05$) que el resto de los grupos tratados. El GSSG del grupo al que se le adicionó furazolidona ("Furosel") 96.5 ppm/l de agua de bebida del día 2 al 11 de edad (grupo 4), mostró una disminución de su nivel a 0.100 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre en comparación con el resto de los grupos.

En la quinta semana de vida (cuadro 5), las aves que recibieron furazolidona ("Furosel") en el agua de bebida a dosis de 96.5 ppm /l de agua de bebida del día 2 al 11 de edad (grupo 4), mostraron un incremento de GSSG de 0.719 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre ($P < 0.05$). El GSSG del grupo que consumió furazolidona ("Furosel") en el agua de bebida a dosis de 96.5 ppm/l de agua de bebida del día 2 al 11 de edad, mismos a los que se les adicionó furazolidona ("NF180") en el alimento a razón de 55 ppm toda su vida presentaron un incremento de GSSG de 0.674 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre ($P < 0.05$). El GSH presentó un incremento (2.001 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre) ($P < 0.05$) en el grupo que consumió furaltadona ("Valsyn"), 0.5 g/l de agua de bebida del día 2 al 4 de edad y furaltadona ("Valsyn"), 1.0 g/l de agua de bebida del día 13 al 15 de edad (grupo 3).

En las gráficas 1 y 2 se muestran los niveles de glutatión total (GT) ($\mu\text{mol/g}$ de P.H) durante la sexta, la séptima y octava semana de edad a partir de los tejidos: hígado, corazón y gónadas de los pollos de engorda a los que se les adicionó furazolidona ("Furosel") 96.5 ppm/l de agua de bebida del día 2 al 11 de edad y furazolidona ("NF 180"), 55 ppm en el alimento durante toda su vida (56 días), (grupo 5). Así como los niveles de GT a partir de los tejidos de hígado, corazón y gónadas pertenecientes al grupo control respectivamente. *($P < 0.05$)

En la gráfica 3 y 4 se muestran las correlaciones entre glutatión total y glutatión reducido con respecto al peso corporal, así como sus ecuaciones correspondientes.

La gráfica 3 muestra que los niveles de GT tienden a decrecer con el tiempo y que conforme se incrementa el peso corporal los niveles de glutatión total decrecen. Sin embargo el grupo que recibió nitrofuranos en el alimento toda su vida alcanzó mayor correlación entre GT con respecto al peso ($R^2 = -0.857$, $P < 0.05$), mientras que el grupo control presentó una correlación menor ($R^2 = -0.708$, $P < 0.05$). La correlación entre GSH y peso del grupo control fué menor ($R^2 = -0.820$, $P < 0.05$), mientras que el grupo que recibió nitrofuranos toda su vida presentó mayor correlación ($R^2 = -0.947$, $P < 0.01$).

DISCUSION

En el presente trabajo se encontró que los niveles de glutatión total (GT) de pollo de engorda que no recibieron tratamiento alguno, presentaron entre 2.82 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre a 1.64 $\mu\text{mol/ml}$ de sangre durante las primeras cinco semanas de vida.

Se ha reportado que diversos xenobióticos utilizan la vía desintoxicante del glutatión al detectar un aumento de GSSG en sangre por efecto de éstos (3, 5, 40). Sin embargo, en éste trabajo se observó un incremento significativo ($P < 0.05$) de GSSG en la primera semana de vida en el grupo que recibió nitrofuranos en el agua de bebida a dosis terapéuticas del día 2 al 4 de edad (grupo 1), así como en el que recibió nitrofuranos del día 2 al 11 de edad (grupo 4). El grupo 4 presentó un incremento de GSSG en la tercera, cuarta y quinta semanas en las cuales no recibieron nitrofuranos, descartando así, la posibilidad de que dichos medicamentos hayan sido la causa del incremento de GSSG.

