

Substanțe anabolizante interzise, periculoase pentru consumatorii umani, în conformitate cu reglementările U.E.

Prohibited anabolic substances, dangerous to human consumers, in accordance of E.U. regulations

Flavia A. HANGANU¹, Victor VOICU², Romeo T. CRISTINA¹
FMV Timișoara, ²I.C.P.B.M.U.V.

Rezumat

Substanțele cu efect anabolic sunt folosite pentru a intensifica conversia hranei, rata de creștere sau depunerile de țesut muscular, în fermele de producție, de mai multe decenii. Majoritatea acestor substanțe anabolice au efecte biochimice similare cu steroizii sexuali (androgeni, estrogeni, gestageni). În orice caz, în Uniunea Europeană, utilizarea hormonilor pentru sporirea creșterii la animale sau pentru îngrășare, este interzisă. Monitorizarea reziduurilor promotorilor de creștere hormonală, în carne sau lapte, este esențială pentru punerea în aplicare a acestei interdicții, precum și pentru protecția sănătății publice față de efectele dăunătoare ale acestor substanțe, care întâmplător se mai găsesc în produsele de origine animală.

Cuvinte cheie: substanțe anabolice, periculoase, consumatori umani, legislație U.E.

Abstract

Substances with anabolic effects are used to enhance feed conversion, growth rate or muscle tissue deposition in stock farming for several decades. The majority of these compounds have biochemical effects similar to sex steroids (androgens, estrogens, gestagens). However, in the E.U., the use of hormones for growth – promotion or fattening is prohibited. Monitoring of residues of hormonal growth-promotion in meat or milk, is essential for implementing such bans and to protect public health against the harmful effects of these substances, which incidentally is found in products of animal origin.

Key words: anabolic substances, dangerous, human consumers, E.U. legislation

1. Evoluții

Încă din 1988 Comunitatea Europeană a interzis utilizarea următoarelor substanțe hormonale, folosite ca stimulatori de creștere, la animale:

- *17β estradiol,*
- *testosteron,*
- *progesteron,*
- *zeranol,*
- *acetat de trenbolon și*
- *acetat de melengestrol.*

Această interdicție trebuia să se aplice fără discriminare în cadrul Comunității Europene în așa fel încât pentru importurile care proveneau din țările terțe să se țină cont de la 1 ianuarie 1989. Unele țări terțe, printre care Statele Unite și Canada, au contestat interzicerea utilizării hormonilor de către U.E.

Pentru evitarea conflictelor, doar din anul 1996 a apărut legislația definitivă referitoare la substanțele interzise și la controlul acestora (valabilă și în zilele noastre), precum:

- **Directiva 96/22/CE** - Interzicerea anumitor substanțe cu efect hormonal (cu excepția celor folosite în scop terapeutic sau zootehnic), tireostatice și β-agoniste (prin

abrogarea Directivelor 81/602/CEE, 88/146/CEE și 88/299/CEE),

- Ulterior a apărut **Directiva 2003/74/CE** a Parlamentului și Consiliului European din 22 septembrie 2003, de modificare a Directivei 96/22/CE), și **Directiva 96/23/CE** – Măsuri de monitorizare a anumitor substanțe și reziduuri de la animalele în viață sau din produsele de origine animală,

- **Regulamentul 2377/90** - Stabilește limitele maxime de reziduuri pentru diferite substanțe în produsele de origine animală,

- În fine, în Monitorul Oficial, **Regulamentul 470/2009/CE din 6 mai 2009**, de stabilire a procedurilor comunitare în vederea stabilirii limitelor de reziduuri ale substanțelor farmacologic active din alimentele de origine animală, de abrogare a Regulamentului 2377/90 și de modificare a Directivei 2001/82/CE și a Regulamentului 726/2004/CE.

Conform legislației în vigoare, mai precis în **Directiva 96/22/CE**, substanțele anabolizante interzise sunt:

- 1) Stilbenele și derivați de stilbene
- 2) Tireostaticele
- 3) Steroizii

- 4) Lactonele acidului rezorcilic incluzând zeranol
- 5) Beta agoniștii
- 6) Compușii incluși în Anexa IV din Regulamentul 2377/90 (se aplică până la 4 septembrie 2009).

