



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DE LA EFICACIA DEL
COLECALCIFEROL (VITAMINA D₃)
COMO RODENTICIDA EN RATAS CEPA
WISTAR Y RATONES CEPA CD1

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
PERLA GUADALUPE DE LA LUZ FLORES RAMIREZ

MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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

I. RESUMEN.	1
II. INTRODUCCION.	3
2.1 CARACTERISTICAS DE LOS ROEDORES.	3
2.2 METODOS DE CONTROL DE ROEDORES.	7
2.3 CONTROL QUIMICO.	8
2.4 COLECALCIFEROL (VITAMINA D ₃).	14
2.5 FUNCIONES DEL COLECALCIFEROL.	17
2.6 DEFICIENCIA DE COLECALCIFEROL.	20
2.7 MECANISMO DE ACCION.	22
2.8 HIPERVITAMINOSIS D ₃	34
2.9 SIGNOS DE INTOXICACION.	36
2.10 LESIONES.	39
2.11 LAS CARACTERISTICAS DEL COLECALCIFEROL (VITAMINA D ₃) COMO RODENTICIDA.	46
2.12 TRATAMIENTO EN CASO DE INTOXICACION ACCIDENTAL CON COLECALCIFEROL.	49
III. HIPOTESIS.	53
IV. OBJETIVO.	53
V. MATERIAL Y MÉTODOS.	53
VI. RESULTADOS.	56
1) SIGNOLOGIA.	56
2) CONSUMO DE ALIMENTO (CA) Y GANANCIA DIARIA DE PESO (GDP).	57
3) MORTALIDAD.	59
4) NECROPSIA.	59
5) HISTOPATOLOGIA.	60
6) DETERMINACION BIOQUIMICA DE Ca SANGUINEO.	61
VII. DISCUSION.	63
VIII. LITERATURA CITADA.	71

I. RESUMEN.

En el presente trabajo se utilizó un rodenticida de reciente ingreso en el mercado que tiene al Colecalciferol (vitamina D₃) como ingrediente activo. El experimento fue realizado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y en el Bioterio de la Facultad de Química, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se utilizaron ratas cepa Wistar y ratones cepa CD1, cada prueba contó con 16 animales, los cuales fueron divididos en 2 grupos (controles y tratados), al grupo tratado se le administró una mezcla de alimento conteniendo Colecalciferol al 0.075% (750ppm), se realizó una repetición del experimento con el mismo número de animales y en las mismas condiciones para dar más validez a los resultados obtenidos.

En el periodo de tratamiento, los animales a los cuales se les administró Colecalciferol mostraron principalmente una disminución en el consumo de alimento hasta la anorexia total, marcada pérdida de peso, debilidad, depresión, inmovilidad, poliuria, deshidratación, taquicardia y disnea, no observandose signos violentos antes de su muerte. La mortalidad se presentó del 2-5 día del periodo de tratamiento en el 100% de los animales.

Al realizar la necropsia y el examen histopatológico, las lesiones calcinóticas estuvieron presentes en el riñón, corazón, pulmón, vasos sanguíneos y diafragma (además de cambios degenerativos en algunos órganos), no se observaron cambios en la unión costocondral; además, en intestino delgado y grueso de algunos casos, se observó la presencia de intususcepciones.

Después de realizar el análisis estadístico (ANDEVA), se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el consumo diario de alimento, en la ganancia diaria de peso y en la concentración de Ca sanguíneo.

La intoxicación producida por el exceso de Colecalciferol en el alimento puede ser debida principalmente a un aumento en la eficacia de la absorción del Ca intestinal, a una disminución de la excreción de Ca renal y a una disminución en la deposición del Ca sanguíneo en hueso, por la acción del metabolito 25-OH-D_3 y no del $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, presentándose una elevación en los niveles de Ca sanguíneo (hipercalcemia). El riñón puede ser el primer órgano afectado por la hipercalcemia, al disminuir el tejido renal funcional, se reduce aun más la excreción de Ca, agravándose la hipercalcemia, produciendo así la signología y la presencia de depósitos de Ca en los tejidos blandos antes mencionados (incluyendo la precipitación de Ca en la luz de los vasos sanguíneos). En corazón este desequilibrio en la concentración del Ca, conduce a una insuficiencia cardíaca (arritmias cardíacas, fibrilación ventricular) y culmina con la muerte del animal.

Por los resultados obtenidos, el Colecalciferol puede ser utilizado como un rodenticida eficaz en el control de roedores, pero al igual que otros productos rodenticidas, si no es manejado con precaución puede representar un riesgo potencial para las especies no blanco (intoxicaciones accidentales).

II. INTRODUCCION.

Los problemas en el manejo de los organismos considerados como plagas (insectos y roedores), se debe principalmente a la falta de información y difusión sobre las características de estos animales, los productos y métodos o estrategias más utilizadas, así como la efectividad y los riesgos que se tienen al seleccionar alguno de ellos, para llevar a cabo una campaña de control; por lo que en este trabajo, se incluye de manera general información referente a estos temas.

2.1 CARACTERISTICAS DE LOS ROEDORES.

Las poblaciones humanas al ir creciendo, han creado grandes necesidades difíciles de satisfacer con los productos y recursos materiales existentes, por lo que el hombre ha ido alterando el medio, con el fin de obtener un mayor aprovechamiento de éste, pero al mismo tiempo, ha causado que algunas especies se hayan llegado a considerar como plagas, por ejemplo algunos roedores, por su gran proliferación y distribución, además de la desaparición de sus diversas especies predatoras. Como consecuencia, estos organismos compiten con otras especies animales (incluyendo al hombre) por los recursos alimenticios (8, 24, 53, 61, 71).

El ser humano por ignorancia, indiferencia o descuido, proporciona a las ratas y ratones las condiciones favorables para que se establezcan, se alimenten y se reproduzcan (8).

Estos pequeños mamíferos, por los lugares que frecuentan, por ejemplo: basureros, alcantarillas, mercados y en general sitios con poca o nula higiene (31, 61,

71), son potenciales transmisores de numerosas enfermedades en animales, algunas de ellas son : Brucelosis, Erisipela, Fiebre Aftosa, Triquinosis, Pseudorrabia, Salmonelosis, Tifus Muirno, Coccidioidomicosis y otras; entre las enfermedades que transmiten al humano (zoonosis), se encuentran: Poliomielitís, Triquinosis, Salmonelosis, Encefalomiocarditis, Peste Bubónica, Fiebre por mordedura de rata, Tularemia, Pseudotuberculosis, Leptospirosis, Toxoplasmosis, etc. (1, 5, 8, 14, 19, 22, 24, 31, 49, 65, 71).

La presencia de una sola rata o ratón en algunos lugares da un aspecto muy desagradable, como es el caso de hogares, restaurantes, bibliotecas, etc.; en otros sitios, cuando la población de roedores es grande los daños por consumo, contaminación y destrucción de alimentos u otro tipo de materiales son enormes (71), debido a que estos animales roen cualquier material para desgastar sus dientes incisivos que les crecen continuamente durante toda su vida. Por otro lado, llegan a causar grandes pérdidas económicas en cultivos, alimentos almacenados, explotaciones pecuarias, tiendas, mercados y rastros entre otros, siendo responsables de un gran número de accidentes por causa indeterminada (daño al cableado telefónico, eléctrico, etc.) (4, 5, 8, 19, 22, 24, 31, 61, 65, 71).

Existe un gran riesgo por contaminación de los alimentos, ya que es mayor que la cantidad que consumen (14, 31, 71) y muchas veces dicha contaminación es encubierta por el procesamiento que siguen en los lugares de fabricación de alimentos (71).

Ante situaciones de "presión" por sobrepoblación o escasez de alimento pueden atacar a otras especies animales, especialmente a las crías, robar huevos y llegar a ser depredadores de otros roedores (5, 22, 31, 71).

Existen 3 especies de roedores que conviven con el hombre y que son consideradas plagas a nivel agrícola, pecuario y urbano, estas provienen de una misma familia y su clasificación taxonómica (14, 24, 31, 65, 71), es la siguiente:

Reino: Animal
Phylum: Chordata
Subphylum: Tetrapoda
Clase: Mammalia
Infraclass: Eutheria
Orden: Rodentia
Suborden: Myomorpha
Familia: Muridae
Géneros: Rattus
Mus
Especies: R. rattus
R. norvegicus
M. musculus

Se adaptan fácilmente a diferentes condiciones ambientales (climas fríos o calientes, cambios de alimentación, escasez de agua, etc.).

La especie Rattus norvegicus también es conocida como: rata café, rata gris, rata parda, rata de alcantarilla, rata migratoria, rata de los albañales, rata común, además de otros; la especie Rattus rattus se conoce como rata de los tejados, rata negra, rata de los barcos, etc.; la especie Mus musculus tiene los siguientes sinónimos: ratón casero, ratón común y ratón doméstico entre otros. Estos roedores pueden atravesar aberturas muy pequeñas, saltar en forma horizontal y vertical (los ratones son excelentes saltadores y tienen movimientos muy rápidos), trepar, escalar y correr por árboles, cables

eléctricos, telefónicos, tubos o conductos (los ratones pueden correr verticalmente sobre superficies rugosas); poseen un excelente sentido del equilibrio, pueden caer de grandes alturas sin sufrir algún daño, nadar y bucear (el ratón nada solo cuando es necesario y no bucea). Tienen vista corta y no distinguen los colores, solo tienen gran sensibilidad a las variaciones en la intensidad del color; por medio del sentido del gusto y olfato localizan su alimento y reconocen otras ratas o ratones, en especial a las del sexo opuesto, sus bigotes y pelo corporal actúan como sensores táctiles, facilitando el movimiento de estos en la oscuridad, su actividad es principalmente nocturna, solo cuando las condiciones son favorables y los roedores se reproducen sin control, comienza la competencia por el alimento y se les puede observar de día. Son animales muy cautelosos que no aceptan fácilmente un alimento nuevo en su dieta (los ratones son más curiosos, lo que permite que prueben los alimentos con mayor facilidad), una vez que aceptan el alimento pueden transportarlo a su madriguera, almacenando grandes cantidades que pueden o no consumir (8, 19, 31, 37, 65, 71). A diferencia de las ratas, el ratón roe en forma discontinua (roe un poco de todo), no sacian su apetito en un solo lugar, buscan varios lugares a los que acuden esporádicamente consumiendo pequeñas cantidades de alimento (37, 60), llegan a sobrevivir en almacenes frigoríficos a temperaturas muy bajas (8, 37, 65, 71).

La rata negra es más ágil, trepadora y hace sus madrigueras en lugares elevados, en la Ciudad de México ha sido desplazada por la rata café. La rata café es una especie muy agresiva que habita en los lugares bajos, cerca de su fuente de alimento. Pueden

existir las 2 especies en el mismo sitio, pero una habitando los lugares bajos y la otra los lugares altos (71)

Estos roedores comensales tienen un ciclo de vida corto, y el número de crías es elevado, en condiciones propicias la población puede multiplicarse rápidamente (14, 24, 65, 71), observándose ratas lactantes que están siendo amamantadas por madres que se encuentran nuevamente gestantes (24, 65), su promedio de vida en libertad es de aproximadamente un año (14, 65, 71). Pueden llegar a recuperarse rápidamente después de una campaña de desratización (53).

2.2 METODOS DE CONTROL DE ROEDORES.

Después de conocer en forma general las características biológicas y conductuales, de las ratas negra y café, así como la del ratón doméstico, además de su importancia económica y en salud pública. (9, 31, 53, 71). Es necesario identificar la especie plaga que se va a controlar en un lugar, elegir el tipo de control que se va a efectuar, cuando, cómo y con qué elementos.

Al observar las huellas, la forma y tamaño de las excretas, los refugios o madrigueras, los hábitos alimenticios (material dañado), señales de roce, vías de acceso, etc., es posible llegar a identificar la especie plaga presente, sin necesidad de observarla en forma directa, puede servir como apoyo toda la información obtenida de personas que habitan o trabajan en éstos lugares, para determinar las áreas infestadas y su grado de infestación. A partir de esta información y no perdiendo las características del lugar, es posible seleccionar el tipo o tipos de control que pueden ser utilizados en

forma efectiva para obtener un buen resultado (5, 31, 45, 71). Existen métodos de control directo e indirecto, en el directo se incluye el método físico, que es a base de trampas, cercado eléctrico, rifle, ultrasonido, etc.; el método biológico, en el cual se utilizan bacterias y depredadores; y el método químico, donde se emplean venenos agudos y crónicos, fumigantes, quimioesterilizantes y repelentes. Dentro de los métodos de control indirectos esta el control del ambiente donde se utilizan prácticas sanitarias y agrícolas, así como la adaptación de las instalaciones del sitio para hacer más difícil la presencia y permanencia de la especie plaga, además del método cultural en el que se trata de concientizar a la gente involucrada, para que al modificar algunos de sus hábitos, hagan cada vez más difícil la supervivencia de las ratas y/o ratones en el lugar, y así se desplacen a otro sitio en búsqueda de alimento, agua y refugio (4, 5, 8, 14, 19, 22, 24, 49, 53, 61, 65, 71).

La reducción de la población produce un efecto temporal en tanto que el control del ambiente puede producir efectos más duraderos (53).

2.3 CONTROL QUIMICO.

Cuando en una campaña para el control de ratas y/o ratones, se incluye el control químico, es importante conocer los productos que existen en el mercado, cuáles son sus ingredientes activos, sus características fisicoquímicas, su modo de acción, cuáles son los riesgos que existen al utilizar estos productos y cuáles son las ventajas y desventajas de cada uno.

Los productos químicos más difundidos en el control de ratas y ratones son los rodenticidas. Para elegir un producto rodenticida entre toda la gama de productos que existen en el mercado se han de tomar en cuenta las siguientes características:

- Debe ser palatable.
- No inducir rechazo al cebo.
- Específico para la especie blanco.
- No debe haber diferencia en la susceptibilidad, debido a la variación por la edad, sexo o cepa.
- No debe haber riesgo de intoxicaciones secundarias en otras especies animales y humanos.
- No debe desarrollar resistencia.
- Debe ser de bajo costo.
- Debe ser degradado rápidamente por el ambiente
- Debe ser de fácil formulación.
- En Inglaterra ya se incluye la característica de que el veneno no produzca una muerte dolorosa.

No existe un rodenticida que cumpla con todas las características antes mencionadas (14, 31, 45, 65, 71).

Los rodenticidas se dividen en venenos de acción aguda o dosis única y venenos de acción crónica o dosis múltiple. Los venenos de acción aguda, como la Escila Roja, Arsénico, Estricnina, Sulfato de Talio, ANTU, Fluoracetamida (1081), Monofluoracetato de Sodio (1080), Alfa-Cloralosa, Brometalina y Fosforo de Zinc entre otros, son productos

que en un plazo corto reducen la población por lo que tienen buena aceptación, se necesita poca mano de obra para su preparación y aplicación porque una sola ingestión del tóxico puede eliminar al organismo plaga. Algunas desventajas de estos productos son: las ratas no se acercan a objetos nuevos (incluyendo cebos de olor y sabor diferentes) durante varios días; además tienen la gran habilidad de asociar "causa-efecto", pero en un tiempo limitado. Si los animales consumen dosis subletales del veneno y desarrollan signos de envenenamiento en un corto plazo, la rata es advertida y rechaza el cebo, si los signos se retrasan, la rata no es capaz de asociar el cebo con la signología. Para eliminar este problema se recomienda el método de precebado, donde se utilizan cebos no envenenados (que incluyen sólo el ingrediente o vehículo del cebo tóxico), el período de aplicación varía de acuerdo a las condiciones del sitio, tipo de infestación y densidad de población, cuando los roedores se familiarizan con el cebo sin veneno y las estaciones de cebo (cuando se utilizan), se induce el consumo de grandes cantidades del cebo envenenado, obteniendo mejores resultados (14, 24, 31, 39, 45). Se han utilizado venenos fumigantes como el Dióxido de Azufre, Cianuro de Hidrógeno, Fosfuro de Aluminio y Bromuro de Metilo en situaciones especiales, pero los rodenticidas más utilizados son los cebos envenenados (9, 14, 45, 71).

Los venenos de acción aguda no son productos tóxicos específicos para la especie a tratar y existe el riesgo de intoxicación en otras especies animales y el hombre, así para la elaboración del cebo tóxico, su manejo y aplicación se requiere de personal capacitado y equipo de protección personal como mascarilla, guantes, overol, etc.; ya que muchos de estos productos son vendidos como concentrados técnicos para

preparar el cebo por la persona que lo va a utilizar y el riesgo es mayor que cuando se utiliza un cebo comercial. El uso de estos venenos de una sola ingestión, esta restringido en otros países, en México sólo esta autorizado el Fosforo de Zinc, esto es debido a que la mayoría de estos tóxicos pueden penetrar por mucosa, heridas en la piel, y en algunos casos hasta piel intacta; además la DL50 de ratas y ratones es muy cercana a la de otras especies animales y el ser humano (en algunos casos es mayor la cantidad de veneno que se necesita para causar la muerte a la rata y/o al ratón, que la necesaria en otras especies), por lo que una intoxicación accidental puede llegar a causar la muerte por daños irreversibles, ya que no existen antídotos específicos para estos tóxicos, solo se realiza una terapia de sosten (con Monofluoracetato de Sodio es tan rápido el envenenamiento, que no da tiempo a realizar ningún tratamiento). Algunos tóxicos producen en los animales tratados una muerte muy violenta, además de no ser fácilmente degradados en el medio, algunos son fitotóxicos o se acumulan en el tejido graso de los animales, provocando intoxicaciones en diferentes eslabones de la cadena alimenticia (1080, Arsénico, Estricnina, Sulfato de Talio, etc.), con ciertos productos se puede llegar a inducir resistencia (5, 8, 14, 22, 24, 31, 39, 45, 61, 71).

El posterior descubrimiento de los venenos de acción crónica o dosis múltiple ha dado nuevas alternativas en el control de ratas y ratones. Estos venenos se dividen en Hidroxicoumarinas e Indandionas, tienen una fórmula similar y su mecanismo de acción es el mismo, por competencia con la vitamina K (inhibiendo la producción de la enzima protrombina), bloqueando la coagulación de la sangre (37, 38, 63), al cabo de 4-5 días

no existe protrombina en el hígado y se producen hemorragias internas espontáneas en diversos órganos (37).

Los cebos que contienen un veneno de acción crónica, pueden ser utilizados sin incluir un período de precebado, por no provocar rechazo al cebo, la rata o el ratón no relacionan la muerte de otras ratas o ratones con el producto aplicado en el sitio para su control, ya que no presentan signos de intoxicación hasta días después de consumir la dosis letal. El riesgo de intoxicación accidental en animales domésticos y humano, es menor por el tipo de ingrediente activo, su concentración en el cebo y su mecanismo de acción, así necesitan ingerir grandes cantidades del producto en una sola exposición o consumirlo varias veces para acumular la dosis letal. Además existe tratamiento específico a base de vitamina K1 (Fitomenadiona), con la que se pueden revertir los efectos de los anticoagulantes y la terapia de sosten, con lo que se disminuyen el número de casos de muerte por consumo accidental de rodenticidas. Sin embargo, los rodenticidas de acción crónica presentan algunas desventajas, durante el período de tratamiento se necesita un mayor número de aplicaciones, lo que incrementa los costos por concepto de mano de obra y el producto químico, además si un animal no consume un día el producto, el efecto anticoagulante va disminuyendo, hasta que vuelve a entrar en contacto con este y se acumula la dosis letal. Si no se aplica de manera adecuada puede llegar a inducir resistencia en algunos animales (14, 37, 38).

Los anticoagulantes de 2a. generación, como la Bromadiolona, Brodifacuoma, Difenacuoma, Flocumafen y Difetialona, son mucho más tóxicos (también para el ratón), produciendo la muerte después de 1 o 2 ingestiones (37, 38). La acción es lenta, un

ratón presenta los síntomas de 4-5 días y la muerte se presenta varios días después, esto puede dar tiempo a que el roedor se desplace a otro lugar a morir (37). Por lo general los ratones son menos sensibles que la rata a los anticoagulantes, incluyendo los de dosis única o de segunda generación (60).

Existe un proceso cíclico observado por el uso inadecuado e indiscriminado de productos químicos para el control de insectos y roedores, este proceso inicia con la utilización de un compuesto químico que provoca una alta mortalidad de la plaga a corto plazo, por su uso innovador. Después resurge la plaga y puede sobrevivir a tratamientos posteriores, ya que sus nuevas generaciones pueden desarrollar un mayor número de genes resistentes a los productos químicos utilizados (por lo que se llegan a necesitar dosis mayores para conseguir los mismos resultados), llegando a ser totalmente incosteables e ineficaces, además de que se puede provocar el aumento de otro organismo como plaga secundaria debido a un mal manejo de los productos químicos.