En estudios realizados por Mirsalimi (1990) (22), sobre la detección de cambios bioquímicos en pavos que

fueron medicados con nitrofuranos (furazolidona) siendo el agente causal de cardiomiopatías, se encontró que la enzima glutatión peroxidasa (GSH-X), la cual participa en la síntesis de glutatión, no presentó un incremento o una disminución significativos. Sin embargo lo que se encontró en este trabajo fué un incremento de GT sanguíneo en el grupo tratado con nitrofuranos en el alimento. Dicho grupo alcanzó mayor peso corporal al final de las cinco semanas de vida ($P < 0.05$).

Diversas publicaciones mencionan a los nitrofuranos como promotores de crecimiento efectivos (9, 11, 18, 38). Dicho efecto se apreció en este trabajo, donde se observó una ganancia significativa de peso en los pollos que consumieron simultáneamente, nitrofuranos en el agua de bebida del día 2 al 11 de edad y en el alimento, durante toda su vida a dosis terapéuticas (grupo 5).

Se reporta que nitrofuranos adicionados a altas dosis o por tiempos prolongados ocasionan daño en algunos tejidos, tales como hígado, corazón y gónadas (31, 37 y 41). En éste trabajo se midieron niveles de glutatión total (GT) en tejidos de pollo que consumió nitrofuranos toda su vida en el alimento a dosis terapéuticas. Encontrándose que el GT tisular decrece en los pollos que consumieron alimento adicionado con 55 ppm de nitrofuranos. Mientras que en el grupo control, los niveles de GT tisular tienden a

incrementarse a partir de la octava semana. Tanto en las aves control como en las aves tratadas, el GT hepático fue el más alto, en segundo lugar, el presente en engónadas y en tercer lugar el cardiaco.

Los resultados fueron congruentes con lo reportado en la literatura, ya que el GT en hígado es superior al encontrado en los tejidos de gónadas y el corazón (gráfica 1 y 2), además de encontrar niveles decrecientes de GT en tejido cardiaco de pollos que consumieron nitrofuranos en el alimento toda su vida en comparación con los niveles de GT observados en tejido cardiaco de los pollos correspondientes al grupo control donde se mantienen los niveles de GT. Denotando esto, un posible daño cardiaco (7, 8, 21). En la literatura, algunas cardiomiopatías se reportan como ocasionadas por el consumo de nitrofuranos a dosis elevadas o por tiempo de administración prolongada. Entre los daños reportados, se encuentra la acumulación intracitoplasmática de glucógeno, como resultado de la inhibición de la enzima fosfofructocinasa. Por otro lado, la síntesis de la coenzima NADPH+H, aumenta, y esto promueve la regeneración de glutatión reducido a partir de glutatión oxidado. Esto explica el aumento de GT observado en la sangre de los animales tratados. Por tal motivo se recomienda dietas bajas en energía, cuando se utilicen nitrofuranos como promotores de crecimiento.

LITERATURA CITADA

1. Akerboom, T.P.M.: Assay of Glutathione Disulfide and Glutathione Mixed Disulfide in Biological Samples. Met. in Enzymol., 77:372-382 (1981).
2. Ali, B.H. and Khogali, A.: Plasma and histological changes in furazolidone treated chickens. Res. in Vet. Sci. 37:290-292 (1984).
3. Alton Mester and Suresh S. Tate: Glutathione and Related Glutamyl Compounds: Biosynthesis and Utilization. Ann. Rev. Biochem., 46: 559-604 (1976).
4. Andreoli, P.S., Mallett, C.P. and Bergstein, J.M.: Role of Glutathione in protecting endothelial cells against hydrogen peroxide oxidant injury. J. Lab. Clin. Med., 108: 190-198 (1986).
5. Brigelius, R., Mockel, C. Theodorus, P. M. Akerboom and Sies, H.: Identification and Quantification of Glutathione in Hepatic Protein Mixed Disulfides and its Relationship to Glutathione Disulfide. Biochem. Pharmacol., 32: 2529-2534 (1983).
6. Chatterjee, S.N. and Chanda, F.K.: Photobiological activity in pigs. Vet. Rec., 105: 169 (1979).
7. Dale, M. W. and John, F. V.: Reversibility of Furazolidone- Induced Cardiotoxicosis. Am. J. Tes., 8: 1366-1375 (1978).
8. Czarnecki, C.M.: Furazolidone induced cardiomyopathy- Biomedical model for the study of cardiac hypertrophy and congestive heart failure. AV. Dis., 24: 120-138 (1978).
9. Estrada, R. R.: Evaluación del Efecto de la Furazolidona sobre el Aparato Reproductor Masculino del Cerdo. Tesis Maestría en Ciencias Veterinarias. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM, México D.F., (1989).