1.1. Stilbenele și derivații

Pentru prima dată au fost sintetizate și folosite în S.U.A. în anul 1938.

Fără nicio îndoială dietilstilbestrolul sau DES este hormonul de sinteză cel mai cunoscut dintre toți¹.

Datorită progresului științific, prin anii 1960 – 1970 s-a arătat că DES este genotoxic și cancerigen, responsabil de adenomul vaginului, infertilitate, atât la animale cât și la om. Cu toate acestea, producerea sa nu a fost întreruptă imediat⁽¹¹⁾.

Prima dată când s-au folosit hormonii ca stimulatori de creștere la bovine, s-a realizat în anul 1947, când la Universitatea Purdue s-a investigat acțiunea dietilstilbestrolului asupra junincilor.

S-a folosit un implant subcutanat de DES. Inițial s-au observat reacții adverse, printre care edemul vulvei, realizarea saltului și dezvoltarea mamelelor. Mai târziu, oamenii de știință de la Colegiul Statului Iowa, au investigat efectul DES administrat oral.

Stimularea creșterii și rata de îmbunătățire a utilizării hranei, precum și mai puține efecte secundare au fost observate în cazul administrării per os, atât la bovine cât și la ovine.

În anul 1954 *US Food and Drug Administration* a aprobat utilizarea DES pe cale orală, la bovine pentru creștere – finisare. În anul 1957, folosirea implantului cu DES la bovine a fost interzis în U.S.

Cercetările ulterioare au determinat chiar o doză optimă pentru administrarea orală la bovine. Incidența scăzută a reziduurilor de DES în ficat a fost asociată cu utilizarea incorectă a acestuia.

Reziduurile întâmplătoare de DES împreună cu raportul asupra apariției adenocarcinomului la fiicele mamelor care au fost tratate cu DES în timpul sarcinii, au determinat pe reprezentanții de la *US Food and Drug Administration* să scoată de pe piață, în 1981, produsele pentru administrarea orală la bovine, iar în anul următor au interzis și implantul cu DES.

Scoaterea de pe piață a produselor pe bază de DES au condus la apariția altor produse pentru a stimula creșterea la bovine⁽¹²⁾.

Alți reprezentanți pe bază de stilben sunt Dienestrol și Hexestrol.

Stilbenele se absorb în tractusul gastrointestinal, metabolizarea se produce încet în ficat, iar excreția are loc prin urină și prin fecale.

Se folosesc în hipofoliculinemie, vaginite și adenomul de prostată.

Asupra secreției lactate, prin intermediul anterohipofizei, poate determina o activitate antilactagogă, dar se pot instala călduri la câteva zile de la utilizare.

Sunt cei mai practici antagoniști ai hormonilor sexuali masculini, producând castrarea hormonală la vieri și la masculii speciilor de păsări.

Cu rezultate bune se foloseau în tratamentul bolilor testiculare⁽⁷⁾.

Pentru depistarea acestor substanțe se folosește gaz cromatografia cuplată în tandem cu spectrometrie de masă (GC-MSMS).

1.2. Tireostaticile

Reprezentanții acestei grupe sunt din punct de vedere chimic derivați de tiouree radicalii: metil-, etil-, dimetil-, propil-, benzil-, feniltiouracil, Tapazol, Carbimazol, Mercapto-benzimidazol.

Aceste substanțe acționează prin deprimarea funcției de sinteză a hormonilor tiroidieni. Datorită opririi formării hormonului și scăderii metabolismului bazal, are loc umplerea tractului gastrointestinal, retenția apei la nivel tisular și prin urmare animalul va avea o greutate mai mare.

Prin administrarea acestor substanțe se face de fapt: vânzarea apei la preț de carne.

Calitatea cărnii provenită de la animalele tratate cu tireostatic este slabă, iar mușchii și organele conțin reziduuri ce reprezintă un risc potențial pentru sănătatea omului, datorită proprietăților teratogene și carcinogene ale acestor substanțe.