Por otro lado se pueden ocasionar daños al medio, debido a una contaminación generalizada (de agua, suelo, alimentos vegetales y productos de origen animal) que puede propiciar graves problemas en la población al llegar al hombre a través de la cadena alimenticia, además de la presencia de intoxicaciones primarias o secundarias en otras especies que no son las que se desean controlar (14, 31, 57).

En la actualidad han aparecido cepas resistentes en áreas en que el control de ratas y ratones depende principalmente de los anticoagulantes, por lo que es necesario encontrar nuevas alternativas de productos rodenticidas que sean eficaces (14).

2.4 COLECALCIFEROL (VITAMINA D₃).

Así es como surgió el Colecalciferol (vitamina D₃) como rodenticida, desde hace algunos años se ha utilizado en Estados Unidos, por la información obtenida, se han tenido buenos resultados en el control de la rata negra, rata café, ratón doméstico y la ardilla Spermophilus spp. En Europa y Canada el producto que ha sido utilizado es el Calciferol (vitamina D₂), el cual actua de manera similar al Colecalciferol pero tiene menos potencia y las lesiones que produce en los órganos son más leves (26, 39, 41, 42). En México este producto rodenticida ha sido introducido recientemente al mercado.¹

El Colecalciferol es una vitamina, las vitaminas son sustancias orgánicas imprescindibles para el mantenimiento de todas las funciones del organismo como: crecimiento, salud, fertilidad, rendimiento, etc. (2, 3). Cada vitamina desempeña una función específica dentro del organismo que no puede ser sustituida por ninguna otra. (2).

McCollum en 1922 le dió el nombre de vitamina D al compuesto capaz de curar el raquitismo, antes conocido como factor antirraquítico (13, 20, 44, 47). Poco tiempo después, en 1924, Steenbock y Black descubrierón que la luz ultravioleta producía una alteración de algunas sustancias en la piel de los animales y que la irradiación ultravioleta no solo de los animales sino de sus alimentos, prevenía o curaba el raquitismo. Investigaciones realizadas en forma detallada revelan como se efectuaron los

¹ Presentado en el VII Congreso Nacional de la Asociación Nacional de Controladores de Plagas Urbanas, 9 de Abril de 1991 en Acapulco, Guerrero. Comunicación personal de Laboratorios Helios.

primeros descubrimientos sobre la vitamina D, su metabolismo, su sistema endocrino y las funciones de sus metabolitos (13, 16, 25, 33, 44, 47, 54).

La vitamina D en los vegetales y en los animales no se encuentra en forma activa, pero es común la presencia de Ergosterol en las plantas (precursor de la vitamina D₂, también llamada Calciferol, Viosterol ó Ergocalciferol) y en los animales del 7-dehidrocolesterol (precursor de la vitamina D₃, también llamada Colecalciferol, Oleovitamina D₃, CC ó Cholecalciferol) (3, 10, 13, 16, 18, 20, 21, 25, 33, 34, 40, 44, 46, 47, 50, 54, 58).

Las necesidades de vitamina D₃ dependen de la concentración de Ca y P en la dieta, estado fisiológico de desarrollo, edad, grado de exposición al sol, cantidad de piel o pelo, color, sexo y quizá la raza (47).

Se asume generalmente que las vitaminas D₂ y D₃ tienen igual potencia en muchos mamíferos, pero la D₃ es más efectiva en especies aviares, primates del nuevo mundo (16, 44) y seres humanos (43), otros autores comentan que el Colecalciferol es más activo que el Ergocalciferol en un amplio rango de especies, por ejemplo ovejas, ganado vacuno y cerdos (29). En las aves, la vitamina D₂ es solo el 1-2 % de potente que la D₃, esta última se considera más estable (46).

Los rayos ultravioleta y la luz solar directa actúan sobre la piel y las secreciones sebáceas que contienen el 7-dehidrocolesterol, precursor de la vitamina D₃; esta vitamina es transformada en sus metabolitos activos que previenen el raquitismo y osteomalacia en los animales domésticos (13, 25, 34, 44, 47). La eficacia de la luz solar directa se ve afectada por la distancia, cuando es mayor la distancia que tienen que recorrer los rayos

de luz, menor es la intensidad de la radiación efectiva. Por lo tanto, la luz solar es más potente en los trópicos que en las zonas templadas o árticas, más potente en verano que en invierno, más fuerte al medio día que en la mañana o en la noche, y más potente en los lugares altos. Los rayos que se reflejan en el agua o en la nieve son más potentes que los rayos directos y por otro lado la presencia de nubes, humo o polvo anulan la efectividad de la luz (10, 44).

Los seres vivos se adaptan al medio que los rodea, en las regiones del norte la piel tiene menos pigmento, permitiendo la síntesis de vitamina D con poca cantidad de luz solar para prevenir el raquitismo, en cambio en las regiones ecuatoriales donde la piel tiene más melanina, esta protege de un exceso de síntesis de vitamina D en la piel (3, 13, 44). Los animales estabulados y los de piel gruesa (especialmente ovinos) reciben una irradiación escasa (10). La irradiación es más efectiva cuando lo hace sobre la piel expuesta que a través de una densa capa de pelo (10.44). Los animales de pelo negro obtienen menos vitamina D de la luz solar que los de pelo blanco, el pelo absorbe la mayor parte de los rayos ultravioleta antes de penetrar a la piel y tejidos (20).

En la actualidad la mayoría de los alimentos se enriquecen más por la adición directa de Colecalciferol (vitamina D₃) que por irradiación (2, 10, 12, 42, 44, 47, 54). Algunas fuentes ricas en Colecalciferol o sus precursores, son: el aceite de hígado de bacalao y de otros peces, así como ciertos aceites del cuerpo del pescado, el huevo (en especial la yema) y levadura de cerveza irradiada entre otros (18, 20, 21, 33, 34, 44, 46, 47, 59). La mantequilla, la carne, el tocino y las grasas de los depósitos orgánicos contienen solo trazas de esta vitamina (20); ni la leche de vaca ni la de humano

contienen una cantidad suficiente para proteger a los bebés contra el raquitismo (44). En la actualidad, es posible conseguir las vitaminas D₂ y D₃ sintetizadas como complementos alimenticios (42).

Las características fisicoquímicas del Colecalciferol (grado técnico) son: sólido cristalino color ámbar, prácticamente insoluble en agua, soluble en solventes orgánicos comunes como el éter, benceno, cloroformo, etanol y acetona, escasamente soluble en aceites vegetales, termoestable, ácido resistente, sensible a la luz, humedad y aire. La fórmula empírica es C₂₇H₄₄O, con un peso molecular de 384.62 y su nombre químico completo es 9, 10 Secocolesta-5, 7, 10 (19)-trien-3 beta-ol; 7-dehidrocolesterol activado (20, 33, 42, 43, 46, 47, 66). Una unidad internacional de vitamina D₃ equivale a 0.025 microgramos de vitamina D₃ (47, 54).

2.5 FUNCIONES DEL COLECALCIFEROL.

La vitamina D interviene en el metabolismo del Ca y P, aumentando su absorción intestinal, incrementando su movilización de los huesos al torrente circulatorio y disminuyendo la eliminación de Ca, permitiendo una mineralización normal del esqueleto (3, 13, 20, 21, 25, 27, 29, 34, 40, 41, 46, 47, 51, 58, 64, 70).

La nutrición adecuada de Ca y P depende de 3 factores: 1) como se acaba de mencionar la presencia de vitamina D interviene en su metabolismo, cuando llega a faltar, la asimilación de estos elementos es pobre, 2) el aporte suficiente de Ca y P en la dieta y 3) el equilibrio correcto entre ellos, ya que la cantidad excesiva, de cualquiera

de los dos, interfiere con la absorción del otro elemento (Ca:P= 1:1-2:1) (10, 18, 20, 23, 44, 48, 62).

Casi la totalidad del Ca y P se encuentra en el hueso (13, 18, 43, 70), aproximadamente el 99 % del Ca y el 80-85 % del P del cuerpo se encuentran presentes en los huesos y en los dientes, aunque se han considerado variaciones por la edad, estado de nutrición y la especie (18, 44, 62). Se ha demostrado que existe un continuo intercambio de Ca y P entre el hueso y la sangre, y entre diferentes partes del hueso mismo, siendo más activo en los huesos esponjosos. La movilización y el reemplazo de Ca y P en los dientes es muy pequeño, una vez que se han formado estos, prácticamente no son afectados por las necesidades metabólicas de estos minerales o su concentración en la ración (44).

El P restante está distribuido en todo el organismo y desempeña diferentes funciones importantes (en unión con otros elementos es el componente de muchos sistemas enzimáticos) (44, 47, 62).

El 1% del Ca está distribuido en los tejidos blandos del organismo y participa en funciones muy importantes como: la coagulación de la sangre, la contracción del músculo esquelético y la función del músculo cardíaco, la excitabilidad neuromuscular, la formación del cascarón del huevo, la permeabilidad celular, la activación de muchas enzimas y la secreción de varias hormonas y factores de liberación hormonal (10, 18, 23, 25, 28, 43, 44, 47, 62, 70).

Una cantidad adecuada de vitamina D promueve el desarrollo y el crecimiento fetal. El recién nacido proveniente de una madre que ha recibido dietas con suficiente

aporte de vitamina D o sus metabolitos es menos susceptible al raquitismo debido al almacenamiento fetal de la vitamina D, estas reservas aunado a la cantidad aportada por la leche satisfacen las necesidades de las 4-6 semanas de vida (10, 13, 18, 20, 44, 62). El feto tiene la habilidad única de privar al esqueleto materno de las reservas de Ca, si los alimentos son bajos en Ca (28). Los metabolitos de la vitamina D son requeridos por el embrión de pollo para la movilización ordenada de Ca del cascarón (16, 52).

Existen datos de la vitamina D favoreciendo la absorción de Be, Co, Fe, Mg, Sr, Zn y posiblemente de otros elementos en el aparato digestivo (13).

En investigaciones recientes, el metabolito $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ y otros análogos están siendo usados para el tratamiento de desordenes en la piel, como psoriasis y dermatitis por contacto. Algunos de estos análogos están siendo estudiados como posibles agentes anticáncer (16).

Los alimentos utilizados como fuentes ricas de Ca son: tierra caliza pulverizada (calcita), fosfato dicálcico, harina de hueso, harina de pescado, harina de carne y hueso, además de otros productos como melaza, trébol, alfalfa y otros forrajes que contienen una cantidad muy variable, que depende de la naturaleza del suelo donde se cultivan, del fertilizante utilizado y de las condiciones de humedad (las leguminosas se pueden considerar como una buena fuente de Ca) (10, 44).

El Ca en la mayoría de las especies oscila entre 9 y 12 mg/100 ml de plasma. En las aves ponedoras los niveles son de 3 a 4 veces mayores durante la producción de huevo (44, 62). Otros investigadores mencionan que los niveles de Ca oscilan entre 9-10 mg/dl (3, 27, 40, 70), la variación del valor puede deberse a la dieta, edad y método

analítico empleado. Los valores de Ca superiores a 12 mg/dl pueden ser considerados estar en el rango de hipercalcemia (40, 50). Los valores de P sanguíneo varían entre 35 a 45 mg/100 ml; desde el punto de vista nutricional es más importante el P inorgánico plasmático, su rango varía entre 4-9 mg/100 ml ó dl (27, 40, 44, 62). Los niveles de P en el plasma cambian más fácilmente debido a la dieta que los del Ca (44).

La enzima fosfatasa alcalina esta involucrada en la deposición y resorción ósea, el incremento en la actividad de esta enzima se piensa que es el resultado de un incremento compensatorio en la actividad osteoblástica trabecular como una respuesta al estres mecánico en huesos debilitados por una excesiva resorción (40).

En animales jovenes el Ca absorbido va en proporción directa al Ca que es aportado por la dieta. En el caso de los machos, independientemente de su consumo de alimento, absorben solo el Ca suficiente para restituir el Ca que eliminan por la orina y el intestino (10). En las hembras adultas aumenta la demanda de Ca durante la gestación y la lactancia (3, 18, 44). En periodos de deficiencia de Ca prolongados, disminuyen las reservas y aumenta la demanda de este elemento en ambos sexos (10).

2.6 DEFICIENCIA DE COLECALCIFEROL.

El ingreso de una cantidad elevada de caroteno en la dieta causa una deficiencia condicionada de vitamina D. La presencia de oxalatos y fitatos precipitan y disminuyen la absorción de Ca; los ácidos grasos pueden formar jabones con el Ca, los cuales son difíciles de asimilar (pero una pequeña cantidad de grasa puede favorecer la absorción

de este elemento). El Ca que forma parte del complejo silicato ferro-cálcico tampoco es disponible para el organismo (10, 44).

La fuente de proteínas afecta la necesidad de vitamina D₃ en los cerdos. La proteína de soya, contiene un nivel elevado de fitato, esto se asocia con una mayor necesidad de vitamina D, a diferencia de la proteína de la leche (13). El exceso de Mg disminuye la absorción de Ca, reemplaza el Ca óseo y aumenta su excreción (hipercalcemia), a su vez un exceso de Ca disminuye la absorción y utilización del zinc (paraqueratosis en cerdos) (18, 62).

De las principales enfermedades producidas por una deficiencia de vitamina D en diferentes especies animales (incluyendo al hombre) son: Raquitismo, hiperparatiroidismo nutricional secundario, osteoporosis, osteomalacia, artropatía degenerativa de los bovinos y fiebre de leche en bovinos; además causa disminución en la producción de huevo (los huevos producidos presentan cascarrón delgado y frágil), disminución en el porcentaje de nacimientos de los pollos, baja en la producción de leche, retraso en el crecimiento, fertilidad reducida, partos difíciles, etc. (3, 12, 13, 16, 18, 21, 23, 28, 34, 45, 47, 48, 51, 52, 58, 59, 62).

En estados de deficiencia, el tratamiento con vitamina D debe reducirse después de la desaparición de los signos y antes de que los niveles normales de Ca en plasma sean obtenidos o el hueso este curado por completo, ya que cuando el hueso sana, las necesidades de vitamina D disminuyen repentinamente y el Colecalciferol presente en el organismo, continua actuando aun después de cesar su administración (3).

Las aves tienen una necesidad de vitamina D mayor a otras especies, estas diferencias en las necesidades entre las especies puede relacionarse con la tasa de crecimiento, ya que los animales que crecen muy rápido, tienden a ser más susceptibles al raquitismo (10, 13). Las aves productoras de huevo tienen necesidades mayores de vitamina D, ya que al formar el cascarón del huevo pierden el 10% del Ca total corporal (20, 28).

2.7 MECANISMO DE ACCION.

Por lo antes mencionado, es importante conocer el mecanismo de acción del Colecalciferol (vitamina D₃): existen dos fuentes, la fuente de Colecalciferol endógeno, sintetizado en la piel por acción de los rayos ultravioleta sobre el 7-dehidrocolesterol (provitamina D) y el Colecalciferol proveniente de la dieta o exógeno, que es absorbido por transporte activo en el intestino delgado (16, 25), otros mencionan que por difusión facilitada (40). El Colecalciferol se une a la proteína globulina 2 α para ser transportada por vía linfática y posteriormente por la sangre hasta llegar al hígado, donde se inicia la primera reacción metabólica, el Colecalciferol es transformado a 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃), por la enzima hepática 25 hidroxilasa (que actúa en la fracción microsomal de los hepatocitos), el 25-OH-D₃ se une a las proteínas (globulina 2 α y albumina) y lipoproteínas, para ser transportado por el torrente circulatorio hacia el riñón, donde el 25-OH-D₃ es convertido por la acción de la enzima renal 1 α hidroxilasa (la cual se localiza en la membrana de la mitocondria, de los túbulos renales proximales, es una enzima muy específica) en el metabolito 1 α , 25-dihidroxicolecalciferol (1 α , 25-[OH]₂D₃)

(en la fig.1 y la fig.2 se puede observar el mecanismo de acción del Colecalciferol, adaptado de la información obtenida de la siguiente literatura: 3, 7, 10, 13, 16, 21, 25, 27, 29, 33, 34, 40, 41, 43, 44, 46, 47, 50, 51, 52, 54, 58, 60, 62, 70), este metabolito, es la forma activa u hormonal del Colecalciferol (vitamina D₃) (7, 10, 16, 25, 27, 33, 40, 43, 44, 47, 50, 51, 52, 58, 62). El Colecalciferol y el 25-OH-D₃ en concentraciones normales no tienen este efecto. DeLuca postuló que el 1 α , 25-(OH)₂D₃ es en realidad una hormona, según la definición clásica de hormona. El Colecalciferol tiene la estructura y el mecanismo de acción similar al de las hormonas esteroides, se requieren cantidades muy pequeñas (ng) de la forma activa para realizar su actividad biológica. Se considera como un mensajero químico producido en un órgano o glándula en respuesta a un estímulo fisiológico, que es transportado por la sangre a las células blanco, principalmente en intestino, hueso y el mismo riñón, en donde ejerce su acción reguladora. El metabolito activo se introduce en la célula blanco uniéndose a los receptores en el citosol, el complejo hormona-receptor es transportado al núcleo, donde se une a receptores nucleares específicos y facilita la transcripción del ARNm al ADN, incrementando la síntesis proteica en las células blanco, por ejemplo, la proteína fijadora de Ca a nivel intestinal (16, 21, 25, 33, 34, 40, 47). Difiere de otras hormonas solamente en que el precursor tiene que ser aportado por la dieta, si el animal es incapaz de convertir 7-dehidrocolesterol por vía endógena en Colecalciferol (47). Una variedad de tejidos no observados en la homeostasis mineral y esquelética, ha sido hallado que poseen receptores específicos para el 1 α , 25 (OH)₂ D₃ (54).