10. Fuentes, H. V. O.: Farmacología Veterinaria. Ed. Interamericana. México, D.F., (1989)
11. Gómez D, C. A.: Efectos de la Furazolidona Sobre la Producción de Huevos Fértiles en Gallinas Ligeras. Tesis Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot.. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.(1985).
12. Harper, K. R., Murray P. A.: Bioquímica., El manual Moderno S.A de C.V México D.F., (1988.).
13. Hernández, J.P., Revilla, M.C. and Velasco, M.E.: Effects of furazolidone teatment on the morphology of rooster testicle. Light and electron microscopy study. Arch. Invest. Méd. (Méx), : 14:1-8(1983).
14. Hayashi, T., Yamane, O., Sakai, M.,: Hematological and patological observations of cronic furazolidone poisoning in calves . Jap. J. Vet. Sci., 38: 225-233 (1976).
15. Jawetz, E., Melnick J. L.: Microbiología Medica., El Manual Moderno, S.A de C.V México D.F., (1983).
16. Kodra, P.A. and Guertter, W.: Effect of nitrofurazone and furazolidone on reproduction in chickens. Poult. Sci., 47: 1642-1643 (1968).
17. Laguna, J., Piña, G.E.: Bioquímica, La Prensa Medica Mexicana. Méx.(1972.)
18. Liter, M.: Farmacología., El Ateneo., 3a. edic. (1988).
19. Luginbuke, R.C., and S.D Scholotz haver, SAS/Stat guide for personal computers, 6th ed SAS Institute, Cary, N.C.1987.

20. McCalla, D. R., Reuvers, A. And Kaiser, C.: Activation of Nitrofurazone in Animal Tissues. Bioch. Pharm., 20: 3532-3537 (1971).
21. Mc Callum, D. V. M., Badylak, S. F.: Furazolidone Induced Injury in the Isolated Perfused Chicken Heart. Am. J. Vet. Res., 7: 183-185 (1989).
22. Mirsalimi, S. M. and Qureshi, S.F.: Myocardial Biochemical Changes in Furazolidone-Induced Cardiomyopathy of Turkeys. J. Comp. Path., 102: 134-137 (1990).
23. Miyazaki, S.: Effect of Chemical on Glutathione Peroxidase of Chick Liver. Res in Vet. Sc 51: 120-122 (1991).
24. N.R.C.: Nutrient Requeriments of Domestic Animals. No 2 National Academy of Science. 6 Nat. Res Council, Washington, D. C. (1979).
25. Omer, V.V.: Efficacy and toxicity of Furazolidone in veterinary medicine (a review). Vet. Med. of Small Anim. Clin., 73: 1125-1132 (1978).
26. Pal, A.K. and Chatterjee, S.N.: Induction of prophage by furazolidone. Mutat. Res., 156: 69-75 (1985).
27. Peña, D.A. y Arroyo, B.A.: Bioquímica. Ed. Man. Moderno, México., D.F. 1988.
28. Quéinnec, G., Babilé, R., B, H.M.: Induction D'anomalies chromosomiques par le foroxone ou le chloranphenicol. Rev. Med. Vet., 12: 1611-1626 (1075).
29. Randani, P.: Compendio de Bioquímica. Ed. Man. Moderno. México, D.F. 1948.