¹ Biochimistul englez Charles Edward Dodds a fost cel care l-a sintetizat. Începând cu anul 1946, DES a fost administrat femeilor însărcinate pentru a preveni riscul avortului spontan. La animale s-a folosit ca accelerator de creștere. Chiar din 1938, Dodds alerta lumea științifică de pericolele invenției sale, opunându-se pentru producerea pilulelor anticoncepționale pe bază de DES. În pofida acestui avertisment, sute de mii de femei însărcinate au fost tratate cu acest hormon periculos după cel de-al doilea război mondial. Fiicele mamelor care au luat DES în timpul sarcinii, aveau cu 50% șanse mai mici de-a avea la rândul lor o sarcină fără probleme. La acestea, avortul spontan în primele patru luni a fost mai numeros, iar riscul nașterii premature era mai crescut. Fiicele mamelor tratate cu DES au manifestat o incidență crescută a unei forme rare de cancer și a endometriozei, iar fiii mamelor tratate cu DES au înregistrat o frecvență crescută a criptorhidiei, hipospadiasului, iar ca adulți, oligospermie (14).

Utilizarea medicației tireostatice, în scopul îngrășării animalelor a fost interzisă din 1981, în toate statele membre U.E. Deoarece producțiile în efectivele de animale au crescut, folosirea ilegală a promotorilor de creștere rămâne o problemă importantă. Interpretarea probelor suspecte este o chestiune de finețe, mai ales în cazul în care trebuie făcută diferențierea între probele ce conțin tiouracil de origine naturală sau sunt o consecință a abuzului intenționat.

Terapeutic, se administrează la animale în boala Basedow și adenom tireotoxic⁽⁷⁾.

1.3. Steroizii

Hormonii steroizi sunt sintetizați la nivelul gonadelor, placentei și în partea corticală a glandelor suprarenale dintr-un precursor comun, colesterolul.

În urma scindării catenei laterale a colesterolului se formează *pregnelonul*.

În funcție de țesutul și complexul enzimatic prezent, *pregnelonul* poate fi transformat în progesteron sau testosteron sau poate fi aromatizat formând diferiți estrogeni (estronă sau estradiol).

Hormonii steroizi sunt folosiți pentru îngrășarea animalelor, datorită capacității lor de a le crește masa musculară și de a le îmbunătăți rata de conversie a hranei.

De asemenea, efectele sinergice ale acestora și abilitatea de a reduce retenția azotului și de a crește conținutul de grăsime au fost demonstrate în literatura de specialitate. La fel și corticosteroizii pot fi folosiți ilegal pentru îngrășarea animalelor, mai ales datorită efectului sinergic pe care îl au în combinație cu alți steroizi anabolizanți sau chiar cu beta agonisți⁽³⁾.

1.4. Estrogenii

Estrogenii steroizi naturali includ: 17β – estradiolul, estrona și estriolul.

Influențează caracterele sexuale femele, dezvoltarea glandei mamare; ei induc comportamentul estral la femele și libidoul la masculi. Printre altele, au efecte asupra metabolismului general, inclusiv asupra distribuției grăsimilor în corp, creșterea oaselor și sinteza proteică în numeroase țesuturi.

Estrogenii steroizi sintetici includ substanțe cum ar fi: benzoatul sau valeratul de estradiol, care în momentul hidrolizei eliberează molecula de bază. Creșterea potenței estrogenilor este obținută prin

introducerea grupărilor etilen în pozițiile C-17 sau formarea unui eter ciclopentil la C-3.

Ultimul compus având o acțiune mai prelungită (de ordinul săptămânilor)⁽⁷⁾. Durata acțiunii estrogenilor sintetici este direct proporțională cu lungimea lanțului de carbon.

1.5. Androgenii

Androgenii naturali care prezintă importanță majoră sunt: *testosteronul, dihidrotesteronul și androsteronul*.

La masculi, androgenii stimulează spermatogeneza, creșterea, dezvoltarea și secreția de fluid de la nivelul testiculelor, apariția caracterelor secundare masculine, dezvoltarea musculară.

La femele sunt principalii precursori ai sintezei de estrogeni din foliculi.

Fac parte de asemenea, din sistemul de feedback negativ care controlează LH-ul și FSH-ul.

Androgenii sintetici sunt reprezentați de către: *nandrolona, metiltesteronul, 17β-boldenona, metilboldenona, trenbolona, stanozololul, noretandrolona* etc.