FIG. 1 METABOLISMO DE LA VITAMINA D₃ EN LOS ANIMALES

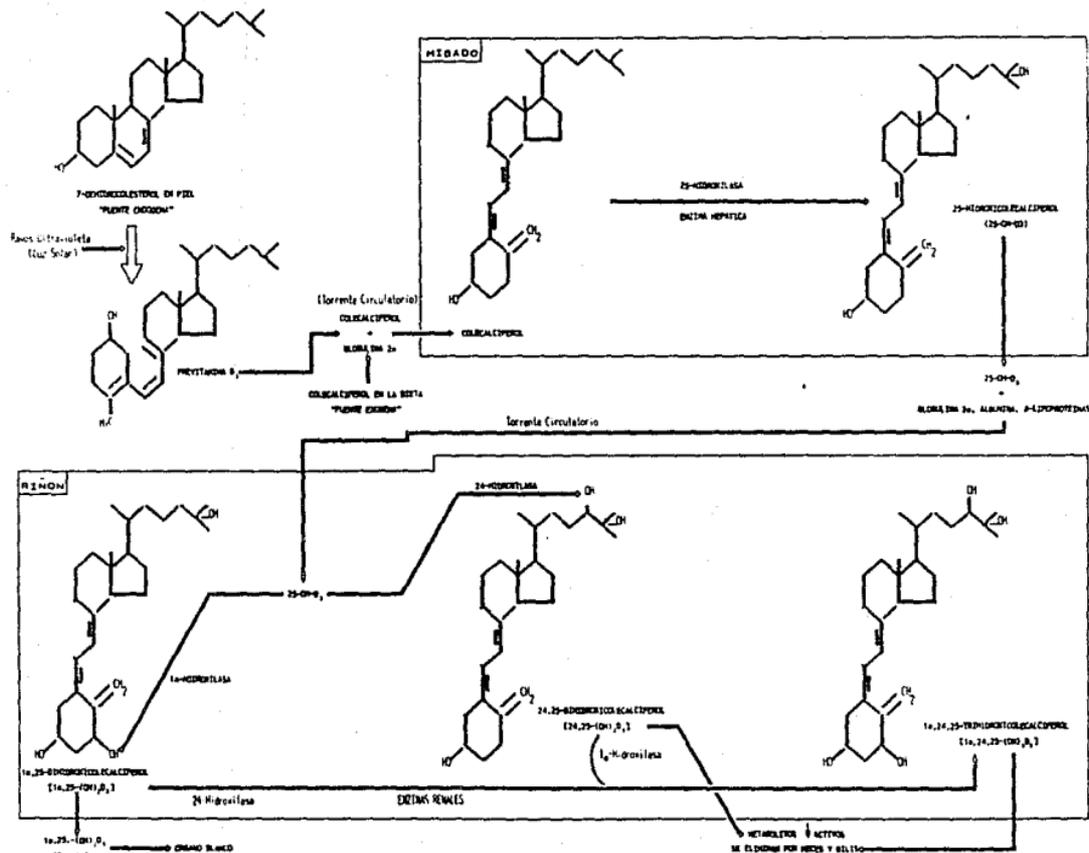
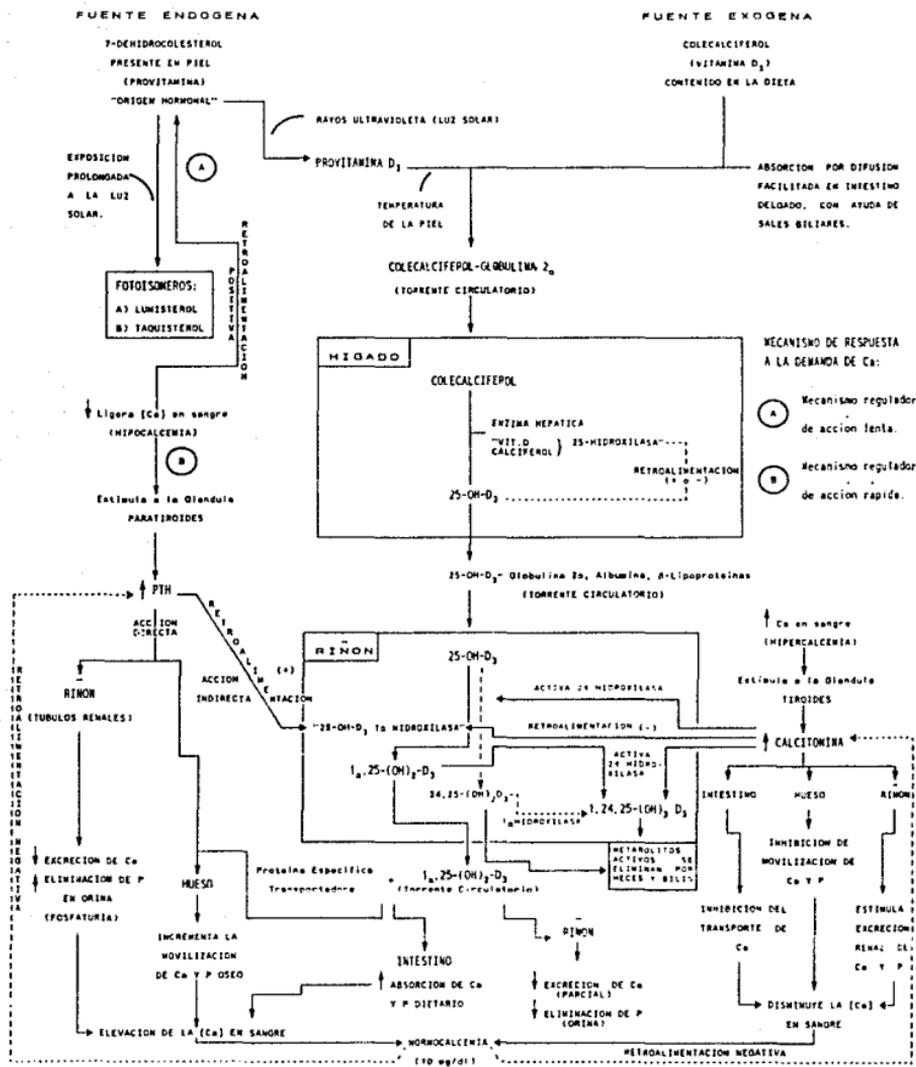


FIG.2 MECANISMO DE ACCION DEL COLECALCIFEROL (VITAMINA D₃) EN LOS MAMIFEROS



Existe un efecto directo sobre la proteína fijadora de Ca (CaBP) que disminuye o aumenta en relación directa con la cantidad de vitamina D, Ca y P en el organismo (40).

Holick y colaboradores sugirieron la existencia de un mecanismo de transporte a partir de una proteína ligada a la vitamina D₃ y formada en la piel de los animales por la fotosíntesis, por medio de la cual se lleva a cabo la síntesis, el almacenamiento y la liberación lenta y continua del Colecalciferol de la piel a la circulación sanguínea (13).

Cuando existe una exposición prolongada a luz solar la provitamina D₃, formada a partir del 7-dehidrocolesterol es convertida a lumisterol y taquisterol, estos fotoisómeros permanecen principalmente en la epidermis y son destruidos con los cambios naturales que sufren en la piel, además la presencia de estos fotoisómeros en el torrente circulatorio es insignificante debido a que la proteína ligada al Colecalciferol no tiene afinidad por el lumisterol, tiene una afinidad mínima por el taquisterol y una alta afinidad por la vitamina D (40).

La vitamina D es soluble en grasas, cuando se adiciona en la dieta diluida en aceite, se absorbe (igual que otros lípidos) junto con las grasas neutras y las sales biliares, es probable que se absorba principalmente en la parte distal del duodeno, ha sido hallada unida a los quilomicrones, siendo transportada rápidamente por estos dentro del sistema linfático de los mamíferos o la circulación portal de las aves y peces, y llevada al hígado (20, 27, 33, 54). En general el transporte de la vitamina D y sus metabolitos es por medio de una α -globulina, otro posible sistema de transporte son las beta-lipoproteínas y la albumina, pero son de menor importancia (13, 33, 40, 47, 58).

El Colecalciferol es captado rápidamente por el hígado (aproximadamente 60 minutos después de estar en la circulación) y 3 a 4 horas después puede ser detectada la mayor concentración de 25-OH-D₃ en sangre, en las aves el riñón e intestino juegan un papel importante en esta conversión (33). Como se puede observar en el cuadro 1, los metabolitos 25-OH-D₃ y el 1 α , 25-(OH)₂D₃ tienen una mayor actividad pero tienen una menor duración que el Colecalciferol (34, 40, 47, 54).

La administración parenteral de vitamina D, necesita de un periodo de 2-4 días para ejercer su efecto en la absorción de Ca y P (por acción de los metabolitos activos) (10).

Cuadro 1. Esteroles de la vitamina D y su relativa potencia biológica en mamíferos.

NOMBRE	SINONIMO	POTENCIA RELATIVA	DURACION (SEMANAS)
Vitamina D ₂	Ergocalciferol	1	6-18
Vitamina D ₃	Colecalciferol	1	6-18
25-OH-D ₃	Calcidiol	2-5	4-12
1 α , 25-(OH) ₂ D ₃	Calcitriol	5-10	0.2-0.8

Adaptado de National Research Council (54).

El 25-OH-D₃ no se acumula en el hígado, sino que se une a la proteína transportadora y cuando hay una demanda de Ca y P continúa su metabolismo, es llevado al riñón donde es transformado en el metabolito activo (funcionando como un mecanismo de reserva) (40). El 25-OH-D₃ es el metabolito de mayor circulación en condiciones normales y en casos de hipervitaminosis (16, 25, 30, 33, 34, 40, 47, 54).

Petrova y sus colaboradores, encontraron que el 25-OH-D₃ es almacenado en hígado, riñones, intestino delgado, hueso y músculo de ratas (56).

Cuando hay una alta concentración en sangre del 1 α , 25-(OH)₂D₃, este ejerce un fuerte efecto inhibiendo la actividad de la 1 α hidroxilasa renal, disminuyendo la transformación del 25-OH-D₃ a 1 α , 25-(OH)₂D₃ (33, 40), este paso limita el metabolismo de la vitamina D y es una de las razones principales de la postergación entre la administración de la vitamina y la expresión de los efectos biológicos (40, 47).

Cuando disminuye la actividad de la 1 α hidroxilasa, aumenta la actividad de la 24 hidroxilasa (33), esta enzima es parecida a la 1 α hidroxilasa, se localiza en la mitocondria renal, intestino y tejido cartilaginoso (33, 47). Se ha demostrado que el compuesto 24R posee actividad biológica en la transferencia del Ca intestinal, en la reducción de los niveles de fosfatasa alcalina en el suero, en la calcificación y movilización de Ca óseo; en cuanto al 24, 25 (OH)₂D₃, se cree participa en la formación de hueso (40, 47, 54). Recientes investigaciones demuestran que la interacción entre el 24, 25 (OH)₂D₃ y el 1 α , 25 (OH)₂D₃, es necesaria para la normal producción de huevo, fertilidad y nacimiento de gallinas (47). Cuando la PTH esta presente, aunque sea en bajas concentraciones, inhibe a la 24 hidroxilasa (33).

El 1 α ,24,25- (OH)₃D₃ tiene su origen a partir del 1 α , 25-(OH)₂D₃ y el 24, 25-(OH)₂D₃ (al sufrir una 1 α hidroxilación), este metabolito resultante tiene menor actividad que el primero y mayor actividad que el segundo, respectivamente (33).

En las aves existe un modelo metabólico diferente al de los mamíferos, los dos compuestos 24-hidroxi juegan un papel funcional, sin embargo, estos compuestos son

metabolizados y excretados rápidamente por las heces, al parecer la 24 hidroxilación causa pérdida de la actividad biológica y es una señal de eliminación. En los mamíferos la 24 hidroxilación reduce la actividad biológica en forma leve, se cree es el primer paso en la inactivación de la vitamina D, la 24 hidroxilasa actúa como una enzima reguladora (33). El 24, 25 (OH)₂D₃ y el 25, 26 (OH)₂D₃, es probable que sean formas inactivas que se excretan con mayor facilidad (44). Cuando existen altas concentraciones de Ca y 1- α , 25-(OH)₂D₃ en sangre, se observa un aumento en la actividad de la enzima 24 hidroxilasa (33, 47), al mismo tiempo la PTH disminuye (33).

DeLuca menciona que la 24-hidroxilación es estimulada probablemente en un esfuerzo del cuerpo para librarse de la alta concentración de la potente hormona esteroide y su precursor. Estudios adicionales sobre el metabolismo de la vitamina D, demuestran que todos los metabolitos del 1- α , 25-(OH)₂D₃ son menos activos biológicamente y estos representan una vía de eliminación o degradación (16).

En el control endocrino de la homeostasis del Ca, intervienen 3 hormonas: la hormona Paratiroidea, la Calcitonina y el 1- α , 25-(OH)₂D₃ (3, 40, 43, 47, 54, 62, 70), que lo mantienen en un 2-3% de su nivel normal (11). Una ligera disminución de la concentración de Ca sanguíneo es el estímulo para que las glándulas paratiroides aumenten la secreción de PTH, esta ejerce su acción biológica por efecto directo en la función de las células blanco, principalmente en hueso, al movilizar el Ca y P óseo, y en riñón al disminuir la excreción de Ca renal y promover la eliminación de P en la orina; ejerce un efecto indirecto en el intestino, al elevar la producción de 1- α , 25-(OH)₂D₃ (al incrementar la actividad de la enzima 1- α hidroxilasa), el cual a su vez incrementa la

absorción intestinal del Ca. La PTH y el $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$, aumentan la movilización de Ca del hueso al torrente sanguíneo. Una vez que los valores de Ca se normalizan se detiene la secreción de la PTH por retroalimentación negativa (13, 16, 21, 27, 34, 40, 43, 44, 47, 50, 54, 62, 70). Un estado de hipocalcemia puede ser corregido rápidamente por la secreción de la PTH (la cual actúa y permanece durante unos minutos) (3, 33, 40).

Una elevación en los niveles de P sanguíneo puede inducir indirectamente la estimulación de la paratiroides, en virtud de su capacidad de disminuir los niveles de Ca sanguíneo. El efecto de la PTH sobre el P para mantener la homeostasis del Ca es de gran importancia (40).

El $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ interviene en la regulación de la absorción y el metabolismo del P, especialmente su pérdida por riñón (10).

La vitamina D puede tener una acción directa en los túbulos proximales para promover la retención de P, previniendo la fosfaturia (3), por lo anterior se considera al $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ como una hormona que tiene dos señales, la baja concentración de Ca y P sanguíneo, y dos funciones, la movilización de Ca y P. La baja concentración de Ca sanguíneo estimula a la PTH, la PTH modula el efecto del $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$, permitiendo la movilización de Ca óseo y la absorción de Ca intestinal, además de la reabsorción de Ca renal, mientras que los efectos del $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en los niveles de P en suero son cancelados por la PTH, induciendo la pérdida de P en la orina, el resultado final de un estímulo de hipocalcemia es el incremento del Ca sérico, pero no de los niveles de P (16, 33).

Una señal de hipofosfatemia induce la producción de $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ sin inducción de la secreción de la PTH, sin la PTH, el Ca no es movilizado del hueso, no es reabsorbido totalmente a nivel renal, por otro lado, el P absorbido en intestino bajo influencia del $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, es totalmente reabsorbido en los riñones (no hay excreción de P en ausencia de PTH), el efecto final es un aumento de los niveles de P, pero no en los niveles de Ca sérico (33, 62).

El $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, también se ha demostrado participa en la diferenciación de las células no diferenciadas a células funcionales, como por ejemplo los promielocitos a monocitos (16).

Existen dos fenómenos regulatorios de la homeostasis del Ca, un mecanismo de acción rápida y un mecanismo de acción lenta, estos están involucrados en un aumento en la utilización del Ca intestinal. El sistema endocrino de la vitamina D requiere de horas, antes de responder a la estimulación de la PTH, además también requiere tiempo el $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ para poder actuar, este sistema no funciona lo suficientemente rápido para corregir las fluctuaciones en las concentraciones de Ca en sangre. La hipocalcemia puede ser corregida rápidamente por la secreción de PTH, mientras al mismo tiempo la reabsorción de Ca renal es estimulada por la presencia de $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ disponible. El $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ actúa como una hormona de acción lenta, estimula la absorción del Ca intestinal, el flujo de Ca exógeno (dietario) al interior del organismo (33). Las altas concentraciones de los metabolitos de la vitamina D hacen al hueso (33, 40) y riñón más sensibles a los efectos directos de la PTH (efecto permisivo). Durante este estímulo sostenido, el sistema del $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ asegura la disponibilidad de Ca dietario y al

mismo tiempo protege al esqueleto de una continua pérdida de Ca, si este mecanismo falla, la PTH ataca las reservas de Ca del esqueleto y cuando ésta acción se prolonga, la masa ósea disminuye, resultando osteopenia y finalmente osteoporosis (33).

Cuando los niveles de Ca están por encima de los valores sanguíneos normales, se estimula a la glándula tiroidea para iniciar la secreción de Calcitonina al torrente circulatorio aumentando su concentración, esta inhibe la movilización de Ca y P del hueso y aumenta la excreción renal de P y Ca. Así permite una máxima utilización del Ca proveniente de la dieta y su máxima deposición en hueso (13, 33, 47, 62). La Calcitonina responde rápidamente a elevaciones moderadas de Ca, actúa como una hormona de emergencia para prevenir el desarrollo de hipercalcemias fisiológicas, por ejemplo durante la absorción posprandial del Ca, también protege contra la excesiva pérdida de Ca y P del esqueleto materno durante la preñez (40). Las concentraciones de la Calcitonina y $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en plasma durante el crecimiento, la preñez y la lactación, son altas, se ha sugerido que la Calcitonina mantiene la integridad del esqueleto y dirige la acción del $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ al aparato digestivo para llenar las necesidades de Ca, evitando la acción de este metabolito sobre la resorción ósea (13). La Calcitonina ejerce su efecto en hueso, riñón y en menor grado en el intestino (efecto indirecto), al disminuir la actividad de la 1α -hidroxilasa renal. Una vez que los valores de Ca se normalizan, se detiene su secreción por retroalimentación negativa (3, 33, 40, 47).

Hay mecanismos que regulan la homeostasis del Ca bajo condiciones de alto consumo o pérdidas considerables (ver mecanismos de retroalimentación en el cuadro

2), como son: la retroalimentación positiva provocada por una hipovitaminosis D, por deficiencia de Ca en la dieta, bajas concentraciones de Ca y P inorgánico en plasma (hipocalcemia o hipofosfatemia), presencia de la parathormona (PTH), estrógenos (estradiol), prolactina, lactogeno placentario, somatotropina (STH), bajas concentraciones de 1α , $25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, etc. La retroalimentación negativa se desencadena por una hipervitaminosis D, exceso de Ca en la dieta, presencia de altas concentraciones de Ca o P en plasma (hipercalcemia o hiperfosfatemia), una elevación en la concentración de 1α , $25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, presencia de la hormona Calcitonina en el torrente circulatorio (10, 13, 16, 20, 27, 29, 30, 33, 40, 41, 43, 44, 47, 51, 54, 70).

Existen estados fisiológicos como la gestación, la lactación y la producción de huevo (aves), en que actúan otras hormonas en forma sinérgica con el Colecalciferol (47), se admite un posible sinérgismo en la acción de la vitamina D y las hormonas sexuales, desde el punto de vista fisiológico, por la similitud de su estructura (ciclopentanoperhidrofenantreno)(20).

Enfermedades hepáticas, renales o mala absorción intestinal, disminuyen como consecuencia la absorción o el metabolismo de la vitamina D₃, Ca y P, ya que el compuesto tal como es ingerido, no tiene actividad biológica (necesita de hígado y riñón para su activación) (3, 47).

Cuando se utilizan algunas drogas anticonvulsionantes como el fenobarbital o la difenilhidantoina se puede provocar una disminución en la respuesta de la vitamina D, al actuar en el tracto gastrointestinal y afectar la absorción de Ca (3).

CUADRO 2. ALGUNOS FACTORES QUE ACTIVAN EL MECANISMO DE RETROALIMENTACION POSITIVA Y NEGATIVA DEL COLECALCIFEROL EN LOS MAMIFEROS A NIVEL HEPATICO-RENAL

HIGADO	
POSITIVA	NEGATIVA
<ul style="list-style-type: none"> - ↓ VITAMINA D₃ - TERAPIA CON ESTEROIDES - MALA ABSORCION INTESTINAL 	<ul style="list-style-type: none"> - ↑ 25-OH-D₃ - FENOBARBITAL
RINON	
POSITIVA	NEGATIVA
<ul style="list-style-type: none"> ↑ 1_α-HIDROXILASA, ↓ 24-HIDROXILASA • - ↓ VITAMINA D (HIPOVITAMINOSIS) EN LA DIETA • - ↓ Ca EN LA DIETA • - ↓ Ca EN PLASMA (Hipocalcemia)..... • - ↓ Pi EN PLASMA..... ESTIMULO • - ↑ PTH (Glandula Paratiroides) ←..... • - ↑ ESTROGENOS (Estradiol) • - ↑ PROLACTINA • - ↑ LACTOGENO PLACENTARIO • - ↑ STH (Hormona del Crecimiento) • - ↓ 1,25(OH)₂ D₃ 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ 24-HIDROXILASA, ↓ 1_α-HIDROXILASA ° - ↑ VITAMINA D (HIPERVITAMINOSIS) ° - ↑ Ca EN LA DIETA ° - ↑ Ca EN PLASMA (Hipercalemia)..... ° - ↑ 1_α,25(OH)₂ D₃..... ESTIMULO ° - ↑ CALCITONINA (Glandula Tiroides) ←..... ° - ↑ Pi SERICO

• INCREMENTAN LA DEMANDA DE Ca. ESTIMULA LA FORMACION DE 1_α,25(OH)₂ D₃ A PARTIR DEL 25-OH D₃ POR SU EFECTO DIRECTO SOBRE LA ENZIMA RENAL 1_α-HIDROXILASA.

° DISMINUYEN LA DEMANDA DE Ca. INHIBEN LA FORMACION DE 1_α,25(OH)₂ D₃. LOS METABOLITOS PRODUCIDOS SON EL 24,25(OH)₂ D₃ Y EL 1_α,24,25-(OH)₃ D₃ POR ACCION DIRECTA SOBRE LA ENZIMA RENAL 24-HIDROXILASA. ESTOS METABOLITOS SON MENOS ACTIVOS Y SE ELIMINARAN MAS RAPIDO.

En muchas especies no aviares, cambios en las concentraciones de Ca de más del 10-15 % puede ser muy grave (43).

La vitamina D se almacena principalmente en la piel y en el hígado, pero también se encuentra en pulmones, riñones (3, 13, 20, 33, 34, 44, 54, 58, 62) y posiblemente otros tejidos como los depósitos de grasa y el músculo (58).

La vitamina D desaparece del plasma, con una vida media de 19-25 horas, pero se almacena en el cuerpo durante periodos prolongados (6 meses o más en la rata), aparentemente en los depósitos de grasa de todo el organismo (25).

La vitamina D y sus metabolitos tienen una excreción lenta (3), el 40% de una dosis administrada desaparece a los 10 días (25). Son excretados por las heces (3), se encuentran principalmente en la bilis (21, 33, 44); algunos investigadores han reportado la eliminación de la vitamina y sus metabolitos en leche y calostro de vacas lecheras normales (54). Por otro lado se menciona, que para que se afecte su concentración en la leche se requieren dosis masivas, ya que no es secretada fácilmente en esta (44), la cantidad excretada en orina es menor al 4% (20, 33).