30. Sánchez, R. E.: Efecto de la Furazolidona Sobre la Producción de Huevos Fértiles, en Gallinas de Estirpe Pesada. Tesis Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1987.
31. Simpson, C.F, Rollingshoff, W., Preising, R. and Fisher, M.J.: Hepatitis, Cardiomyopathy and Hemodynamics in Furazolidone- induced Round Heart Disease of Turkeys. Can. J. Comp. Med., 43:345-350 (1979).
32. Snedecor, G.W. and Cochran, W.G.: Statistical Methods Seventh edition. Iowa State University Ames, Iowa (1967).
33. Stern, I.J., Hollifield, R.D., Wilk, S. and Buzrd, J.A.: The anti-monoaminooxidase effects of furazolidone. The Jour. of Pharmac. and Exp. Therap., 156: 492-499 (1967).
34. Sumano, H. L. y Ocampo, C. L.: Farmacología Veterinaria. Ed. Mc Graw-Hill. México, D.F.(1989).
35. Tietza, F.: Enzymic Method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: aplications to mammalian blood and other tissues. Analyt. Biochem., 27: 502-522(1969).
36. Vademecum Veterinario. Los nitrofuranos. Norwich Pharmacal Co. de México, S.A de C.V (1983).
37. Villanueva, S. J.: Evaluación Ultraestructural del Efecto de la Furazolidona sobre la Meiosis de las Aves. Tesis Licenciatura. Fac. de Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1982).
38. Villaseñor, M.J.: Consideraciones farmacológicas, y aplicaciones de los nitrofuranos. Problemática de los antimicrobianos en la medicina veterinaria. Curso de Actualización, Fac. de Med. Vet. y Zoot., México D.F. (1984).
39. Windholz, M., edit, Budavari S. Coed.:2.- The Merck Index. Tenth Edition, Rahway, N.J., U.S.A.: 163 (1981).

40. Zentella de P. M., Rocha H. A., Díaz B.A. : Blood Glutathione Status In Alcoholic Liver Disease., Biochem. of Dis., Congress Center. Nagoya, Japan. (1992).

41. Zermeño, H.A.: Evaluación y cuantificación de las lesiones producidas en el testículo de aves reproductoras por la furazolidona a diferentes dosis. Tesis para obtener el grado de Medico Veterinario Zootecnista, Fac.de Med. Vet y Zoot. UNAM. México, D.F. 1984.

42. Ziegler, D. M.: Role of Reversible Oxidation Reduction of Enzyme Thiols- Disulfides in Metabolic Regulations. Ann. Rev. Biochem., 54: 305-329 (1985).

CUADRO DE TRATAMIENTOS					
NITROFURANO	Valsyn	Valsyn	Furosel	NF 180	S/T
DOSIS	0.5 g/l	1.0 g/l	96.5 ppm	55 ppm	-
EDAD (Días)	2-4	13-15	2-11	CONTINUO	-
GRUPO	1 y 3	2 y 3	4 y 5	5	6

CUADROS DE RESULTADOS

PRIMERA SEMANA				
($\mu\text{mol/ml}$ sangre \pm D.E)				
GRUPO	N	GSH	GSSG	GT
1	10	1.76 \pm 0.14	0.27 \pm 0.14*	2.0 \pm 0.41
CONTROL	10	1.94 \pm 0.46	0.16 \pm 0.09	2.1 \pm 0.43

Cuadro 1.- Glutación sanguíneo ($\mu\text{mol/ml}$ de sangre) cuya agua de bebida fué adicionada ("Valsyn") 0.5 g/l de agua de bebida del día 2-4 de edad.