Creșterea potenței androgenilor se realizează prin esterificarea la gruparea 17 – OH unui acid organic.

Astfel se obține o acțiune mai prelungită în timp prin eliberarea lentă în circulație și la fel ca la estrogenii sintetici, durata acțiunii este direct proporțională cu lungimea lanțului de carbon.

Androgenii favorizează retenția sodiului ceea ce va conduce la o retenție de fluide suficient de mare pentru a conduce și agrava o insuficiență cardiacă.

Printre altele, aceștia exacerbează hipertrofia prostatei și dezvoltarea tumorală⁽¹⁾.

1.6. Progestagenii

Progesteronul este secretat în organismul femelelor, de corpul galben în prima perioadă a gestației. În continuare, funcția de secreție a acestui hormon este preluată de corticosuprarenale și de către placentă.

Rolul său este de a pregăti miometrul pentru procesul de nidație, pregătirea glandei mamare pentru viitoarea lactație, efect antigonadotrop.

Se elimină prin urină sub formă de pregnanolon și pregnadiol.

Produșii de sinteză cei mai importanți sunt: medroxiprogesteron, acetatul de megesterol, acetatul de clormadinon, acetatul de delmadinon, acetat de melengestrol⁽⁷⁾.

1.7. Lactonele acidului rezorcilic

Lactonele acidului rezorcilic sunt agenți anabolizanți folosiți la animalele de fermă.

Acestea au fost descoperite când s-a observat că porcii hrăniți cu porumb mucegăit au avut o rată de creștere mai mare.

În urma izolării în laborator a speciei de fungi din porumbul mucegăit, numeroși derivați au fost sintetizați, printre care și Ralgro⁽²⁾.

Zearanolul (α -zearalanol) este un stimulator de creștere estrogenic non – steroid. Este produs de reducerea chimică a zearalenonei cunoscută și ca toxină produsă de *Fusarium spp.*

Zearanolul a fost folosit pe scară largă ca stimulator de creștere la animalele de rentă pentru a crește rata de masă obținută, pentru a îmbunătăți conversia hranei și pentru a reduce stress - ul la vacă⁽⁴⁾.

Încă din 1990, luându-se în considerare proprietățile intrinsece ale hormonilor și descoperirile științifice, folosirea zearanolului și a altor substanțe hormonale naturale sau sintetice pentru stimularea creșterii animalelor de fermă, a fost interzisă de către Uniunea Europeană⁽⁵⁾.

Zearanolul și metabolitul său primar taleranolul (β -zearalanol) sunt lactonele acidului rezorcilic, care de asemenea includ: α -zearalenolul, β -zearalenolul, zearalenona și zearalanona.

KATZENELLENBOGEN și col. a descoperit faptul că lactonele acidului rezorcilic interacționează cu receptorii pentru estradiol și mimează acțiunea acestora, respectiv și efectele secundare⁽⁸⁾.

Beta-agoniștii

Catecolaminele sunt substanțe chimice produse de către glandele suprarenale.

Ele formează un grup de compuși denumit beta-agoniști care au efecte hormonale. Ele sunt activate când sunt administrate pe cale orală, iar în cazul producției de carne, se administruau, mai ales pentru a provoca schimbări ale compoziției carni, ce antrenau pierderea cantității de grăsime și creșterea conținutului de carne slabă⁽¹⁰⁾.

Clenbuterolul și **salbutamolul** sunt catecolamine și au fost folosite, până la interzicerea lor pentru creșterea performanțelor sportivilor⁽¹³⁾.

Beta agoniștii folosiți doar terapeutic, conform legislației europene, sunt

clenbuterolul în caz de bronhodilatație la cai și viței și în caz de tocoliză la vaci.

Folosirea β -agoniștilor pe lângă acțiunea principală de bronhodilatator și tocolitic, crește raportul de carne slabă pe grăsime și aduc o îmbunătățire a eficienței de conversie a furajelor⁽⁹⁾.

În martie 1996, UE a extins interzicerea folosirii hormonilor ca promotori de creștere la beta agoniști (Directiva 96/22/EC), iar controlul și sancțiunile cu privire la folosirea ilegală au fost strânse în Directiva 96/23/EC.