La degradación de la PTH madura, es por medio de enzimas lisosomales en la glándula paratiroides, ocurre por una exposición prolongada de las células jefe o principales a un medio con altas concentraciones de Ca (40); a nivel renal participan en la degradación de la PTH proteasas específicas.

La excreción del Ca y el P por la orina y las heces varía en las diferentes especies, influyendo a veces los hábitos alimentarios y la edad. La vía fecal es la primera ruta para la excreción del Ca en todas las especies (7/8), además de la orina (1/8) (27,

44), un aumento leve en las concentraciones de Ca sanguíneo, incrementa su acción notablemente (27) algunas especies como los equinos y los leporídeos pueden excretar grandes cantidades de Ca en orina cuando reciben altas concentraciones de este mineral en los alimentos. Cuando hay un aumento en la movilización de Ca de los huesos (desmineralización ósea) el Ca excretado aumenta considerablemente, en especial por medio de la orina. En los herbívoros, la excreción de P se produce principalmente en las heces, en los carnívoros la orina constituye la vía más importante, mientras que en el humano la eliminación es casi igual por ambas vías (44).

2.8 HIPERVITAMINOSIS D₃.

Son variadas las causas de hipervitaminosis D₃, por ejemplo: envenenamiento químico, plantas calcinogénicas y por error en la suplementación dietaria. Cualquiera que sea la causa los signos y lesiones son similares (10, 20, 25, 33, 40, 41, 45, 50, 54, 55, 62, 68).

El primer reporte de toxicidad con vitamina D, fue en 1928 (30). Putscher observó la toxicidad con vitamina D en el año 1929. La toxicidad accidental ha sido reportada en varias especies animales incluyendo monos, perros, ganado, equinos, suinos y chinchillas. La toxicidad en humano ha sido conocida por más de 40 años. La utilización de Colecalciferol en medicina veterinaria ha atraído la atención, con relación a la administración masiva para prevenir la fiebre de leche en vacas lecheras (54).

Cuando se administran cantidades excesivas de Colecalciferol en un período corto de tiempo y falla la regulación hormonal para mantener los niveles de Ca, éste aumenta

en sangre rebasando los valores normales de referencia, produciéndose hipercalcemia y otros signos de intoxicación, lesiones que incluyen obstrucción del sistema circulatorio y calcinosis de diversos tejidos blandos.

La gravedad de la hipervitaminosis depende de varios factores, por ejemplo: el tipo de vitamina (D_2 o D_3), dosis, composición de la dieta (concentración de vitamina D, Ca y P), especie afectada, tiempo de exposición, vía de administración y edad (30, 47, 54). La hipercalcemia es observada como una característica de la intoxicación con vitamina D (no es un signo patognomónico), aunque la normocalcemia también ha sido reportada por otros autores; esta hipercalcemia ha sido atribuida a un incremento en la absorción de Ca intestinal y a su liberación a partir del esqueleto (30, 62). Posteriormente la concentración de Ca sanguíneo, puede disminuir rápidamente por una acumulación masiva de Ca en los tejidos (72)

No se ha observado algún beneficio en la alimentación de los animales con una sobredosis de vitamina D. Para muchas especies, se cree que los niveles de seguridad máximos de vitamina D_3 en condiciones de alimentación a largo plazo (mayores de 60 días), es de 4-10 veces el reconocido en las necesidades dietarias. En condiciones de alimentación a corto plazo (menores a 60 días), muchas especies pueden tolerar más de 100 veces su aparente necesidad dietaria (54), otro autor menciona que la dosis tóxica mortal puede ser 1000 veces superior a la dosis terapéutica; han aparecido manifestaciones hipervitaminosicas con el suministro de dosis 200 veces superiores a la normal (20). Recientes investigaciones indican que la vitamina D_3 es 10-20 veces más tóxica que la vitamina D_2 (54).

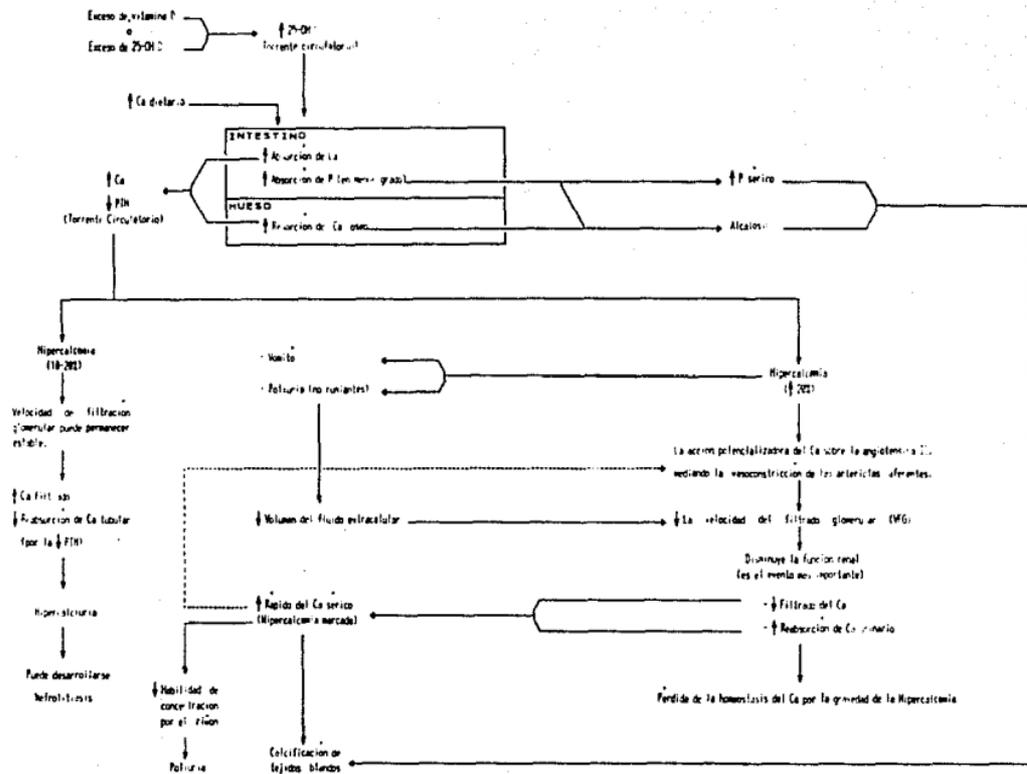
La acción de la hormona Calcitonina no depende de la vitamina D, actúa en animales con deficiencia de vitamina D o después de la administración de grandes dosis de esta vitamina, inhibiendo la acción de la PTH. Los osteoclastos presentes en el hueso tienen receptores para la Calcitonina, la cual puede bloquear la resorción ósea completamente en forma transitoria (inhibiendo la osteólisis osteoclástica) (40).

El 25-OH-D₃ está presente en concentraciones aproximadamente 10 veces los niveles sanguíneos de la vitamina D (7, 43). El 1 α , 25 (OH)₂D₃ se encuentra en bajas concentraciones en el torrente circulatorio (40). Así el 25-OH-D₃, al parecer es el factor crítico, en experimentos donde se administró el Colecalciferol a largo plazo (meses), la concentración de este metabolito fue un indicador sensible de la hipervitaminosis (54), así como en pacientes anéfricos (47). Cuando se encuentra en cantidades substanciales puede competir por los receptores del 1 α , 25-(OH)₂D₃ en hueso e intestino, actuando sobre el Ca en forma similar al metabolito activo (16, 40). En muchas especies la concentración en plasma del 1 α , 25-(OH)₂D disminuye durante la toxicosis (existe diferencia entre especies). En rumiantes la toxicidad con vitamina D puede responder a una elevación del 1 α , 25-(OH)₂D (50, 54), en cerdo y rata no hay efecto o se llega a deprimir la concentración de este metabolito (50).

2.9 SIGNOS DE INTOXICACION.

En el NRC (54), se explican detalladamente los eventos más importantes observados en el desarrollo de la hipervitaminosis D₃ (ver fig. 3). Algunos de los signos que pueden ser observados en las diferentes especies son: signos neurológicos como

FIG.3 DESARROLLO DE LA TOXICOSIS POR VITAMINA D₃ EN LOS ANIMALES



37

depresión, anorexia, emaciación crónica progresiva, caquexia, postración (3, 6, 10, 20, 23, 26, 30, 32, 33, 35, 40, 41, 43, 45, 47, 50, 54), debilidad muscular crónica generalizada, debido a la disminución de la excitabilidad neuromuscular (3, 17, 25, 26, 29, 30, 32, 33, 40, 47), después de aproximadamente 30 horas disminuye la actividad (26), hasta que el individuo queda inmóvil (10); la signología es más grave cuando se presenta vómito, diarrea (pudiendo ser sanguinolenta), constipación (3, 6, 17, 20, 26, 32, 33), es frecuente la deshidratación con poliuria y polidipsia compensatoria (3, 10, 17, 29, 32, 35, 40), lo cual manifiesta el daño renal. La orina de animales intoxicados con Colecalciferol presenta una reacción positiva a Ca y una disminución en el pH urinario (acidez), esto puede estar relacionado a un incremento en el catabolismo de las proteínas tisulares debido a la disminución en el consumo de alimento, también hay una disminución en la gravedad específica (secundaria a la hipercalcemia). En casos crónicos cuando más del 75% de las nefronas son no funcionales se puede hallar un aumento de los niveles nitrógeno ureico sérico (NUS) (29). Canideos tratados con warfarina, y calciferol, también eliminan grandes cantidades de Ca en la orina (41). Cuando se involucran problemas en hueso se presenta rigidez en los miembros, lo cual se observa como marcha rígida y dependiendo del grado de intoxicación se pueden ver diferentes daños como fragilidad ósea, fracturas múltiples (10, 29, 32, 33, 43, 50, 54, 68), a veces se puede observar cojera, arqueamiento de la espalda (10, 13, 35, 54), por lo cual el individuo puede mostrar dolor al caminar y a la palpación de los miembros, principalmente articulaciones, tendones flexores y ligamentos suspensorios (40, 50). Se observa disnea (10, 30, 40) a causa de una insuficiencia circulatoria grave por

anormalidades cardíacas y fibrilación ventricular en casos severos (41, 54), esto se aprecia mejor después de hacer ejercicio (10) y muchas veces culmina con la muerte de los animales que no han sido tratados a tiempo (6, 7, 10, 12, 26, 35, 39, 41, 42, 45, 47, 54). Otras manifestaciones reportadas menos frecuentemente son : infertilidad (50), pelo o piel áspera (30), reducción de la ruminación (54), temblores musculares (32, 41), coma (25, 26, 32, 41), astenia (20), aprehensión, estupor (32, 41), exicosis (55).

En estados tempranos de intoxicación los efectos pueden ser reversibles (47). Las pruebas que se recomiendan para el diagnóstico de una sobredosis de Colecalciferol son: 1) la determinación de Ca y P inorgánico en sangre, pudiendo complementarse con creatinina, albumina y globulina sérica. 2) La determinación de Ca y P en orina (13, 29, 34, 41, 55).

2.10 LESIONES.

Las lesiones macroscópicas y microscópicas encontradas por intoxicación con Colecalciferol son más graves que las causadas por el Ergocalciferol (43). Se han observado en las diferentes especies animales, que han sucumbido por enfermedades hipercalcémicas, intoxicación con vitamina D o plantas calcinogénicas las siguientes lesiones características:

Algunos autores sugieren que la calcificación de tejidos es consecuencia directa de la hipercalcemia y por lo tanto metastásica, mientras que otros autores creen que la calcificación es secundaria a el efecto tóxico de la vitamina D en tejidos y por lo tanto distrófica. Haschek y colaboradores esquematizan los cambios observados

principalmente en una intoxicación crónica (fig.4), ellos mencionan que la primer lesión observada en los tejidos blandos es la degeneración (inflamación), por lo tanto la calcificación es distrofica (30). Shimada menciona la secuencia de eventos que incluye inflamación, degeneración celular y finalmente calcificación de los tejidos en cuestión (62).

CORAZON : La toxicosis aguda provoca mineralización del tejido cardiovascular (10, 17, 20, 29, 35, 39, 40, 41, 42, 50, 54, 60, 64, 68, 72). Se han observado depósitos de Ca en endocardio (29, 50, 72), válvula atrio ventricular izquierda, válvula aórtica y válvula pulmonar semilunar (29), depósitos de Ca en pericardio (72). En casos severos placas de Ca en atrio derecho e izquierdo y algunas veces el ventrículo (41).

En hipervitaminosis D un incremento substancial del Ca sanguíneo y su concentración en el músculo cardíaco es la causa de necrosis miocítica, además de la calcificación de los vasos coronarios que juegan un papel importante en la patogenia, aumentando la cardionecrosis, por lo que la vitamina D es considerada como una sustancia cardiotóxica. Wrzolkowa y Zydowo no encontraron diferencia en el daño muscular cardíaco de ratas tratadas con Ergocalciferol y ratas tratadas con Colecalciferol (72). En ratas tratadas con altas dosis de Colecalciferol se han observado focos cardionecróticos múltiples y pequeños, histológicamente se han observado como necrosis coagulativa y miocitolísis difusa, estas son formas morfológicamente características de varios estadios de infarto que han sido localizados en endocardio y subepicardio; no se han encontrado infiltraciones celulares (72, 73).

Wrzotek observó en ratas los daños en miocardio como: áreas de necrosis multifocal producidas por altas dosis de vitamina D, asociados con un dramático incremento del contenido de Ca en tejido cardiaco (73).

VASOS CORONARIOS Y/O ARTERIA AORTA : Se han observado depósitos de Ca en la arteria aorta y arterias coronarias (10, 13, 29, 41, 50, 54, 72). Depósitos de Ca en la porción craneal torácica de la arteria aorta (29, 41, 50), depósitos de Ca en válvula aórtica, arco aórtico y gran bifurcación arterial (54).

En general se ha observado calcificación metastásica de los vasos sanguíneos (10, 20, 26, 33, 42, 44, 45, 60, 62, 64), alrededor de donde se abren los pequeños vasos (54), cerrando capilares (72), en arterias y venas pulmonares (29, 41, 50), depósitos de Ca en el lumen del tronco braquiocéfalico común (29), y en casos severos en arterias mesentéricas (41).

RIÑÓN : Se han observado depósitos de Ca en riñón (6, 10, 13, 17, 20, 29, 30, 33, 35, 39, 40, 41, 42, 45, 47, 50, 54, 60, 62, 64), se ha encontrado que los túbulos colectores de la médula son dañados (mineralización) más frecuentemente que los de la corteza (54), en otros casos se ha encontrado nefrosclerosis con focos de calcificación en el intersticio de la zona medular, mineralización de las células epiteliales y membranas basales tubulares incluyendo las paredes de los capilares glomerulares y las paredes de los vasos sanguíneos del plexo coroideo (26, 50). Se pueden presentar cálculos renales (44, 45).

PULMON : Se han observado depósitos de Ca en pulmón (13, 33, 35, 39, 40, 41, 42, 45, 47, 50, 60, 62, 64, 68), se ha observado frecuentemente mineralización en el interior del

tracto respiratorio. calcificación de la membrana basal de los pequeños bronquios, ductos alveolares y cartilago bronquial (26, 50, 54), también se han observado depósitos de Ca en las paredes de las arteriolas, arterias y venas pulmonares (29, 41, 50, 54), principalmente en lóbulos diafragmáticos (41, 68).

DIAFRAGMA : Se han observado algunos depósitos de Ca en la superficie peritoneal (29).

MUSCULOS INTERCOSTALES. Depósitos de Ca en los músculos intercostales anteriores han sido observados en casos severos (41).

GLANDULAS SALIVALES : Después del daño renal, la lesión más temprana y frecuente que ha sido hallada es la calcificación de las glándulas salivales (54).

GLANDULA PARATIROIDES : Se ha encontrado atrofia de la glándula paratiroides, provocado por una disminución en la producción y secreción de hormona paratiroidea (29, 40, 50). En cerdos se han observado cambios degenerativos al 1º día de tratamiento, al 4º día se ha desarrollado necrosis, inflamación, atrofia y se ha presentado fibrosis extensiva. Los cambios iniciales han sido considerados efecto directo de la toxicosis con Colecalciferol (30).

GLANDULA TIROIDES : Se ha desarrollado la hiperplasia de células parafoliculares, por aumento de la producción y secreción de Calcitonina (40, 50). Es un efecto secundario a la hipercalcemia (30).

ESTOMAGO : Se ha observado la presencia de depósitos de Ca en el estomago (33, 42, 45). Se han presentado depósitos de Ca en las capas mucosa y muscular (26, 54),

así como en arterias estomacales (54), en otros casos se ha observado a la necropsia e histológicamente hemorragias severas en la mucosa (26).

INTESTINO : Depósitos de Ca en intestino (20, 64), en algunos casos hemorragias severas en la mucosa y necrosis multifocal de las células de las criptas del intestino delgado (26).

HIGADO : Se han presentado calcificaciones aberrantes (20).

CEREBRO : Se ha observado la presencia de pequeñas calcificaciones (41).

HUESO : Los cambios esqueléticos varían de acuerdo a la dosis y al periodo de administración. Se ha encontrado atrofia o destrucción de osteocitos y osteoblastos, por disminución en la deposición de Ca y P óseo, aumentando su concentración en sangre por acción del $1 \alpha, 25\text{-(OH)}_2 \text{D}_3$, se ha observado como resultado osteopenia por una disminución en la formación del hueso, debido a la desintegración de la matriz ósea (osteocitos y osteoblastos), osteonecrosis extensiva con subsecuente osteoclasia, que a su vez conduce a un incremento en la osteopenia (20, 30, 44, 50). Se ha presentado un efecto sobre condrocitos, provocando retraso o detención en la maduración del cartilago, aumentando la osteopenia. La osteolisis osteocítica, ha sido hallada como el principal mecanismo de resorción ósea y la osteoclasia, como una respuesta más especializada para el hueso ya alterado (30).

Otros investigadores han realizado estudios histopatológicos del hueso, en algunos casos no se han encontrado cambios, en otros se ha observado desmineralización ósea debido a un aumento en la resorción osteoclástica (30, 47), presentandose osteomalacia (30, 42, 44, 45), también se ha observado un incremento

en la formación de hueso u osteopetrosis (hueso denso), el tejido óseo esponjoso ha sido el más afectado con constricción de la cavidad medular, este daño ha sido observado frecuentemente en intoxicaciones crónicas. Histológicamente este tejido óseo se ha caracterizado por formación activa de hueso denso con abundantes osteoblastos y escasos osteoclastos, el efecto neto ha sido osteoesclerosis evidente por la mineralización densa del tejido esponjoso subcuticular (30, 44, 50).

PIEL : Presencia de depósitos de calcio metastásicos (17).

TRAQUEA : Presencia de depósitos metastásicos calcáreos (33).

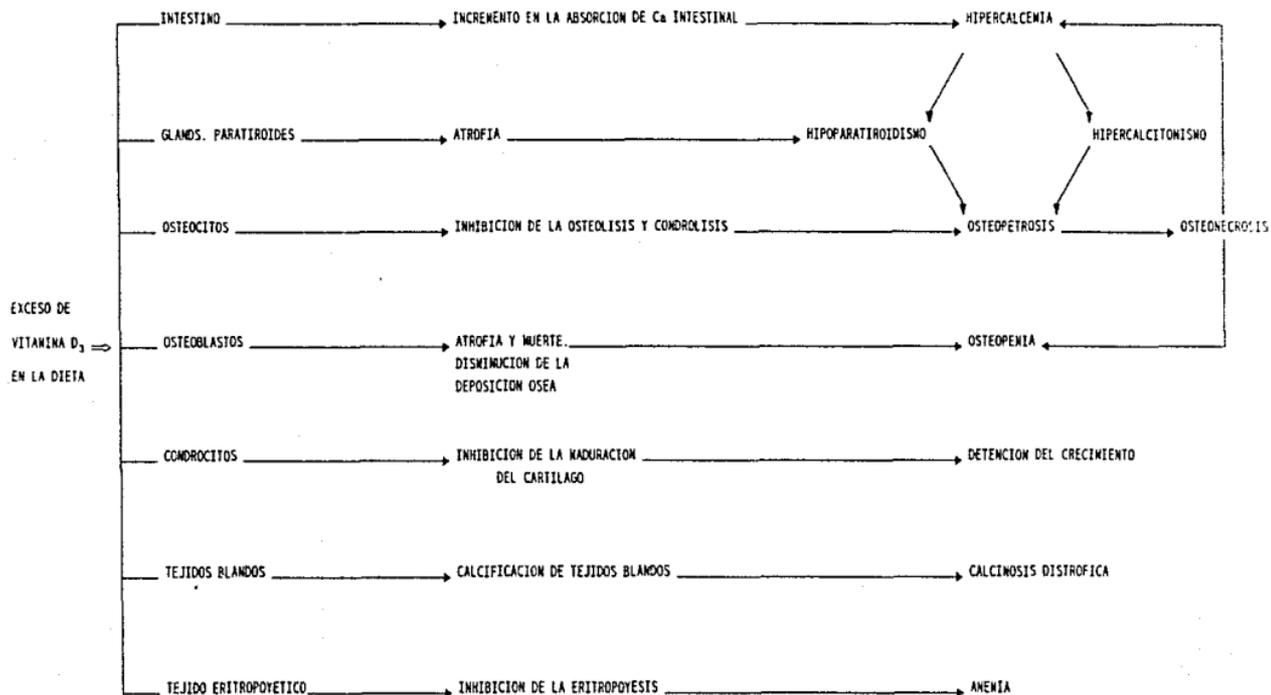
OJO : Se han observado depósitos de calcio en córnea y conjuntiva, menos común ocurre estrabismo, pliegues en los epicantos, papiledema, reacción papilar lenta, iritis y cataratas (17).