* ($P < 0.05$)

CUADRO DE TRATAMIENTOS					
NITROFURANO	Valayn	Valayn	Furosel	NP 180	S/T
DOSIS	0.5 g/l	1.0 g/l	96.5 ppm	55 ppm	-
EDAD (Días)	2-4	13-15	2-11	CONTINUO	-
GRUPO	1 y 3	2 y 3	4 y 5	5	6

SEGUNDA SEMANA				
($\mu\text{mol/ml}$ sangre \pm D.E)				
GRUPO	N	GSH	GSSG	GT
1	10	1.76 \pm 0.25	0.250 \pm 0.14	2.01 \pm 0.31*
4	10	2.48 \pm 0.63	0.132 \pm 0.07	2.61 \pm 0.58
5	10	2.15 \pm 0.74	0.164 \pm 0.05	2.31 \pm 0.70
CONTROL	10	2.57 \pm 0.30	0.245 \pm 0.07	2.81 \pm 0.91*

CUADRO 2.- Niveles de glutatión sanguíneo ($\mu\text{mol/ml}$ de sangre), durante la segunda semana de vida de pollo de engorda cuyo alimento y agua de bebida fueron adicionados con nitrofuranos a dosis terapéuticas.

* ($P < 0.05$)

CUADRO DE TRATAMIENTOS					
NITROFURANO	Valsyn	Valsyn	Furosel	WF 180	S/T
DOSIS	0.5 g/l	1.0 g/l	96.5 ppm	55 ppm	-
EDAD (Días)	2-4	13-15	2-11	CONTINUO	-
GRUPO	1 y 3	2 y 3	4 y 5	5	6

TERCERA SEMANA				
($\mu\text{mol/ml}$ sangre \pm D.R)				
GRUPO	N	GSH	GSSG	GT
1	10	1.35 \pm 0.67	0.13 \pm 0.03	1.48 \pm 0.06
2	10	1.48 \pm 0.03	0.16 \pm 0.03	1.44 \pm 0.04
3	10	0.97 \pm 0.10	0.17 \pm 0.06	1.14 \pm 0.04
4	10	0.92 \pm 0.20*	0.20 \pm 0.12*	1.13 \pm 0.20
5	10	1.49 \pm 0.36*	0.10 \pm 0.03	1.59 \pm 0.35*
CONTROL	10	1.18 \pm 0.06	0.11 \pm 0.03	1.29 \pm 0.06

CUADRO 3.- Niveles de glutatión sanguíneo ($\mu\text{mol/ml}$ de sangre), durante la tercera semana de vida de pollo de engorda, cuyo alimento y agua de bebida fueron adicionados con nitrofuranos a dosis terapéuticas.

* ($P < 0.05$)

CUADRO DE TRATAMIENTOS					
NITROFURANO	Valsyn	Valsyn	Furosel	NF 180	S/T
DOSIS	0.5 g/l	1.0 g/l	96.5 ppm	55 ppm	-
EDAD (Días)	2-4	11-15	2-11	CONTINUO	-
GRUPO	1 y 3	2 y 3	4 y 5	5	6

CUARTA SEMANA				
(μmol/ml sangre ± D.E)				
GRUPO	N	GSH	GSSG	GT
1	10	1.77±0.02*	0.150±0.02	1.93±0.010*
2	10	1.56±0.23	0.135±0.06	1.70±0.24
3	10	1.68±0.11	0.151±0.02	1.83±0.13
4	10	1.50±0.13	0.100±0.02*	1.60±0.14
5	10	1.48±0.19	0.131±0.02	1.61±0.18
CONTROL	10	1.34±0.09*	0.176±0.06*	1.52±0.13

CUADRO 4.- Niveles de glutación sanguíneo (μmol/ml de sangre), durante la cuarta semana de vida en pollo de engorda cuyo alimento y agua de bebida fueron adicionados con nitrofuranos a dosis terapéuticas.