Anexa IV din Regulamentul 2377/90

În anexa IV din **Regulamentul (CEE) nr. 2377/90 al consiliului Europei din 26 iunie 1990 de stabilire a unei proceduri comunitare pentru stabilirea limitelor maxime de reziduuri de produse medicinale veterinare în alimentele de origine animală**

sunt incluse următoarele substanțe:

- Cloramfenicol,
- Cloroform,
- Clorpromazină,
- Colchicină,
- Dapsona,
- Dimetridazol,
- Metronidazol.
- Nitrofurani (incluzând furazolidona) și
- Ronidazol,

care datorită efectelor secundare grave atât la om cât și la animale, au fost interzise de la utilizare iar în anexa V:

Informații și date care trebuie să figureze într-o cerere de stabilire a limitei maxime de reziduuri pentru o substanță farmacologic activă utilizată în medicamentele de uz veterinar:⁽⁶⁾.

Informații administrative

1. Numele sau numele firmei și domiciliul sau sediul social ale solicitantului.
2. Denumirea medicamentului de uz veterinar.
3. Compoziția calitativă și cantitativă în ceea ce privește principiile active, cu denumirea comună internațională recomandată de Organizația Mondială a Sănătății (OMS), dacă această denumire există.
4. Autorizație de fabricare, dacă este cazul.
5. Autorizație de punere în circulație, dacă este cazul.
6. Rezumatul caracteristicilor medicamentului sau medicamentelor de uz veterinar elaborat în conformitate cu articolul 5b din Directiva 81/85/CEE.

A. Documente de securitate

A.0. Raportul de expertiză

- A.1. Identificarea exactă a substanței care face obiectul cererii
 - 1.1. Denumirea comună internațională (DCI).
 - 1.2. Denumirea dată de Uniunea Internațională de Chimie Pură și Aplicată (IUPAC).
 - 1.3. Denumirea din Chemical Abstract Service (CAS).
 - 1.4. Clasificare:
 - terapeutică,

- farmacologică.
- 1.5. Sinonime și abrevieri.
- 1.6. Formula structurală.
- 1.7. Formula moleculară.
- 1.8. Masa moleculară.
- 1.9. Procentul de impurități.
- 1.10. Compoziția calitativă și cantitativă în ce privește impuritățile.
- 1.11. Descrierea proprietăților fizice:
 - punctul de fuziune,
 - punctul de fierbere,
 - presiunea vaporilor, solubilitatea în apă și în solvenți organici exprimați în g/l, cu indicarea temperaturii,
 - densitatea,
 - indicele de refracție, rotație etc.

A.2. Studii farmacologice pertinente

- 2.1. Farmacodinamie.
- 2.2. Farmacocinetică.

A.3. Studii toxicologice

- 3.1. Toxicitate în cazul administrării unice.
- 3.2. Toxicitate în cazul administrării repetate.
- 3.3. Toxicitate la animalul tratat.
- 3.4. Toxicitate în procesul reproducerii, în special intensitatea efectelor teratogene.
 - 3.4.1. Studii ale efectelor asupra reproducerii.
 - 3.4.2. Efecte toxice asupra embrionului, asupra dezvoltării perinatale și postnatale, în special intensitatea efectelor teratogene.
- 3.5. Intensitatea efectelor mutagene.
- 3.6. Intensitatea efectelor cancerigene.

A.4. Studii asupra altor efecte

- 4.1. Imunotoxicitate.
- 4.2. Proprietăți microbiologice ale reziduurilor.
 - 4.2.1. Efecte asupra florei intestinale a omului.
 - 4.2.2. Efecte asupra organismelor și microorganismelor utilizate în industria alimentară.
- 4.3. Observații la om.

B. Informații privind reziduurile

- B.0. Raportul de expertiză
- B.1. Identificarea precisă a substanței care face obiectul cererii Substanța respectivă este identificată în conformitate cu punctul A.1. Totuși, în cazul în care cererea se referă la unul sau mai multe medicamente de uz veterinar, este necesar ca produsul să fie identificat detaliat, în special în ceea ce privește:
 - compoziția calitativă și cantitativă,
 - puritatea,
 - identificarea lotului de fabricație folosit în cazul studiilor; relațiile cu produsul final,
 - activitatea specifică și puritatea din punct de vedere radioactiv a substanțelor marcate,
 - poziția atomilor marcați în moleculă

B.2. Studii ale reziduurilor

- 2.1. Farmacocinetică (absorbția, repartitia, bio-transformarea, eliminarea).
- 2.2. Dispariția reziduurilor.
- 2.3. Stabilirea LMR.