BAZO : En casos severos, las trabéculas esplénicas han mostrado cambios histopatológicos y calcinosis (50).

OVARIO : En casos severos, se han observado cambios histopatológicos y calcinosis (50).

Este es el efecto provocado en los roedores (ratas y ratones) que han consumido dosis excesivas de Colecalciferol, utilizándose así como un rodenticida (42, 43).

FIG.4 LESIONES PRODUCIDAS EN LA TOXICOSIS POR VITAMINA D₃
EN LOS ANIMALES



2.11 LAS CARACTERISTICAS DEL COLECALCIFEROL (VITAMINA D₃) COMO RODENTICIDA SON:

La vitamina D se encuentra en cantidades mínimas en la naturaleza, por lo que no se ha presentado en forma natural la exposición a concentraciones altamente tóxicas. Como resultado no se ha desarrollado en los mamíferos ningún método de selección de dieta eficaz para prevenir la sobredosis de vitamina D, ni los roedores han desarrollado una tolerancia fisiológica a dosis masivas de vitamina D (42).

Es efectivo contra las 3 especies de roedores comensales: Rattus rattus, Rattus norvegicus y Mus musculus. La dosis letal del Colecalciferol (a una concentración de 0.075% en el cebo) para rata y ratón (7, 11, 42, 43) es de:

Ratón doméstico (Mus musculus cepa ICR) = 42.5 mg/Kg

Rata noruega (Rattus norvegicus cepa Sprague Dawley) = 43.6 mg/Kg

No existe mucha diferencia entre la DL₅₀ de la rata y el ratón, por lo que los cebos no son sobreformulados para la rata noruega, como con la mayoría de los anticoagulantes. Se recomienda para el control del ratón doméstico, que de por sí es difícil de controlar (42), se sugiere puede ser de utilidad para el control de ciertas plagas de roedores en la agricultura (9, 42).

Un animal puede consumir la dosis letal (DL) en un día, pero es común que la consuman en varios días, dosis única o dosis múltiple (1-3 días) respectivamente (7, 42, 43, 60, 66). La DL no difiere mucho si es consumida en 1 ó 3 días (7). Después de consumir la DL, hay un periodo en que los roedores dejan de consumir el cebo tóxico antes de morir (anorexia), (7, 66). Algunos de estos roedores aparentemente

experimentan un leve cambio de salud antes de alcanzar una dosis letal y pueden reducir o interrumpir su alimentación y posteriormente seleccionar fuentes alternativas de alimento, por lo que es conveniente que haya un buen consumo de cebo dentro de las primeras 48 horas de exposición para establecer un control máximo (42). Otros autores mencionan que no se presentan signos de intoxicación antes de consumir la dosis letal, por lo que no relacionan la muerte de otras ratas con el consumo del cebo envenenado (7, 42, 66). Se considera un cebo de acción lenta pero no al grado de los anticoagulantes (15), las reacciones generalmente se presentan en los roedores afectados de 36-60 horas y algunas veces antes, después de la primera ingesta importante, interrumpiéndose casi siempre el consumo de alimento (42).

No se manifiesta rechazo o aversión al cebo en pruebas de campo (11, 42, 43); para observar si hay recelo al cebo en animales sobrevivientes a dichas pruebas, se han capturado roedores, los cuales han consumido la dosis letal en laboratorio, muriendo días después (42).

Las muertes comienzan a presentarse al tercer día de la primera ingestión sustancial (42, 43), el tiempo promedio de muerte es de 4-5 días, en ocasiones la muerte puede retrasarse hasta 14 días; el ciclo dura de 2 a 4 días (42).

La muerte es por insuficiencia cardíaca (42). El Colecalciferol en dosis tóxicas moviliza las reservas de Ca de los huesos al torrente sanguíneo (42, 66), produce hipercalcemia, osteomalacia, calcificación metastásica de los vasos sanguíneos, calcificación de tejidos del sistema cardiovascular, riñones, estómago y pulmones,

presentandose una muerte relativamente rápida. Hay un desequilibrio del Ca afectándose órganos vitales y causando la muerte (67).

Por su mecanismo de acción diferente (7, 42, 60), se puede rotar con otros venenos agudos y crónicos para evitar inducir resistencia en las ratas y ratones (15, 42, 69). Se puede utilizar en lugares donde las ratas y ratones hallan desarrollado resistencia a anticoagulantes (7, 11, 42, 43, 66).

En Europa se ha utilizado el Calciferol como rodenticida por más de 10 años y no se han presentado informes de desarrollo de resistencia genética de los roedores al Calciferol y no hay nada que indique alguna diferencia con el Colecalciferol (42).

El uso de Colecalciferol para controlar cualquier superviviente de una población particular puede realizarse de 2 a 4 semanas después de la última exposición, en cambio con otros venenos agudos como Fosforo de Zinc, ANTU, Estricnina, etc., la presentación de rechazo al cebo provoca la búsqueda de nuevas alternativas de control (42), varios de estos productos tienen uso restringido o no están autorizados.

El riesgo de intoxicación secundaria se reduce, ya que los animales blanco al sufrir anorexia no consumen sobredosis del cebo envenenado (7), el contenido de Colecalciferol en los restos del roedor es baja (42), además de que los roedores mueren a dosis más bajas a comparación con otros animales, por su tamaño pequeño (43). Perros alimentados durante 14 días con restos de ratas muertas como único alimento, no presentaron signos de intoxicación (42, 43), bajo riesgo en especies aviares y caninas (43).

Una de sus desventajas es que no es específico para la especie blanco por lo que un mal manejo del cebo envenenado puede ocasionar intoxicaciones accidentales con consecuencias graves (42).

2.12 TRATAMIENTO EN CASO DE INTOXICACION ACCIDENTAL CON COLECALCIFEROL.

No existe un antídoto específico, de aquí la importancia de proporcionar toda la información necesaria para poder prevenir las intoxicaciones accidentales en las especies no blanco (35, 39, 45), en los casos que se ha presentado hipervitaminosis D por envenenamiento químico, plantas calcinogénicas y por error en la suplementación dietaria entre otros, el tratamiento sintomático recomendado incluye lo siguiente:

Cuando el cebo con Colecalciferol ha sido recientemente consumido (en un período menor de 3 horas) hay que inducir el vómito, evitando el uso de cualquier aceite (6, 26).

El tratamiento ha sido dirigido principalmente al manejo de la hipercalcemia. No siempre es exitoso debido a la vida media prolongada de la vitamina D y sus metabolitos en plasma, por lo que se recomienda monitorear los niveles de Ca sanguíneo a las 24 horas después de la ingestión del cebo (para dar tiempo a que este sea metabolizado), los niveles de Ca deberán elevarse en un plazo de 24 a 48 horas (6). Es necesaria la determinación de los niveles de Ca a las 24 horas, 48 horas y 2 semanas después de cesar el tratamiento (6, 26).

Es necesario disminuir y si es posible eliminar en la dieta las fuentes de vitamina D, Ca y P (3, 6, 29, 45, 47, 54, 55), de preferencia proporcionar una dieta blanda a base de cereales (6).

Evitar la exposición a los rayos solares (6, 41, 45, 55).

La deshidratación perjudica la excreción del Ca, al aumentar el consumo de agua, se disminuye la concentración de Ca y P sérico, y se incrementa su eliminación por la orina (29, 32, 45). Se recomienda la administración de fluidos y electrólitos que no contengan Ca (6, 26, 45), por vía oral o IV; se puede utilizar la sol. salina (6, 41) con un diurético adecuado (6). La vía endovenosa se recomienda en animales debilitados, postrados incapaces de beber agua por sí solos (29, 41), pueden utilizarse con precaución las sol. de fosfato y de bicarbonato de sodio (provoca una alcalosis que disminuye la concentración de Ca ionizado y por lo tanto reduce en forma temporal sus efectos tóxicos)(32, 41), Lactato de Ringer o Cloruro de Sodio al 0.9% (ya que promueve la movilización de Ca hacia los tejidos aumentando la calcidiuresis por efecto directo del Na en el riñón) (32).

El fitato de sodio, es un agente que reduce la absorción intestinal del Ca, ha sido utilizado exitosamente en el manejo de la toxicidad de la vitamina D en monogástricos, en rumiantes debido a la presencia de fitasas microbiales en el rumen, el beneficio es menor (54).

Los agentes antagonistas del Ca como los iones de Mg y el Verapamil, son reportados como preventivos de sobrecargas del músculo liso vascular, inducido por la vitamina D (72), se ha reportado la administración de sodio y sulfato de magnesio (45).

La Calcitonina es benéfica en casos de intoxicación (32, 41, 47, 54), tiene valor especial en pacientes con falla cardíaca y renal, puede usarse junto con otros medicamentos, ya que por sí sola implica un costo elevado por lo prolongado de los efectos biológicos de la vitamina D (41). La Calcitonina de salmón (a dosis de 4-6 ui/Kg) es administrada en una inyección subcutánea cada 2-3 horas hasta que la concentración de Ca sérico baja y se estabiliza en sangre (6, 26).

Pueden ser administrados glucocorticoides, los cuales antagonizan la acción de la vitamina D corrigiendo la hipercalcemia (3, 41, 47, 54), pero solo son efectivos en algunos casos (32), actúan disminuyendo la resorción de Ca óseo y la absorción de Ca intestinal, aumentando su excreción renal.

La cortisona reduce la hipercalcemia (29, 45), se han administrado dosis diarias en perros de 0.5-1.4 mg/Kg (1-3 mg/lb.) (6, 26). La cortisona en humanos a una dosis de 100-150 mg diarios. Un caballo tratado con medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, se recuperó después del tratamiento (29).

La administración de diuréticos junto con fluidos y electrolitos mejora la respuesta del paciente; se ha utilizado furosemida (Lasix) (6, 26, 32), a una dosis de 2.5 mg/Kg de peso corporal, intramuscular, además de dexametasona, a una dosis de 1 mg/Kg endovenoso. La furosamida se recomienda durante 2 semanas (26), otros diuréticos como las diazidas pueden ocasionar retención de Ca (6), al igual que los tiazídicos, por lo que están contraindicados para el tratamiento de hipercalcemia (32). El Rheomacrodex (contiene 10% de dextrano), se ha utilizado en casos de anuria (55). El tratamiento con

cortisona y diuréticos (Lasix/Cortisona) debe continuar hasta que se haya depurado todo el Colecalciferol (6), apoyandose en monitoreos de Ca sanguíneo.

Se ha reportado la administración de glucagon (54) y anabólicos (55). La actividad de la vitamina D puede reducirse con anticonvulsionantes (3). Se recomienda evitar los digitales, ya que estos pueden aumentar la eficacia del Ca en el corazón, agravando la intoxicación (55, 63).

Durante el período de recuperación evitar el ejercicio continuo, aún después de varias semanas de la desaparición de la insuficiencia cardiaca (murmillos y taquicardia) (29).

En casos extremos, se ha utilizado en forma experimental, como última alternativa mitracin (plicamycin). En perros, se han administrado dosis de 0.025-0.05 mg/kg por día. Una dosis debe reducir los niveles de Ca en suero durante 2-4 días, si es necesario hay que repetir la dosis (6), en humanos se ha llegado a utilizar algunas veces (32).

En pacientes urémicos se recomienda como método alternativo una diálisis peritoneal con una solución electrolítica libre de Ca a la que deberá agregarse glucosa al 4% (6, 32)

III. HIPOTESIS.

Las ratas cepas Wistar y los ratones cepa CD1 que consuman una dosis letal de Colecalciferol, contenida en la mezcla de alimento del grupo tratado, presentarán un período de consumo corto, anorexia, lesiones por calcinosis y muerte por desequilibrio en los niveles de Ca sanguíneo.

IV. OBJETIVO.

Evaluar la eficacia como rodenticida del Colecalciferol en pruebas de laboratorio con ratas cepa Wistar y ratones cepa CD1, realizando pruebas de Ca sanguíneo y revisando los cambios patológicos en el grupo tratado.

V. MATERIAL Y MÉTODOS.

El experimento se llevó a cabo en el bioterio de la Facultad de Química y los exámenes de laboratorio, fueron realizados en el Departamento de Patología, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se utilizaron 32 ratas cepa Wistar y 32 ratones cepa CD1, los ratones tenían un peso inicial de 25 a 30 g y las ratas un peso de 200 a 250 g. La primera prueba se corrió con 16 ratas, se llevó a cabo una repetición del experimento con el mismo número de animales y en las mismas condiciones con el fin de dar más validez y seguridad a los resultados obtenidos; de la misma manera, posteriormente se realizó el experimento con los ratones. En cada prueba se dividieron los animales aleatoriamente en 2 grupos, cada

grupo contó con el 50% de machos y 50% de hembras, el grupo control consto de 6 animales y el grupo tratado de 10 animales. Los animales fueron puestos en jaulas individuales en donde se mantuvieron en observación y al mismo tiempo en período de adaptación durante una semana, en forma rutinaria fueron pesados los animales cada 24 horas, se les administraron 50 g de alimento a las ratas y 20 g de alimento a los ratones, midiendo el consumo diario. En el período de adaptación se les dio a todos los animales una mezcla de alimento que tenía la siguiente composición: 65.0% de hojuelas de avena (vehículo), 20.0% de harina de maíz (vehículo), 10.0% de azúcar comercial en polvo (atrayente) y 5.0% de aceite de maíz (aglutinante), todo esto bien mezclado, con el fin de evitar que los animales rechazaran el alimento (al detectar olor y sabor extraño). El alimento fue proporcionado en comederos de piso y el agua se dio en bebederos ad libitum. En el periodo de tratamiento, ésta mezcla de alimento se siguió dando al grupo control y se inició la dosificación del alimento con el tóxico al grupo tratado, preparándose otra mezcla de alimento conteniendo los mismos ingredientes, además de incluir el 1.0% de Colecalciferol, mismo que fue reducido de la cantidad utilizada de aceite de maíz (quedando un 4.0%), los otros ingredientes no se vieron afectados en su porcentaje de inclusión.

El Colecalciferol en su forma cristalina es totalmente tóxico, pero inestable; debido a esto se utilizó un material resinoso con una potencia 28' 000, 000 UI/g. El cebo final tuvo una concentración de 0.075% (750 ppm) (43).

Durante los 14 días de tratamiento se observó el peso de los animales, el consumo diario de alimento, la signología, el día de muerte y posteriormente, se realizó

un estudio post-mortem, revisando los siguientes órganos y tejidos: corazón, pulmón, hígado, riñón, intestino delgado, diafragma, hueso (unión costochondral) y arteria aorta y/o arterias coronarias. Estos órganos y tejidos fueron previamente elegidos por ser los más afectados y/o estar involucrados en el mecanismo de acción del Colecalciferol.

En el grupo tratado, se realizaron las necropsias al morir los animales; en el grupo control, los animales fueron sacrificados un día después de terminar el periodo de tratamiento, realizando posteriormente la necropsia (observando los mismos órganos y tejidos). Se tomaron muestras de los órganos del 25% de los animales, los cuales fueron fijados en formalina amortiguada al 10%, para ser procesadas por el método habitual de inclusión en parafina. Posteriormente se efectuaron cortes de 4 micras que fueron teñidos con la técnica de HE (36, 50, 73) y la tinción especial Von Kossa (36, 50, 72, 73). Con los datos observados macroscópicamente y microscópicamente de los animales tratados, se elaboró un cuadro descriptivo, en donde se citaron las lesiones constantes en los tejidos afectados. Por otro lado, se tomaron muestras de sangre del 25% de los animales, para realizarles la prueba de Ca utilizando la técnica de Test-combinación Ca (laboratorio Lakeside), antes y durante el tratamiento.

Para evaluar el trabajo, se hizo un estudio estadístico, llevándose a cabo análisis de varianza (67).

VI. RESULTADOS.

La información obtenida de las ratas cepa Wistar y los ratones cepa CD1, de los grupos controles y tratados con Colecalciferol, es la siguiente:

1) SIGNOLOGIA.

Se observó la signología en forma colateral, la cual fue característica (subjetiva de apreciación), misma que se describe a continuación: debilidad, lentitud, anorexia días antes de la muerte, marcada pérdida de peso, taquicardia, pelo hirsuto, poliuria y disnea. Los grados de debilidad fueron +=ligero, +=+ moderado y +++= marcado, basados en la actividad de los roedores durante el período experimental, de acuerdo a la resistencia que mostraban al momento de manejarlos para cambiarles el alimento, agua, pesarlos, limpiar su jaula, etc.; algunas ratas mostraron sangre en ollares (13 casos), también se presentó en un ratón. Durante la noche, las ratas y ratones del grupo control mostraron mayor actividad (oliendo, comiendo, bebiendo agua, mordiendo la jaula, etc.), las ratas tratadas aparte de la signología antes citada se encontraban inmóviles y con los ojos semiabiertos, para beber agua se apoyaban en el bebedero, se movían con dificultad (tambaleantes), las patas traseras se observaban separadas con el abdomen tocando el piso, no caminaban en forma normal. Los signos observados en los animales más afectados momentos antes de su muerte fueron: respiración abdominal marcada y posteriormente, casi imperceptible (dando la apariencia de dormido), movimientos de carrera, una rata se aventaba hacia adelante, en general se apoyaban en las paredes de la jaula, comedero y bebedero para poder moverse, no respondieron a estímulos

externos, inmovilidad total, hubo postración lateral y ventral, finalmente se presentó la muerte. En el cuadro 3 y 4 se puede observar el día de tratamiento, la signología que manifestaron y en cuantas ratas y ratones se presentó respectivamente. En forma general las ratas y ratones mostraron un incremento en la cantidad de orina producida, la cual fue acumulada en frascos de vidrio; en los ratones, la cantidad de orina acumulada en los frascos de vidrio no siempre fue confiable por encontrarse el alimento humedecido en el interior de los comederos, además tanto las jaulas para las ratas como para los ratones, presentaron fugas, ya que el piso no estaba bien sellado.

Muchos de los signos que se presentaron en la fase terminal, solo se observaron en algunos casos debido a que las observaciones clínicas fueron llevadas a cabo de 8:30 a.m. a 9:00 p.m., durante el experimento.

2) CONSUMO DE ALIMENTO (CA) Y GANANCIA DIARIA DE PESO (GDP).

Las gráficas de GDP diferencial en ratas (ver gráficas 1 y 2) y en ratones (ver gráficas 5 y 6), junto con las gráficas de consumo diario de alimento en ratas (ver gráficas 3 y 4) y en ratones (ver gráficas 7 y 8), mostraron lo siguiente:

RATAS GRUPO I Y II.

El consumo diario de alimento promedio y la GDP promedio diferencial es similar en las ratas controles y tratadas durante el período de adaptación y el primer día del período de tratamiento, el consumo de alimento en promedio fluctuó de 12 a 22 g, el día 2 el consumo de alimento se mantuvo en el grupo control y los tratados mostraron una

disminución marcada, para el día 3 el consumo de alimento promedio en el grupo tratado fue de cero; esto se refleja en la GDP, el segundo día, el grupo tratado mostró un peso inferior a su peso inicial y comenzó a disminuir en forma gradual hasta el momento de su muerte, mientras que el grupo control continuo ganando peso hasta terminar la fase experimental.

RATONES GRUPO I Y II.