* (P<0.05)

CUADRO DE TRATAMIENTOS					
NITROFURANO	Valayn	Valayn	Furorel	MF 180	S/T
DOSIS	0.5 g/l	1.0 g/l	96.5 ppm	55 ppm	-
EDAD (Días)	2-4	11-15	2-11	CONTINUO	-
GRUPO	1 y 1	2 y 3	4 y 5	5	6

QUINTA SEMANA				
(μmol/ml sangre ± D.E)				
GRUPO	N	GSH	GSSG	GT
1	10	1.43±0.328	0.236±0.13	1.67±0.34
2	10	1.30±0.325	0.257±0.005	1.55±0.31
3	10	2.00±0.222*	0.113±0.053	2.11±0.16*
4	10	1.04±0.115	0.719±0.031*	1.76±0.08
5	10	1.17±0.067	0.674±0.032*	1.85±0.03
CONTROL	10	1.38±0.586	0.253±0.151	1.64±0.43

CUADRO 5.- Niveles de glutatión sanguíneo (μmol/ml de sangre), durante la quinta semana de vida en pollo de engorda al que se le adicionaron nitrofuranos en el alimento y en el agua de bebida a dosis terapéuticas.

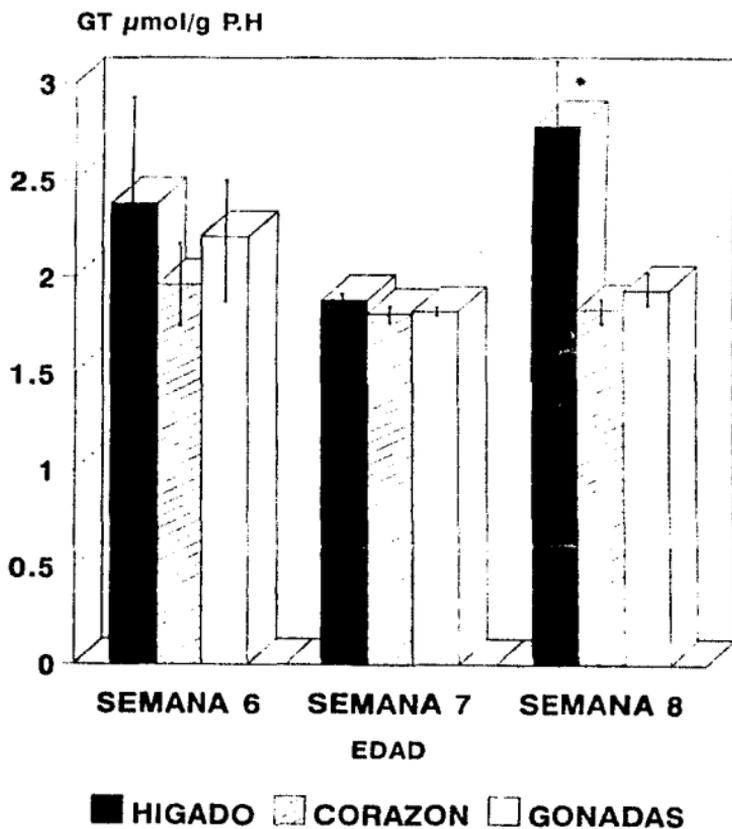
* (P<0.05)

GLUTATION TOTAL EN TEJIDOS (GRUPO 5 Y CONTROL)				
($\mu\text{mol/g}$ de P.H \pm D.E)				
TEJIDO	EDAD	N	GT (GRUPO 5)	GT (CONTROL)
Hígado	6	3	3.30 \pm 0.043*	2.38 \pm 0.59
Hígado	7	3	1.60 \pm 0.021	1.88 \pm .006
Hígado	8	3	1.31 \pm 0.013	2.78 \pm 0.51*
Corazón	6	3	1.60 \pm 0.187*	1.96 \pm 0.213
Corazón	7	3	1.04 \pm 0.011	1.81 \pm 0.040
Corazón	8	3	0.74 \pm 0.013*	1.83 \pm 0.058
Gónadas	6	3	2.40 \pm 0.011*	2.21 \pm 0.305
Gónadas	7	3	1.11 \pm 0.014	1.82 \pm 0.001
Gónadas	8	3	0.86 \pm 0.005*	1.93 \pm 0.085