B.3. Metoda de analiză de rutină care poate fi utilizată pentru detectarea reziduurilor

- 3.1. descrierea metodei.
- 3.2. validarea metodei.
 - 3.2.1. specificitatea;
 - 3.2.2. gradul de exactitate inclusiv sensibilitatea;
 - 3.2.3. precizia;
 - 3.2.4. limita de detecție;
 - 3.2.5. limita de cuantificare;
 - 3.2.6. practicabilitatea și aplicabilitatea în condiții normale de laborator;
 - 3.2.7. sensibilitatea la interferențe.

BIBLIOGRAFIE

1. **BARRETT - CONNOR E. L. (1995).** Testosterone and risk factors for cardiovascular disease in men. *Diabetes Metab.* 21: pp. 156–151.
2. **BROWN R.G. (1980).** Ralgro Manual: Toxicology and Tissue residues of Zeranol. International Mineral and Chemical Corp.
3. **CLARK J. H., SCHRADER W. T., O'MALLEY B. W. (1992).** Mechanism of action of steroid hormones. In: Wilson J. D., Foster D. W. (eds) Williams textbook of endocrinology, 8th edn. Saunders, Philadelphia, pp 35–90.
4. **COLE N.A., HUTCHSON D.P., MC LAREN J.B., PHILLIPS W.A.J. (1984).** *J. Anim. Sci.* 58:527.
5. **COUNCIL DIRECTIVE 96/22/EC. Off. J. Eur. Communities.** L125 (1996) 3.
6. **COUNCIL REGULATION (EEC) N°2377/90** of 26 june 1990, laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin (OJ N° L 224, 18.8.1990). **ANNEX IV: List of pharmacologically active substances for which no maximum levels can be fixed** (List established in accordance with the procedure laid down in Article 8).
7. **CRISTINA R.T. (2006).** *Introducere în farmacologia și terapia veterinară.* Cap. 14. Substanțele hormonale. Ed. Solness, Timișoara.
8. **KATZENELLENBOGEN B. S., KATZENELLENBOGEN J. A., MORDECAI D. (1979).** Zearalenones : Characterization of the estrogenic potencies and receptor interactions of a series of fungal β -resorcylic acid lactones. *Endocrinology* 105: pp. 33-40.
9. **MOLONEY A. P, BEERMANN D. H. (1996).** Mechanisms by which β - adrenergic agonists alter growth and body composition in ruminants. *Residues of veterinary drugs in food*, 42: 457.
10. **PARRAT M. F., LACOURT A., BERGE P., BERRI M., LACOURT P., BAUDRY F. (1990).** Utilisation d'un β -agoniste (clenbuterol) pour la production de veau de boucherie. I: Influence sur la croissance musculaire. *Viandes Prod. Carnes* 11:233.
11. **Qu'est-ce que le distillène.** <http://d.e.s.cherz-alice.fr/histoire.htm> (accesat în mai 2009).
12. **RAUN A. P., PRESTON R. L. (2002).** *History of diethylstilbestrol use in cattle.* <http://www.asas.org/oldsite/Bios/Raunhist.pdf> (accesat în mai 2009).
13. **TANIA NGAPO, GARIEPY C. (2004).** *Les anabolisants dans la production du veau.* www.agrireseau.qc.ca/.../Hormones%20de%20croissance%20%20Revue%20de%20litt%E9ratur e.pdf (accesat iunie 2009).
14. **THEO COLBORN, DIANE DUMANOVSKI ,JOHN PETERSON MYERS (1996).** Dutton Press – *Our Stolen Future: Are We Threatening Our Fertility, Intelligence and Survival ?* Sheldon Krinsky – 2000 – *Hormonal Chaos : The Scientific and Social Origins of the Environmental Endocrine Hypothesis.* John Hopkins University Press, Baltimore, MD