El consumo diario de alimento promedio y la GDP promedio en ratones control y tratados durante el período de adaptación y el primer día del período de tratamiento fue similar. Los datos de consumo diario de alimento promedio obtenidos en los dos grupos tienen poca validez ya que los comederos disponibles utilizados en el experimento eran para ratas jóvenes (aproximadamente 80 g.), por lo que la tapa del comedero permitía la entrada de los ratones a su interior, provocando desperdicio de alimento al humedecerse con su orina o al caer fuera del comedero. Aun así se realizó el pesaje de este y se graficó sólo para observar los cambios en el consumo de alimento por los ratones tratados, el segundo día del período de tratamiento el consumo de alimento se incrementó ligeramente o se mantuvo en los ratones del grupo control, en los tratados se observó una disminución marcada en el consumo de alimento, para el día 3 era casi nulo, hasta que el día 4 no hubo consumo de alimento. Los ratones controles y tratados del grupo I mostraron un peso constante, ligeramente inferior a su peso inicial durante el período de adaptación y el primer día de tratamiento, el segundo día comenzó a observarse una pérdida de peso en el grupo tratado, disminuyendo así en forma

paulatina hasta el momento de su muerte, el grupo control mostró un peso menor a su peso inicial, pero se mantuvo hasta que concluyó el experimento.

Los ratones controles y tratados del grupo II, tuvieron una GDP similar en el período de adaptación y el primer día del período de tratamiento, el segundo día el grupo tratado mostró una disminución en el consumo de alimento y en la GDP, para el día 3 los ratones mostraron anorexia y tuvieron una marcada pérdida de peso hasta su muerte, mientras que el grupo control continuó ganando peso, hasta terminar el experimento.

3) MORTALIDAD.

Se obtuvo un 100% de mortalidad tanto en ratas como en ratones tratados con Colecalciferol. En ratas la mayor mortalidad fue el día 3 (75%), con un rango del 2-5 día, la mayor mortalidad en ratones se observó el día 4 (65%), con un rango del día 2-5. En ratas el 55% de la mortalidad fue en el día y el 45% durante la noche, en ratones el 40% de la mortalidad fue en el día y el 60% durante la noche. En los cuadros del 5 al 10 se puede observar la mortalidad por día, por grupo, por sexo y total, en ratas y ratones tratados.

4) NECROPSIA.

Al realizar la necropsia tanto en las ratas como en los ratones tratados (ver cuadro 11 y 12 respectivamente) se observaron diferentes grados de congestión en intestino delgado, hígado y pulmón. En hueso no se observaron cambios macroscópicos.

En ratas se observó la presencia de intususcepciones en intestino delgado (3 casos), variando en número y severidad. En ratones también se presentaron 2 casos, en uno se encontraron 2 intususcepciones leves en intestino delgado y en el otro, una intususcepción en intestino grueso.

Los órganos que presentaron lesiones sugestivas a calcinosis con mayor frecuencia en ratas, fueron por orden de importancia: corazón, riñón, pulmón y arterias coronarias, en una rata se observó en el músculo diafragmático la presencia de placas blanquecinas. En ratones se observó más lesionado el riñón y después el corazón. Todas estas observaciones son subjetivas de apreciación, para confirmar lo anterior se realizarán pruebas de laboratorio.

5) HISTOPATOLOGIA.

Los tejidos de las ratas y los ratones tratados, que fueron procesados para observar las lesiones histopatológicas con la tinción de HE (cuadros 13 y 14 respectivamente), mostraron depósitos de material morado sugestivo a calcio en el interior y/o exterior de las células de tejido funcional y en los vasos sanguíneos (además de cambios degenerativos como inflamación necrosis, etc.), por lo cual se seleccionaron los casos más representativos, estos fueron teñidos con la tinción específica para calcio (Von Kossa), así se pudo confirmar que las lesiones observadas con la tinción de HE eran debidas a la presencia de depósitos de calcio (ver cuadro 15 y 16), en la rata los órganos más afectados son corazón, arterias coronarias, riñón y diafragma, en el ratón,

el órgano más afectado fue el pulmón, posteriormente corazón y riñón, en los otros tejidos no se observaron daños aparentes.

6) DETERMINACION BIOQUIMICA DE Ca SANGUINEO.

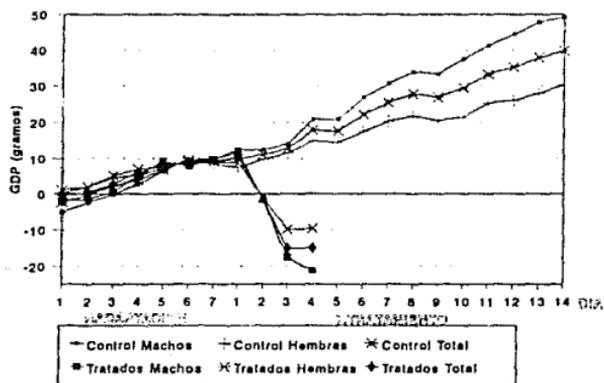
Para realizar esta prueba en las ratas, se incluyó un grupo extra (por problemas al momento de la determinación de Ca sanguíneo). En las ratas del grupo I (ver gráfica 9), se observó en el período de adaptación una concentración de Ca sanguíneo promedio de 11.53 mg/dl (10.2-13.7 mg/dl) en animales tratados y controles, en el período de tratamiento los controles mantuvieron valores de Ca sanguíneo de 11.9 mg/dl (11.5-12.3 mg/dl), las ratas tratadas tuvieron una concentración de Ca de 17.32 mg/dl (17.0-17.8 mg/dl). En el grupo II (ver gráfica 10), se observó en el período de adaptación una concentración de Ca sanguíneo promedio de 9.05 mg/dl (8.2-9.4 mg/dl) en animales controles y tratados, una de las ratas del grupo control falleció al momento de tomar la muestra de sangre; en el periodo de tratamiento la rata del grupo control tuvo una concentración de Ca sanguíneo de 9.9 mg/dl, los tratados tuvieron una concentración de Ca sanguíneo de 13.37 mg/dl (12.9-13.7 mg/dl).

En ratones, las observaciones en cuanto a consumo de alimento, ganancia de peso, comportamiento, día de muerte, etc, podían alterarse por la toma de muestras de sangre (dolor, stress, etc.), por lo que se incluyeron grupos adicionales de 6 animales cada uno (2 controles y 4 tratados). Se metieron ratones extras en los grupos adicionales (controles y tratados con Colecalciferol), cuando se tomó la muestra de sangre, varios no resistieron y murieron, otros estaban tan débiles y deshidratados, que

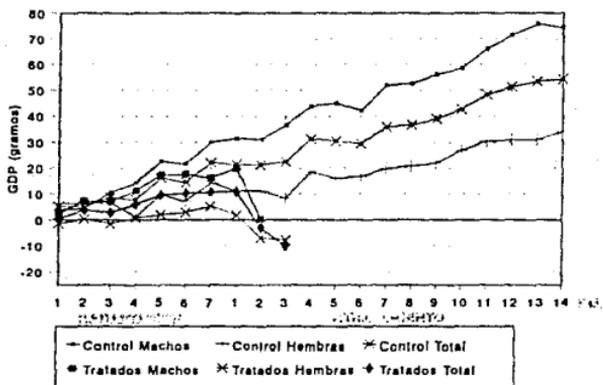
la sangre se coagulaba en el interior del capilar y no se obtuvo la cantidad suficiente para correr la prueba. En total se metieron 10 muestras de sangre, 4 controles y 6 tratados (ver gráfica 11). En el período de adaptación los ratones controles y tratados tuvieron un valor promedio de 8.72 mg/dl (7.1-9.9 mg/dl), en el período de tratamiento los controles mantuvieron valores de 9.17 mg/dl (8.4-9.9 mg/dl) y los tratados aumentaron en forma leve teniendo un promedio de 11.28 mg/dl (8.7-13.4 mg/dl).

Se realizó el análisis de varianza (ANDEVA) para evaluar si al adicionar el Colecalciferol al alimento que se administró diariamente a los animales tratados, provocaba una diferencia en el consumo de alimento, ganancia de peso y concentración de Ca sanguíneo, con respecto a los controles, observándose una diferencia significativa entre los grupos por el efecto del tratamiento y no del sexo, con un $P < 0.05$ (67).

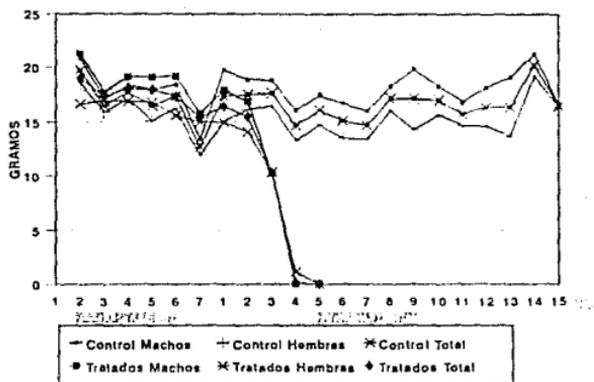
Gráfica 1. Ganancia diaria de peso diferencial en ratas cepa Wistar, controles y tratados con Colecalciferol. GRUPO 1



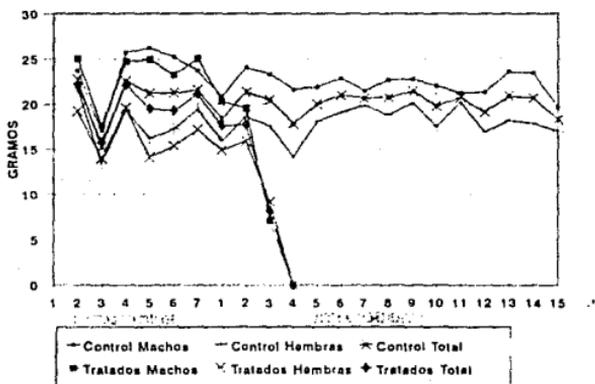
Gráfica 2. Ganancia diaria de peso diferencial en ratas cepa Wistar, controles y tratados con Colecalciferol. GRUPO 2



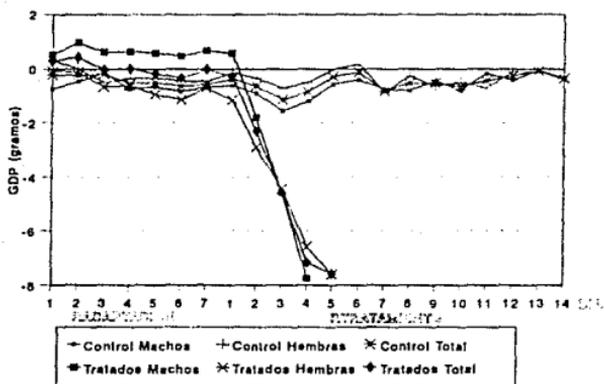
Gráfica 3. Consumo diario de alimento en ratas cepa Wistar, controles y tratados con Colecalciferol. GRUPO 1



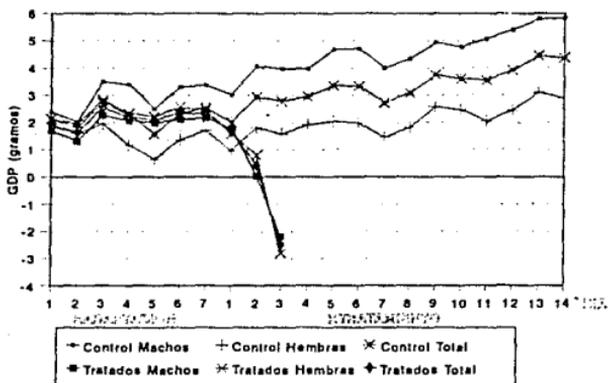
Gráfica 4. Consumo diario de alimento en ratas cepa Wistar, controles y tratados con Colecalciferol. GRUPO 2



Gráfica 5. Ganancia diaria de peso diferencial en ratones cepa CD1, controles y tratados con Colecalciferol. GRUPO 1

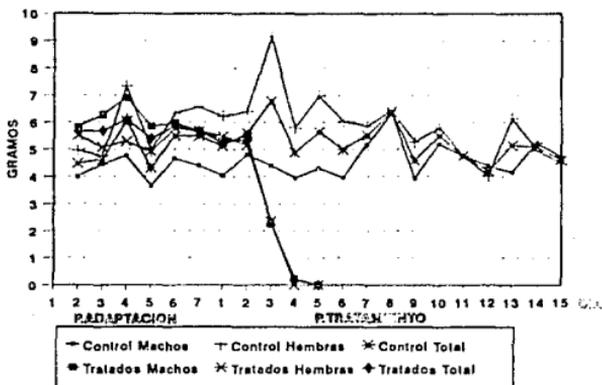


Gráfica 6. Ganancia diaria de peso diferencial en ratones cepa CD1, controles y tratados con Colecalciferol. GRUPO 2



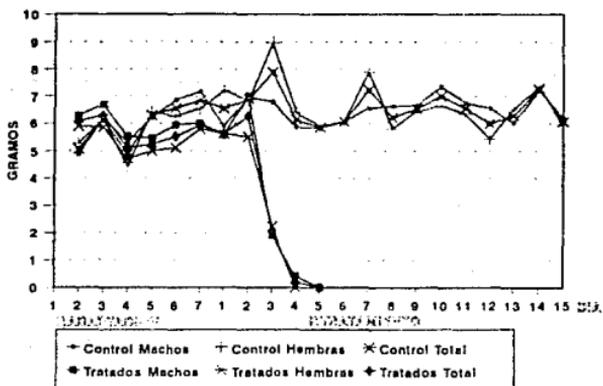
Gráfica 7. Consumo diario de alimento en ratones cepa CD1, controles y tratados con Colecalciferol.

GRUPO 1

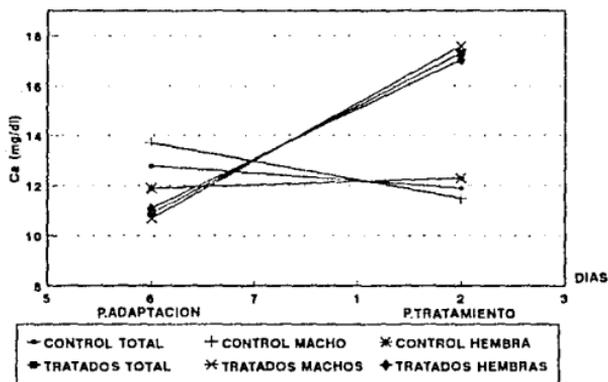


Gráfica 8. Consumo diario de alimento en ratones cepa CD1, controles y tratados con Colecalciferol.

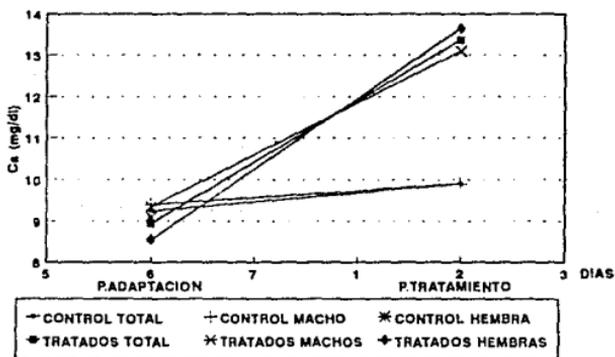
GRUPO 2



Gráfica 9. Concentración de Ca sanguíneo en ratas cepa Wistar, controles y tratados con Colecalciferol. GRUPO 1

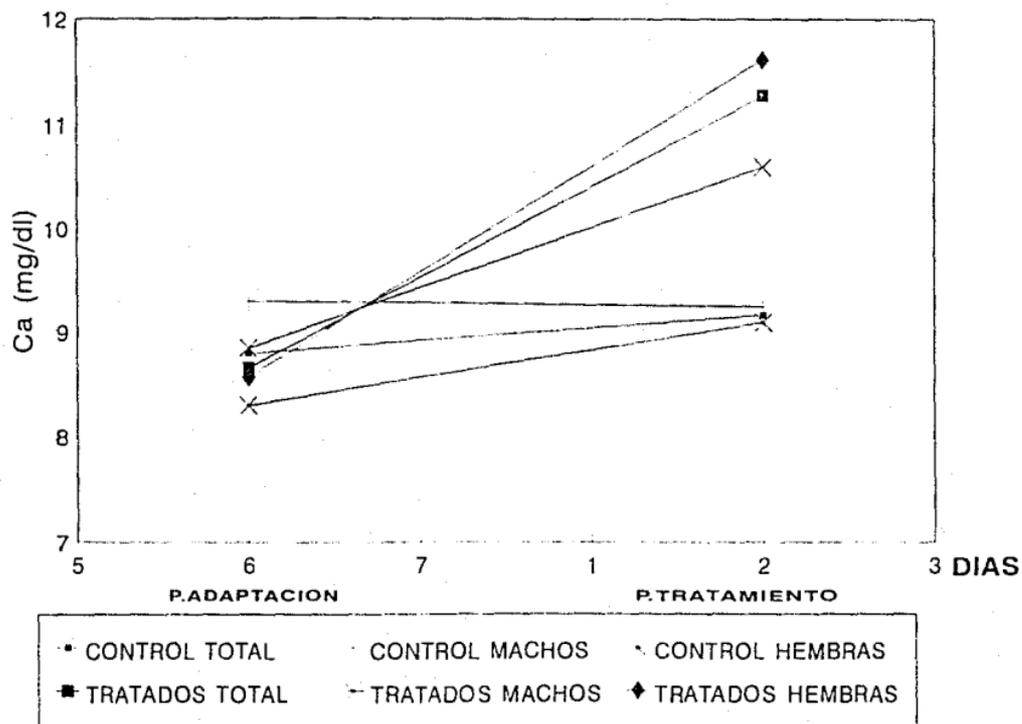


Gráfica 10. Concentración de Ca sanguíneo en ratas cepa Wistar, controles y tratados con Colecalciferol. GRUPO 2.



NOTA: LA HEMBRA CONTROL FALLECIO ANTES DE TOMAR LA 2ª MUESTRA DE Ca EN SANGRE

Gráfica 11. Concentración de Ca sanguíneo en ratones cepa CD1, controles y tratados con Colecalciferol.



GRUPO ADICIONAL PARA VALORACION DE Ca

CUADRO 3 SIGNOLOGIA EN RATAS CEPA WISTAR TRATADAS CON COLECALCIFEROL.

DIA DE TRATAMIENTO	SIGNO	No. DE ANIMALES	
		GRUPO I	GRUPO II
1	DEBILIDAD +	-	8
	PELO HIRSUTO	-	8
2	DEBILIDAD +	3	1
	DEBILIDAD ++	7	8
	DEBILIDAD +++	-	1
	TAQUICARDIA	7	7
	PELO HIRSUTO	8	3
	EPISTAXIS	4	6
	DISNEA	-	1
	POSTRACION	-	1
	MUERTE	-	1
3	DEBILIDAD ++	3	1
	DEBILIDAD +++	-	1
	TAQUICARDIA	2	2
	PELO HIRSUTO	2	1
	EPISTAXIS	2	2
	INCOORDINACION	-	1
	DISNEA	1	-
	MUERTE	7	8
4	DEBILIDAD +++	2	-
	TAQUICARDIA	2	-
	JADEO	1	-
	DISNEA	1	-
	RESPIRACION ABDOMINAL	-	-
	MARCADA	1	-
	MUERTE	1	1
5	MUERTE	2	-

NOTA: Vale la pena mencionar, que esta signología es de apreciación subjetiva. Las observaciones clínicas fueron llevadas a cabo de 8:00 a.m. a 9:00 p.m.

DEBILIDAD
 + = Ligera
 ++ = Moderada
 +++ = Marcada

CUADRO 4. SIGNOLOGIA EN RATONES CEPA CD1 TRATADOS CON COLECALCIFEROL.

DIA DE TRATAMIENTO	SIGNO	No. DE ANIMALES	
		GRUPO I	GRUPO II
1	-----	-	-
2	DEBILIDAD +	-	4
	DEBILIDAD ++	6	1
	DEBILIDAD +++	2	-
	TAQUICARDIA	8	10
	PELO HIRSUTO	8	10
	PATAS TRASERAS ABIERTAS	5	2
	INMOVILIDAD	-	1
	MUERTE	1	-
3	DEBILIDAD +	-	1
	DEBILIDAD ++	4	3
	DEBILIDAD +++	4	6
	TAQUICARDIA	8	9
	PELO HIRSUTO	8	10
	CAMINA CON DIFICULTAD	3	4
	PATAS TRASERAS ABIERTAS	-	1
	RESPIRACION ABDOMINAL MARCADA	-	1
	RESPIRACION CASI IMPERCEPTIBLE	-	1
	MOVIMIENTOS DE CARRERA	-	1
	MUERTE	2	2
	4	DEBILIDAD +++	2
PELO HIRSUTO		1	-
EPISTAXIS		1	-
CAMINA CON DIFICULTAD		2	-
MUERTE		5	8
5	POSTRACION	1	-
	INMOVILIDAD	1	-
	MOVIMIENTOS DE CARRERA	1	-
	RESPIRACION ABDOMINAL DA LA APARIENCIA DE	1	-
	ESTAR MUERTO	1	-
	MUERTE	2	-

NOTA: Vale la pena mencionar, que esta signología es de apreciación subjetiva. Las observaciones clínicas fueron llevadas a cabo de 8:30 a.m. a 9:00p.m.