CUADRO 6.- Glutación total ($\mu\text{mol/g}$ de P.H) de pollo de engorda de seis, siete y ocho semanas de edad, al que se le adicionaron nitrofuranos en el agua y en el alimento a dosis terapéuticas durante toda su vida.

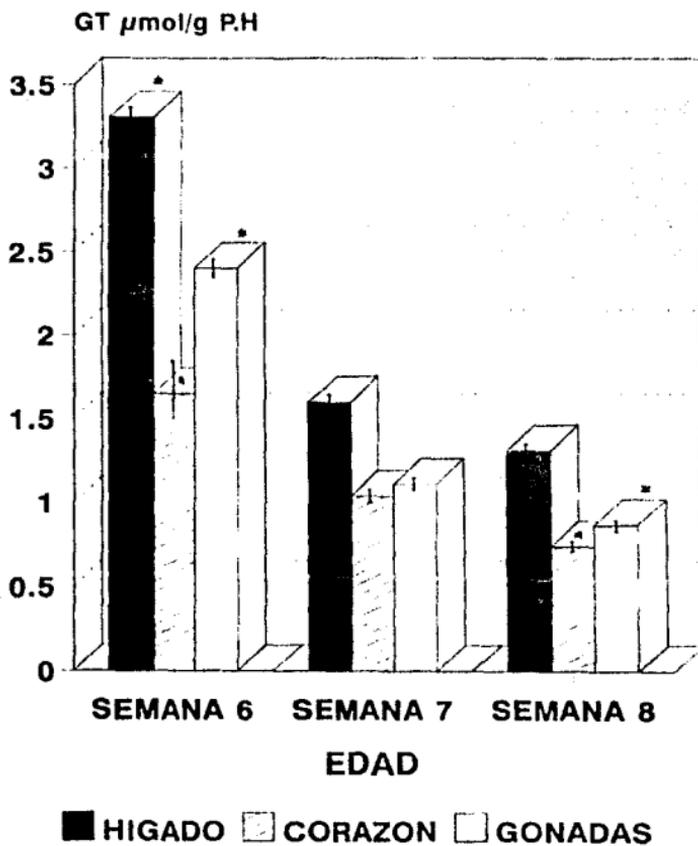
* ($P < 0.05$)