DEBILIDAD + = Ligera
 ++ = Moderada
 +++ = Marcada

CUADRO 5. Mortalidad en ratas cepa Wistar tratadas con Colecalciferol durante el periodo experimental

GRUPO I

DIA TRATAMIENTO	MACHOS (No.)	MACHOS (%)	HEMBRAS (No.)	HEMBRAS (%)	TOTAL (%)
3	3	60	4	80	70
4	1	20	0	0	10
5	1	20	1	20	20
TOTAL	5	100	5	100	100

GRUPO II

DIA TRATAMIENTO	MACHOS (No.)	MACHOS (%)	HEMBRAS (No.)	HEMBRAS (%)	TOTAL (%)
2	1	20	0	0	10
3	4	80	4	80	80
4	0	0	1	20	10
TOTAL	5	100	5	100	100

CUADRO 6 Mortalidad de ratas cepa Wistar, machos y hembras tratadas con Colecalciferol durante el periodo experimental.

(GRUPO I Y II)

DIA TRATAMIENTO	MACHO (No.)	MACHO (%)	HEMBRA (No.)	HEMBRA (%)
2	1	10	0	0
3	7	70	8	80
4	1	10	1	10
5	1	10	1	10
TOTAL	10	100	10	100

CUADRO 7. Mortalidad total en ratas cepa Wistar tratadas con Colecalciferol durante el período experimental.

(GRUPO I Y II)

DIA TRATAMIENTO	Nº DE ANIMALES	%
2	1	5
3	15	75
4	2	10
5	2	10
TOTAL	20	100

OBSERVACIONES: La mayor mortalidad se observó el día 3 (75%), con un rango del día 2 al 5.

CUADRO 8. Mortalidad en ratones cepa CD1 tratados con Colecalciferol durante el período experimental.

GRUPO I

DIA TRATAMIENTO	MACHOS (No.)	MACHOS (%)	HEMBRAS (No.)	HEMBRAS (%)	TOTAL (%)
2	0	0	1	20	10
3	0	0	2	40	20
4	4	80	1	20	50
5	1	20	1	20	20
TOTAL	5	100	5	100	100

GRUPO II

DIA TRATAMIENTO	MACHOS (No.)	MACHOS (%)	HEMBRAS (No.)	HEMBRAS (%)	TOTAL (%)
3	2	40	0	0	20
4	3	60	5	100	80
TOTAL	5	100	5	100	100

CUADRO 9. Mortalidad de ratones machos y hembras de la cepa CD1, tratados con Colecalciferol durante el período experimental.

(GRUPO I Y II)

DIA TRATAMIENTO	MACHO (No.)	MACHO (%)	HEMBRA (No.)	HEMBRA (%)
2	0	0	1	10
3	2	20	2	20
4	7	70	6	60
5	1	10	1	10
TOTAL	10	100	10	100

CUADRO 10. Mortalidad total en ratones cepa CD1 tratados con Colecalciferol durante el período experimental.

(GRUPO I Y II)

DIA TRATAMIENTO	No. DE ANIMALES	%
2	1	5
3	4	20
4	13	65
5	2	10
TOTAL	20	100

OBSERVACIONES: La mayor mortalidad se observó el día 4 (65%), con un rango del día 2 al 5.

CUADRO 11. Lesiones macroscópicas observadas al realizar la necropsia en las ratas cepa Wistar tratadas con Colecalciferol (grupo I y II).

ORGANO	N° LESION/ N° MUESTRA	DESCRIPCION DE LA LESION
CORAZON	20/20	Presencia de puntillero blanquecino, algunas muestras tenían zonas blanquecinas en parte del órgano. Zonas de congestión.
	1/20	
PULMON	15/20	Diferentes grados de congestión *Placas de color más claro o del mismo color en el parénquima *Presencia de zonas oscuras y claras en el parénquima. *Puntillero rojizo. Puntos blanquecinos en forma de placa en ciertas zonas.
	7/20	
	1/20	
	2/20	
	5/20	
DIAFRAGMA	1/20	Placas blanquecinas en músculo diafragmático.
INTESTINO DELGADO	19/20	Presencia de diferentes grados de congestión en serosa. Presentan intususcepción: Caso 1 = 2 intususcepciones de 0.3 cm. y 1 cm Caso 2 = 2 intususcepciones muy leves, casi inaparentes. Caso 3 = 4 intususcepciones, una de 1 cm otra de 2cm y 2 de 5 cm
	3/20	
RIÑON	14/20	Presencia de puntillero blanquecino o zonas blanquecinas en diferentes áreas. *Petequias en el parénquima y algunas zonas congestionadas.
	3/20	
HIGADO	17/20	Presencia de diferentes grados de congestión.
ARTERIAS CORONARIAS Y AORTA	5/20	Se observan blancas las arterias coronarias.

NOTA:*Lesiones observadas debidas al éter y no al tratamiento con colecalciferol. Corroborándose al observar los órganos al sacrificar los animales del grupo control.

CUADRO 12. Lesiones macroscópicas observadas al realizar la necropsia en los ratones cepa CD1 tratados con colecalciferol (grupo I y II).

ORGANO	Nº LESION / Nº MUESTRA	DESCRIPCION DE LA LESION
CORAZON	1/20 4/20	Presencia de zonas más claras. Presencia de puntilleo o áreas de color blanquecino.
PULMON	20/20 1/20	Diferentes grados de congestión. Presencia de placas muy pequeñas blancas, casi inaparentes en el parénquima
INTESTINO DELGADO	12/20 1/20 1/20 1/20	Diferentes grados de congestión en la serosa. Presenta un color amarillo pálido. Presenta acúmulos de alimento en forma discontinua. Presenta 2 intususcepciones discretas.
RIÑON	1/20 7/20 1/20 1/20 1/20	Se observa casi la mitad del órgano de un color más claro. Presenta puntilleo o zonas blanquecinas. Presenta zonas más claras y otras más oscuras. Diferentes grados de congestión. Puntilleo rosa claro en el parénquima.
HIGADO	14/20	Diferentes grados de congestión.
NOTA. Un ratón presentó una intususcepción en intestino grueso.		

CUADRO 13 Lesiones histopatológicas observadas con la tinción de HE en ratas cepa Wistar, tratadas con Colecalciferol (grupo I y II).

ORGANO	N° LESION / N° MUESTRA	DESCRIPCION DE LA LESION
HIGADO	3/4	1/4 Congestión en vena central y triada portal. 2/4 Congestión centrolobulillar y periportal (moderada a fuerte).
RIÑON	3/4 4/4	Presencia de gran cantidad de material hialino compatible con depósitos de proteína en la luz tubular renal. Presencia de material morado sugestivo a Ca.
CORAZON	1/4 2/4 1/4 4/4	Presencia de depósitos de proteína. Infiltración fuerte multifocal de células mononucleares. Necrosis del miocardio. Múltiples depósitos de material morado sugestivo de Ca.
ARTERIAS CORONARIAS Y/O AORTA	1/4	Presencia de múltiples depósitos de material morado en una porción del subendotelio de un vaso sanguíneo, sugestivo a Ca.
PULMON	2/4 1/4	Congestión intersticial difusa (moderada a fuerte). * Ligera hiperplasia linfoide perivascular y peribronquial.
DIAFRAGMA	1/4	Presencia de material morado sugestivo a Ca.
INTESTINO DELGADO	1/4	** Presencia de moco en la luz intestinal.
HUESO	1/4	Presencia de mayor depósito de material condrogéno.

NOTA: * En 3/4 de los animales del grupo control se observó el mismo y/o engrosamiento septal pulmonar focal, en otro caso se observó un foco de infiltración linfocitaria perivascular y/o tejido de granulación. Estas lesiones son sugestivas de Micoplasmosis.

** En 1/4 del grupo control mostró el leon hiperplasia focal en el tejido linfoide (placas de Peyser).

Cuadro 14. Lesiones histopatológicas observadas con la tinción de HE en ratones de la cepa CD1, tratados con Colecalciferol. (Grupo I y II)

ORGANO	N° LESION/ N° MUESTRA	DESCRIPCION DE LA LESION
HIGADO	1/4	Congestión.
RIÑON *	1/4 1/4 1/4	Presencia de material hialino compatible con depósitos de proteína en la luz tubular renal. Presencia de depósitos color morado principalmente en la zona cortical, también en la médula, sugestivos a Ca. Presencia de un foco o depósito de material morado sugestivo a Ca.
CORAZON	4/4 1/4	Se observaron múltiples cambios degenerativos en miocardio. Pequeños focos inflamatorios constituidos principalmente por neutrófilos.
PULMON	1/4	Foco inflamatorio constituido por hilos de fibrina, neutrófilos, etc.
DIAFRAGMA	1/4	Presencia de acumulos de material morado sugestivo a Ca.
<p>NOTA: No se observaron cambios histopatológicos aparentes en arterias coronarias y/o aorta, intestino delgado y unión costocondral. *Un animal mostró congestión corticomedular renal difusa grave, otro mostró pequeños focos inflamatorios en tubulos contorneados proximales.</p>		

CUADRO 15. Lesiones histopatológicas observadas con la tinción específica para Ca (Von Kossa) en ratas cepa Wistar tratadas con Colecalciferol.

ORGANO	Nº LESION / Nº MUESTRA	DESCRIPCION DE LA LESION
CORAZON	3/3	Depósitos de Ca en el interior y exterior de las fibras del miocardio.
ARTERIAS CORONARIAS	3/3	Depósitos de Ca en las ramificaciones de las arterias coronarias, en la media de las arteriolas y arterias de mediano y gran calibre.
DIAFRAGMA	2/4	Se encontraron algunos depósitos focales de Ca en el interior y exterior de las fibras musculares.
RIÑON	2/3	Depósitos de Ca en el interior y exterior del epitelio renal y en la luz tubular. Depósitos de Ca en los vasos sanguíneos peritubulares.

CUADRO 16. Lesiones histopatológicas observadas con la tinción específica para Ca (Von Kossa) en ratones cepa CD1 tratados con Colecalciferol.

ORGANO	Nº LESION / Nº MUESTRA	DESCRIPCION DE LA LESION
CORAZON	1/4	Depósitos de Ca intracelular y extracelular de las fibras musculares.
PULMON	4/4	Precipitación de Ca en vasos sanguíneos del epitelio alveolar y de los septos alveolares.
RIÑON	1/4	Depósitos de Ca en vasos sanguíneos peritubulares, algunos en glomérulo. Además en el interior y exterior de las células del epitelio renal.

NOTA: En las otras muestras de tejido no se encontraron daños aparentes

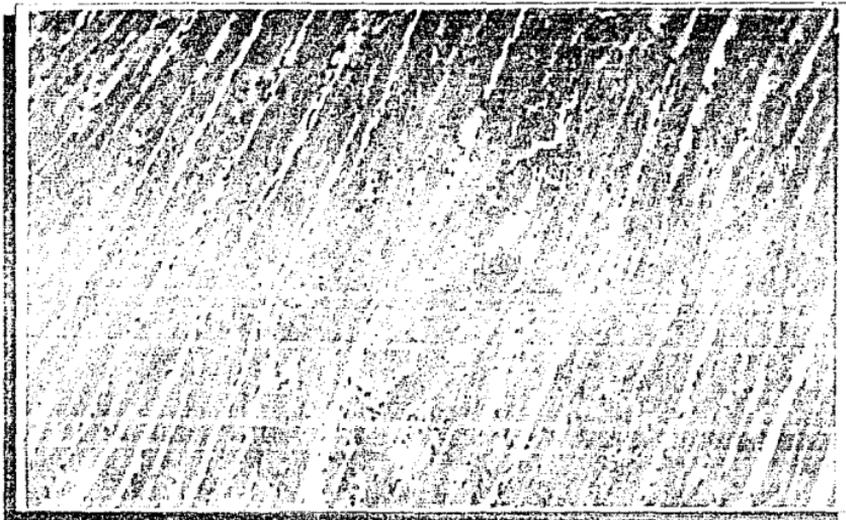


Foto 1. Miocardio. Foco de calcificación en las fibras musculares. Hematoxilina-Eosina. 8750x.

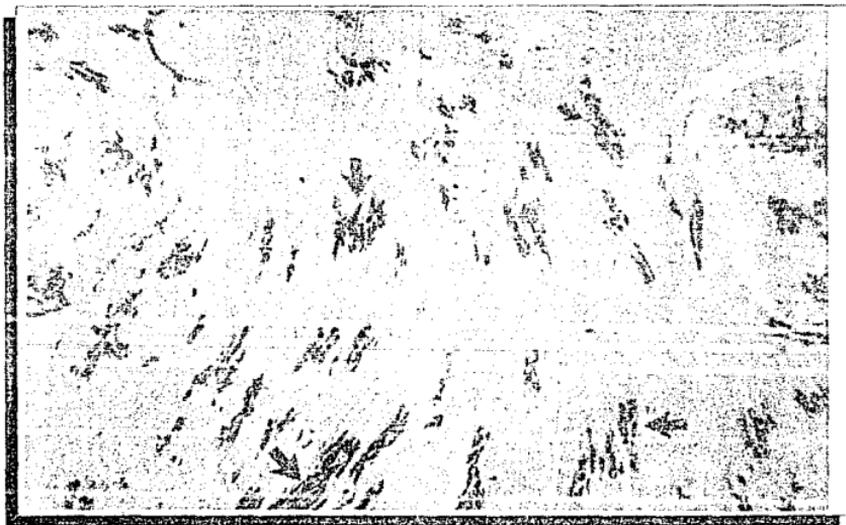


Foto 2. Miocardio. Múltiples focos de calcificación de las fibras musculares. Von Kossa. 4375x.



Foto 3. Miocardio. Calcificación de un vaso sanguíneo venoso. Von Kossa. 17500x.

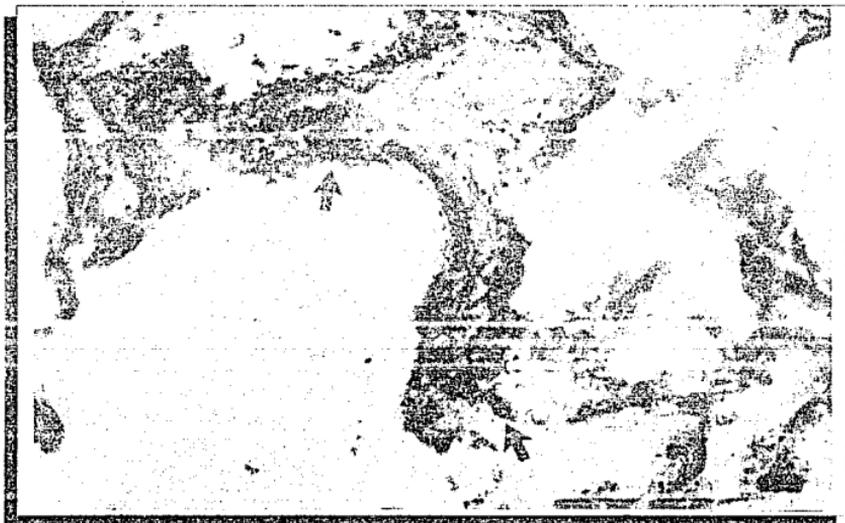


Foto 4. Pulmón. Áreas de calcificación en los septos alveolares. Von Kossa. 8750x.



Foto 5. Riñón. Múltiples focos de calcificación intersticial. Von Kossa. 4375x.

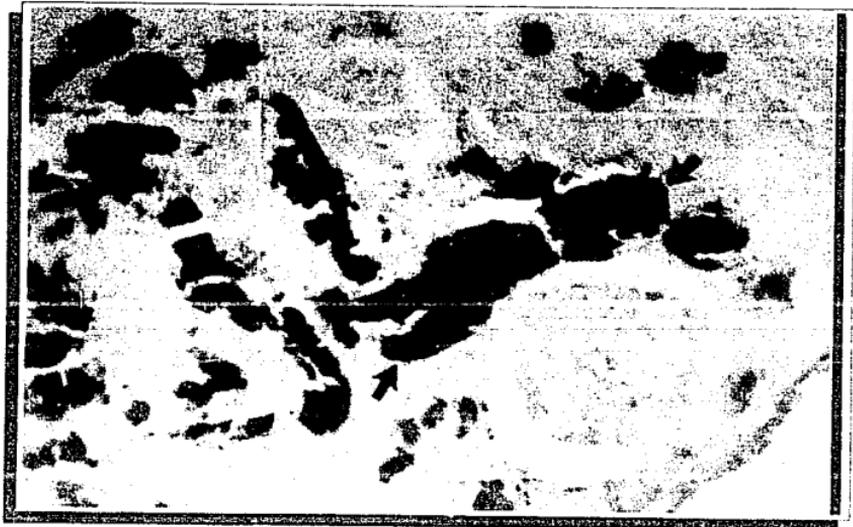


Foto 6. Riñón. Zonas de calcificación peritubular y en el interior de las células del epitelio renal. Von Kossa. 17500x.

VII. DISCUSION.

Es necesario conocer la biología y el comportamiento de las ratas y ratones, así como las características del rodenticida de elección (mecanismo de acción, modo de empleo, riesgos en su utilización, etc.), para aprovecharlo de manera óptima al establecer un programa de control integral.

En la actualidad existe una gran variedad de productos rodenticidas, los que anteriormente eran el producto de elección, como el 1080, Sulfato de Talio, Estricnina, Arsenico, etc. (venenos de acción aguda), ahora resultan obsoletos debido al interés que existe por disminuir el alto riesgo de intoxicaciones accidentales y el impacto en el medio. Un problema que continúa estando vigente es el uso indiscriminado de algunos rodenticidas como el Fosforo de Zinc y los anticoagulantes, a veces desconociendo hasta la información más básica sobre su utilización.

El Colecalciferol (vitamina D₃) es una nueva alternativa como rodenticida por su mecanismo de acción diferente (7,42,60), ya que complementa o suple a otros productos comerciales existentes en el mercado (disminuyendo así el riesgo de desarrollar resistencia por contacto prolongado con anticoagulantes).

En el presente trabajo se evaluó la eficacia del Colecalciferol (al 0.075%), en las ratas tratadas cepa Wistar y en los ratones tratados cepa CD1. Los signos observados son atribuidos a la hipercalcemia inducida por el exceso de Colecalciferol, al igual que en otros estudios sobre enfermedades hipercalcemicas, plantas calcinogénicas e intoxicaciones accidentales (32,40,54), donde se vieron afectados sistema cardiovascular,

urinario, nervioso y gastrointestinal, siendo menos frecuentes los daños en otros sistemas.

En el periodo de adaptación las ratas y ratones de los grupos controles y tratados mostraron un consumo diario de alimento y una GDP similar, hasta el segundo día de realizar el cambio de alimento en los animales tratados. A pesar del problema que se tuvo para determinar la cantidad real de cebo tóxico consumido por los ratones, se pudo apreciar al igual que en las ratas, alteraciones en el comportamiento como la disminución en el consumo de alimento hasta la anorexia total, presentándose una marcada pérdida de peso. Los animales estaban deprimidos y comenzaron a debilitarse, disminuyendo su actividad poco a poco hasta permanecer inmoviles, no mostrando signos violentos antes de su muerte.

La anorexia y la pérdida de peso (además del vómito y la constipación que fueron observados en otras especies al realizar diferentes estudios), pueden ser resultado de una disminución de la excitabilidad del músculo liso gastrointestinal (al igual que algunas intususcepciones observadas en el intestino delgado e intestino grueso, al realizar la necropsia de los animales tratados). La debilidad muscular generalizada del músculo esquelético, se debe a una disminución de la excitabilidad neuromuscular (32,40).

Los animales tratados mostraron una buena aceptación del cebo envenenado y un periodo corto de consumo de alimento (ingiriendo una dosis letal) ; en algunos animales la muerte se presentó subitamente (a partir del segundo día), pero en la mayoría se observó un periodo de anorexia antes de su muerte, al igual que en otros trabajos (7). La mortalidad fue de un 100%, siendo el día 3, el de mayor mortalidad en

ratas y el día 4 en el caso de los ratones, con un rango del día 2-5 del periodo experimental, en otros trabajos se observó un promedio de 4-5 días (42).