**GRAFICA 1.-NIVELES DE GLUTATION TOTAL (GT) EN TEJIDOS
POLLO DE ENGORDA DEL GRUPO CONTROL (\pm D.E)**

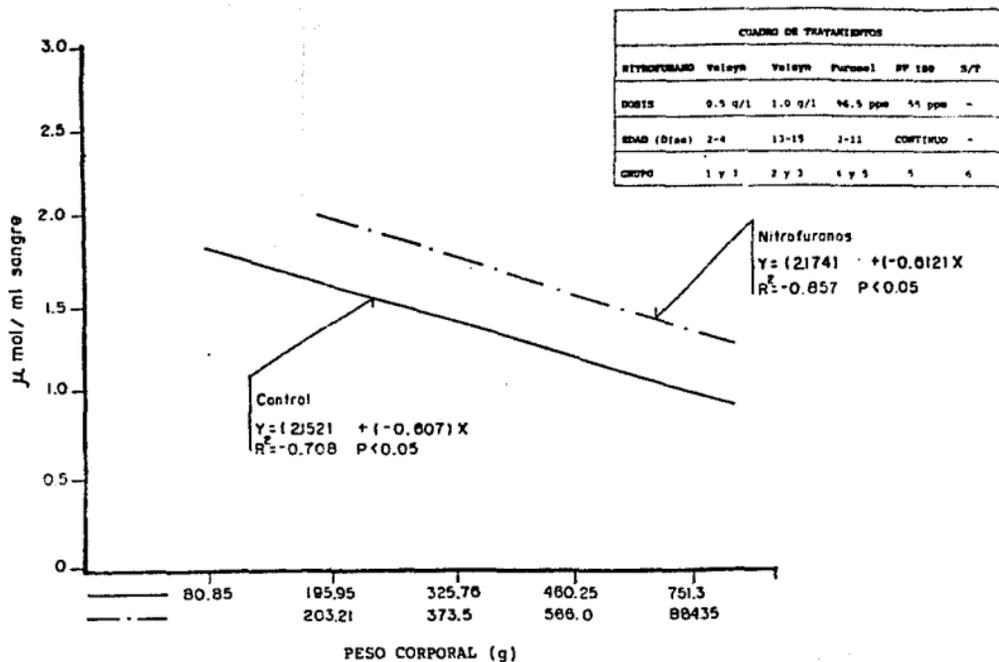


* ($P < 0.05$)

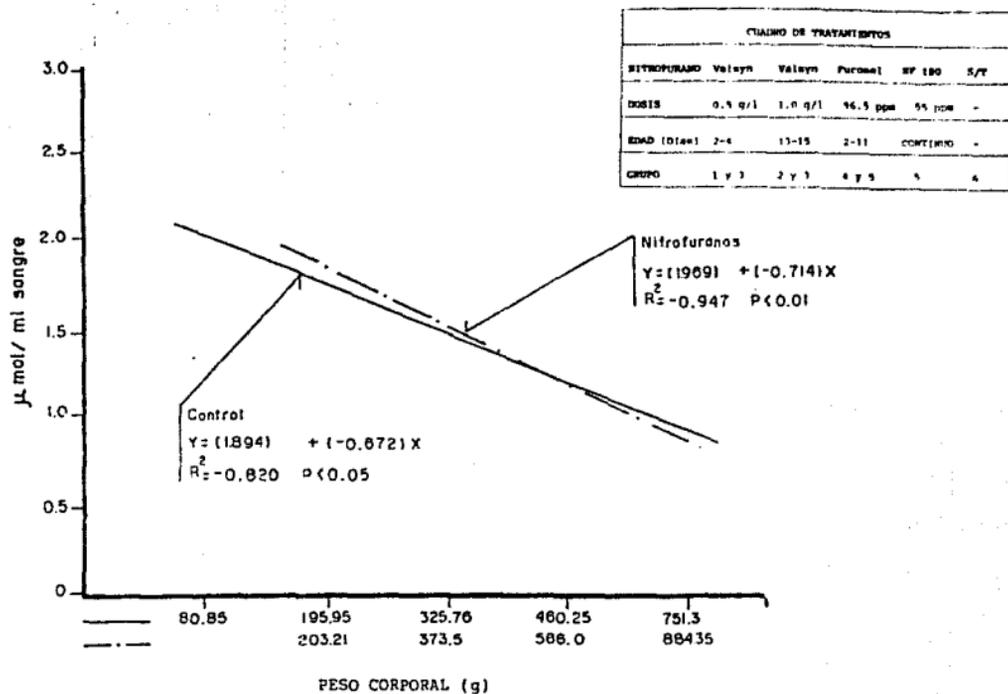
GRAFICA 2.- NIVELES DE GLUTATION TOTAL (GT) EN TEJIDOS
 POLLO DE ENGORDA MEDICADO CON NITROFURANOS (55 ppm) (\pm D.E)



* (P<0.05)



GRAFICA 3. Correlación del glutation total (GT) sanguíneo con el peso corporal del pollo de engorda.



GRAFICA 4.- Correlación del glutatión reducido (GSH) sanguíneo con el peso corporal del pollo de engorda.