La anorexia posterior a un corto periodo de ingestión de cebo envenenado, representa una ventaja, ya que los roedores no asocian el consumo del cebo con la muerte de otros animales (7,43) al igual que con los rodenticidas anticoagulantes. Por las características antes mencionadas, al incluir este producto como parte de un programa control integral de roedores, se pueden obtener buenos resultados a corto plazo.

Mac Donald y Kirk, mencionan que los animales al principio muestran polidipsia y poliuria como consecuencia de la hipercalcemia inicial por la sobredosis de Colecalciferol. Una falla renal primaria, incrementa la hipercalcemia y se aprecia por medio de la deshidratación (se puede llegar a agravar la hipercalcemia en animales que se encuentran deshidratados). Se observó que aún en la fase terminal de la intoxicación las ratas y los ratones trataron de beber agua (moviéndose con dificultad) y los recipientes de vidrio donde se acumulaba la orina, se encontraban más llenos, esto se observó antes de que los animales disminuyeran su actividad por completo. En animales que no se mueven libremente, la prolongada inmovilización puede provocar hipercalcemia a consecuencia de una continua resorción ósea, asociada a una disminución en su deposición, debido a un daño musculoesquelético extensivo o neurológico (32,40).

Los animales que reciben un tratamiento prolongado con Colecalciferol, cuando esta avanzado el proceso de intoxicación, se desplazan en forma anormal, esto puede deberse a una mineralización de tejidos fibroelásticos especialmente tendones de los

miembros y de la columna vertebral con lo cual el animal adquiere una postura rígida (68), en este trabajo estos problemas de desplazamiento se atribuyen a alteraciones en la transmisión de los estímulos neuromusculares.

Cuando se administran dosis excesivas de Colecalciferol, la acción de la PTH se cancela, la hormona Calcitonina aumenta en la sangre y actúa inhibiendo de manera temporal la acción de la enzima 1α hidroxilasa, disminuyendo así la producción del $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ y a su vez la concentración de Ca sanguíneo. Cuando baja la concentración de la Calcitonina en el torrente sanguíneo, como consecuencia sus efectos desaparecen y comienza a elevarse la concentración del $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, cuando la concentración de este metabolito en la sangre es alto, al igual que la concentración de Ca, se desencadena o activa la retroalimentación negativa, disminuyendo la producción de más $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ a partir del 25-OHD_3 , por inhibición de la enzima 1α hidroxilasa renal. Por otro lado como menciona DeLuca, el $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ puede sufrir una 24 hidroxilación (para disminuir su actividad biológica y facilitar su eliminación o degradación), como un esfuerzo del organismo para librarse de la alta concentración de este metabolito (hormona esteroide) y su precursor (16).

El metabolito 25-OH D_3 eleva su concentración en la sangre, este es el principal metabolito circulante en condiciones normales, el cual no es activo, pero en casos de hipervitaminosis puede ocupar los receptores disponibles para el $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ y puede actuar sobre el Ca, ejerciendo funciones atribuidas usualmente al $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (que es el metabolito activo), mientras que este apenas si muestra un ligero incremento (40). El 25-OH D_3 tiene una menor potencia que el $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, pero al tener una mayor

concentración en la sangre (hasta 10 veces la concentración del Colecalciferol), al permanecer más tiempo que el metabolito activo en el organismo y al no tener un mecanismo de regulación tan eficaz y potente como con el $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, esto permite la presentación del estado de intoxicación (16,54), en el cual se desarrolla un incremento en la concentración de Ca sanguíneo (hipercalcemia).

Cuando comienza a elevarse el Ca y rebasa los valores normales de referencia, la hormona Calcitonina evita que se incremente marcadamente al inicio de la intoxicación; en casos agudos se cree, es la que permite mantener la integridad ósea, dirigiendo la acción del metabolito activo al aparato digestivo, haciendo más eficaz la absorción del Ca y evitando la resorción ósea, lo cual no es posible por un estímulo sostenido (intoxicación crónica), donde se observan más frecuentemente cambios en hueso (30,40).

La fig. 3 está basada en información del NRC (54), donde se observa que el riñón es la principal vía de eliminación del Ca. En estados iniciales de hipercalcemia, pueden presentarse cálculos renales, pero cuando la hipercalcemia rebasa los límites tolerables, se provoca daño renal, disminuyendo aun más la excreción de calcio y exacerbando la hipercalcemia.

La muerte de los animales en este estudio se atribuye a la hipercalcemia, el calcio en dosis tóxicas aumenta la fuerza y la eficiencia de contracción cardíaca, pudiendo provocar arritmias cardíacas, fibrilación ventricular y muerte (32,40,63). La presencia de placas de Ca en la luz de algunos vasos sanguíneos o capilares es importante ya que

incrementa la insuficiencia cardiaca. Dosis masivas o prolongadas de Colecalciferol pueden causar toxicosis e inclusive la muerte (6, 7, 42, 47).

El Colecalciferol es almacenado en diversos tejidos en forma normal y liberado lenta y continuamente al torrente circulatorio, aun después de cesar su administración (3,13), tiene un metabolismo lento, por lo que sobredosis producen efectos tóxicos (3,16).

Existen diferencias entre algunos autores sobre el origen de los depósitos de calcio, algunos mencionan que es de origen distrófico (30, 62), otros que es de origen metastásico (30,42,66) y otros, lo atribuyen a ambos. La hipervitaminosis D puede provocar en tejidos blandos diferentes grados de necrosis y calcificación de origen distrófico y al mismo tiempo depósitos de calcio, por su deposición dentro del tejido, de origen metastásico (30, 63, 68, 72,73). Estas lesiones histopatológicas al igual que las lesiones observadas en hueso varían de acuerdo a la cantidad de cebo tóxico ingerido y al tiempo de exposición al Colecalciferol.

En el exámen histopatológico realizado en este estudio, los órganos más afectados por la presencia de depósitos de Ca, fueron: corazón, riñon, pulmón y vasos sanguíneos, aunque también se localizaron algunos depósitos de Ca en el diafragma; en algunas muestras de órganos de ratón, teñidos con Von Kossa, no se observaron depósitos de calcio, pero cuando fueron teñidos con HE, mostraron congestión, presencia de material hialino en algunos tejidos (compatible con depósitos de proteína) y cambios degenerativos como inflamación y necrosis. No se observaron cambios macroscópicos o microscópicos en la union costocondral, por lo que la hipercalcemia en una intoxicación aguda se atribuye a un aumento en la eficacia de la absorción intestinal del Ca, una

disminución en la deposición de Ca óseo (disminuye la formación de hueso) y un incremento en la retención de Ca renal.

En la fig. 4 se observan las alteraciones más comunes encontradas en casos de intoxicación crónica, algunas de estas coinciden con las alteraciones encontradas en este estudio (30).

El aumento del P sérico (hiperfosfatemia), puede servir para apoyar el diagnóstico de la enfermedad (43). La hiperfosfatemia puede aumentar la severidad de la precipitación de calcio en los tejidos blandos (32,72).

Todos los productos rodenticidas representan un riesgo potencial para las especies no blanco, el problema muchas veces no es el producto a utilizar, sino las precauciones y estrategias que se incluyen en un programa de control para evitar una intoxicación accidental. Tanto los roedores plaga como las especies no blanco (mamíferos) son sensibles a la hipervitaminosis D₃. En casos de intoxicación accidental, debido al mecanismo de acción del Colecalciferol, se puede retrasar la presentación de los signos clínicos, como consecuencia el diagnóstico y a su vez el tratamiento, por lo que los daños pueden ser irreversibles cuando este inicia (26, 47).

Independientemente de la causa de la toxicosis con vitamina D₃, se han reportado algunos casos en aves (13), conejos (13, 43), perros (26, 43), gatos (26), corderos (10), caballos (10, 29), cerdos (10, 12, 13, 44) y vacas (10, 23).

Existen otros productos en el mercado que tienen como ingrediente activo los metabolitos del Colecalciferol, el riesgo en su utilización aumenta, ya que no requieren

de un control hormonal (25-OH-D₃ y 1 α -OH-D₃ sintética) o de algún órgano para ser activados.

Las aves son más tolerantes a la intoxicación por vitamina D, debido a que son mayores sus necesidades y a su metabolismo, también se cree que en los rumiantes disminuye el riesgo por la presencia de fitasas a nivel ruminal, las cuales precipitan y disminuyen la absorción del Ca (siendo más tóxica la administración parenteral)(54,62).

El hombre es muy sensible a sobredosis de Colecalciferol, el rango de seguridad entre la dosis terapéutica y la dosis tóxica es muy estrecha, por ejemplo mujeres embarazadas con problema de hipercalcemia pueden manifestarlo como lesiones en el feto o en el recién nacido (lactante) (3, 13, 17, 25, 44, 45).

El producto químico rodenticida debe ser utilizado como una herramienta en el control integral. El producto de elección va siempre en relación al costo-beneficio, analizando las ventajas que presenta con respecto a otros productos químicos.

VIII. LITERATURA CITADA.

- 1) Acha, P.N. y Szyfres, B. : Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 2a ed. Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C., EUA, 1988.
- 2) Albers, N., Behm, G., Dressler, D., Klaus, W., Küther, K. y Linder, H. : Las Vitaminas en la Nutrición Animal. Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung e.v. (AWT), Bonn, Alemania, 1985 (Boletín).
- 3) American Medical Association (Departament of Drugs) : AMA Drug Evaluations. 4th ed. American Medical Association, N.Y., U.S.A. 1980.
- 4) Andrade, M.A.G. : Efecto de la warfarina en el control de roedores en explotaciones de cerdos, utilizando grano de maíz, sorgo y alimento balanceado como vehículo. Tesis de licenciatura. Esc. de Agric. y Ganadería. Inst. Tec. y de Est. Sup. de Monterrey. Queretaro, Gro., México, 1987.
- 5) Anónimo: Análisis de la Problemática de Roedores Nocivos en el Bosque de San Juan de Aragón. Comisión de Ecología. México, D.F., 1985.
- 6) Anónimo : Tratamiento recomendado para hipercalcemia. Laboratorios Helios: 1-2 (1991).
- 7) Anónimo : Ventajas del Colecalciferol. Laboratorios Helios: 1-2 (1989).
- 8) Ashton, A.D. : Training Manual and Final Report on the Diamond Poultry Farm System Goldsboro, North Carolina. Center for Environmental Research and Services Bowling Green State University, Bowling Green, Ohio, 1980.
- 9) Beard, M.L., Barnes, M.A., Montman, C.E., Craven, R.B., Maupin, G.O. and Marshall, E.F.: Integrated vector control. Rodenticide may reduce the spread of human plague. J. of Environ. Health, **51** (2) : 68-75 (1988).
- 10) Blood, D.C., Henderson, J.A. y Radostits, O.M. : Medicina Veterinaria. 6a ed. Interamericana, México, D.F., 1987.
- 11) Brown, D.L. and Marshall, E.F. : Field evaluation of Quintox for controlling commensal rodents. 13th Vertebrate Pest Conference. : s/p, USA (1988).
- 12) Carstensen, J. and Leerbeck, E. : Vitamin D₃ residues in pig tissues after parenteral treatment. International Pig Veterinary Society Congress (IPVS) : 284, Copenhagen, Denmark, 1980.

- 13) Church, D.C. y Pond, W.G. : Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales. Limusa, México, D.F., 1990.
- 14) Cremlyn, R. : Plaguicidas Modernos. Limusa, México. D.F., 1985.
- 15) Czernohlavek, E. : Ensayado y aprobado. Salud Pública (Bayer) Z : 21 Alemania, 1990.
- 16) DeLuca, H.F. : Vitamin D: Not just for bones. Developments in vitamin nutrition and health applications. Nutrition Institute: 1-19, Kansas, Missouri, 1990.
- 17) Dreisbach, H.R. : Manual de Toxicología Clínica. 4a ed. Manual Moderno, México, D.F., 1983.
- 18) Ensminger, M.E. : Alimentos y Nutrición de los Animales. Ateneo, Argentina, 1983.
- 19) Espinoza, M.R. : Estudio comparativo de los efectos de la bromadiolona y la warfarina, empleados como rodenticidas en la Cd. de México. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1987.
- 20) Flores, M.J.A. : Bromatología Animal. 3a ed. Limusa, México, D.F., 1983.
- 21) Frandson, R.D. : Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. 4a ed. Interamericana- McGraw-Hill, México, D.F., 1988.
- 22) Galicia, Z.V.D. : Control de roedores con brodifacuoma en una caseta de gallina enjaulada productora de huevo para consumo humano. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1984.
- 23) Gibbons, W.J., Catcott, E.J. y Smitthcors, J.F. : Medicina y Cirugía de los Bovinos. La Prensa Médica Mexicana, México, D.F., 1984.
- 24) González, R.A. : Roedores Plaga en las Zonas Agrícolas del Distrito Federal. Instituto de Ecología, México, D.F., 1980.
- 25) Goodman L.S. y Gilman, A. : Las Bases Farmacológicas de la Terapeutica. 7a ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 1990.
- 26) Gunther, R., Felice, L.J., Nelson, R.K. and Franson, A.M. : Toxicity of a vitamin D₃ rodenticide to dogs. J.Am. vet. med. Ass., 193 : 211-214 (1988)..

- 27) Guyton, A.C. : Tratado de Fisiología Médica. 6a ed. Interamericana, México, D.F., 1985.
- 28) Hafez, E.S.F. : Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 4a ed. Interamericana, México, D.F., 1987.
- 29) Harrington, D.D. and Page, H.E. : Acute vitamin D₃ toxicosis in horses: Case reports and experimental studies of the comparative toxicity of vitamins D₂ and D₃. J. Am. vet. med. Ass., **182** : 1358- 1369 (1983).
- 30) Haschek, W.M., Krook, L., Kallfelz, F.A. and Pond, W.G. : Vitamin D toxicity initial site and mode of action. Cornell Vet., **68** : 324-364 (1978).
- 31) Ituarte, S.R. : Medidas de control de roedores en las instalaciones pecuarias y sus repercusiones socioeconómicas. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1978.
- 32) Kirk, R.W. : Terapéutica Veterinaria. CECSA, México, D.F., 1985.
- 33) Krampitz, G. : Vitamin D in animal nutrition. ROCHE, Switzerland, 1980.
- 34) Lehninger, A.L. : Bioquímica. Omega, Barcelona, España, 1979.
- 35) Lorgue, G., Ph Berry : Les intoxications animales par les rodenticides. La Défense des Végétaux, **255-256** (43). Lyon, France, 1989.
- 36) Luna, G.L.: Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3th ed. McGraw-Hill, U.S.A., 1968.
- 37) Lund, M. : Acompañante del hombre desde hace más de 7000 años. Salud Pública (Bayer) **7**: 8-15, Alemania, 1990.
- 38) Lund, M. : Anticoagulant rodenticides. Rodent Pest Management Boca ratón, Florida, 341-351, CRC Press Inc., 1988.
- 39) Lund, M. : Nonanticoagulant rodenticides. Rodent Pest Management, Boca ratón, Florida, 331-340. CRC Press Inc., 1988.
- 40) Mac Donald, L.E. : Veterinary Endocrinology and Reproduction. 4th ed. Interamericana, 1989.
- 41) Mackenzie, C.P., Burnie, A.G. and Head, K.W. : Poisoning in four dogs by a compound containing Warfarin and Calciferol. J. Small Anim. Pract. **28** : 433-445 (1987).

- 42) Marsh, R. and Tunberg, A. : Characteristics of Cholecalciferol. Rodent control: Other options. Pest Control Technology: s/p (1986).
- 43) Marshall, F.E. : Cholecalciferol: A unique toxicant for rodent control. Proceedings of the eleventh Vertebrate Pest Conference. D.O. Clark, Cal. U.S.A. : 95-98 (1984).
- 44) Maynard, L.A., Loosli, J.K., Hintz, H.F. and Warner, R.G. : Nutrición Animal. 4a ed. McGraw-Hill, México, D.F., 1982.
- 45) Meehan, A.P. : Rat and Mice. Their biology and control. Rentokil Limited East Grinstead, Great Britain, 1984.
- 46) Merck & Co., Inc. : The Merck Index. 11a ed., New Jersey, U.S.A., 1989.
- 47) Miller B.E. and Norman A.W. : Vitamin D. Handbook of Vitamins. Marcel Dekker, Inc., New York, 1984.
- 48) Mosqueda T.A. y Lucio, M.B. : Enfermedades Comunes de las Aves Domésticas. Fac. de Med. Vet. y Zoot. , Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1985.
- 49) Muñoz, O.U.M. : Evaluación comparativa de la bromadiolona y brodifacouma empleados como rodenticidas en la Cd. de México. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1987.
- 50) Myrín, B.S.P. : Estudio anatómico e histológico de la calcinosis en bovinos de México. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Autónoma de México. México, D.F., 1981.
- 51) Naito, Y., Watanabe, E., Sato, R. and Murakami, D. : Effects of large amounts of vitamin D₃ injection on plasma vitamin D₃ metabolites in lactating cows. Jap. J. Vet. Sci., 49 : 121-127 (1987).
- 52) Narbaitz, R., Tsang, C.P.W. and Grunder, A.A. : Effects of vitamin D deficiency in the chicken embryo. Calcif. Tissue Int., 40 : 109-113 (1987).
- 53) National Academy of Sciences : Control de Plagas de Plantas y Animales. Problemas y Control de Plagas de Vertebrados. Vol.5, Limusa, México, D.F., 1988.
- 54) National Research Council : Vitamin Tolerance of Animals. National Academy Press, 1988.
- 55) Niemand, H.G. : Prácticas de Clínica Canina. CECSA, México, D.F., 1987.

- 56) Petrova, E.A., Lazareva, N.P. and Khudadov, G.D.: Content of free and esterified cholecalciferol in rat tissues under conditions of vitamin D intoxication. Vopr. Med. Khim., 26 (3): 325-328 (1980) (Abstract).
- 57) Restrepo, I. : Naturaleza Muerta (los plaguicidas en México). Ciencias, 13: 40-50 (1988).
- 58) Robbins, S.L. y Cotron, R.S. : Patología Estructural y Funcional. 3a ed. Interamericana, México, D.F., 1987.
- 59) Sachs, M., Perlman, R. and Bar, A. : Use of 1α -hydroxy vitamin D_3 in the prevention of bovine parturient paresis. IX Early and late effects of a single injection. J. Dairy Sci., 70 : 1671-1675 (1987).
- 60) Schnorbach, J. : El nuevo método para combatir eficazmente a los ratones. Salud Pública (Bayer) 7 : 16-20, Alemania, 1990.
- 61) Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Rata de Campo. Manual de Operación. Dirección General de Sanidad Vegetal, México, D.F., 1977.
- 62) Shimada, A.S. : Fundamentos de Nutrición Animal Comparativa. Sistema de Educación Continua en Producción Animal en México , México, D.F., 1983.
- 63) Sumano, L.H. y Ocampo, C.L. : Farmacología Veterinaria. McGraw-Hill, México, D.F., 1989.
- 64) Tarrant, K.A. and Westlake, G.E. : Histological technique for the identification of poisoning in wildlife by the rodenticide Calciferol. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 32 : 175-178 (1984).
- 65) Téliz, S.H.F. : Control de rata noruega (*Rattus norvegicus* Berkenhout) en instalaciones porcícolas utilizando el rodenticida de acción lenta 3α -acetoniil-bencil 4 hidroxicumarina (warfarina). Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo, Edo. de México, 1989.
- 66) Thomson, W.T. : Agricultural Chemicals. Thomson Publications, 1988-1989. (revisión)
- 67) Tilley, J.M.A. and Terry, J.H. : Principles and Procedures of Statistics. McGraw-Hill Book. New York, 1960.
- 68) Trigo, T.F.J. : Patología del Sistema Cardiovascular. Patología Sistemica Veterinaria. Vol. 1 . Fac. de Med. y Vet. y Zoot., Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1987.

- 69) Ulacia G.D. : Actualización de usos, farmacología, toxicología y epidemiología de intoxicaciones con warfarina en humanos y animales en el D.F. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1983.
- 70) Underwood, E. : Los Minerales en la nutrición del Ganado. 2a ed. Acribia, Zaragoza, España, 1983.
- 71) Velazco, S.A. y Nava, N.R. : Ratas y Ratones Domésticos. Limusa, México, D.F., 1987.
- 72) Wrzolkowa, T. and Zydowo, M. : Ultrastructural studies on the vitamin D induced heart lesions in the rat. J. of Mol. Cell. Card., 12 : 1117- 1133 (1980).
- 73) Wrzotek, M.A. : The effect of the zinc on vitamin D₃ induced cardiac necrosis. J. of Mol. Cell. Card., 17 : 109-117 (1985).