

# CLENBUTEROL ( $\beta_2$ -AGONISTA ADRENÉRGICO), ENMASCARA LAS PATOLOGÍAS HEPÁTICAS EN BOVINOS

CLENBUTEROL ( $\beta_2$ -ADRENERGIC AGONIST), MASKTHELIVERPATHOLOGYIN CATTLE

Clenbuterol enmascara las patologías hepáticas

Caicedo Rivas R. E.<sup>1\*</sup>; M. Paz-Calderon Nieto<sup>1</sup> y S. V. Badillo M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología de la Reproducción y Malacología, Escuela de Biología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Boulevard Valsequillo y Ave, San Manuel s/n, Ciudad Universitaria, Edificio No.112-A. Puebla, Puebla C.P: 72570. \*ricaido@yahoo.com

## Abstract

Clenbuterol considered a potent  $\beta_2$ -adrenergic-agonist-synthetic. Used as a bronchodilator in domestic animals and human during lung conditions, however, is currently used as an anabolic, increasing body mass through a mechanism of glycogenolysis, glycolysis, degrades the accumulated fat and nitrogen to form amino acids and then to form cell structures that give rise to skeletal muscle, considered a real distributor of energy, however, actual damages on the same metabolic pathways is unknown, this study was to determine the effects that this  $\beta_2$ -agonist activity in bovine liver, many masks as liver disease, for that blood samples were collected from 250 cattle (Bt X Bi), fed this food additive and animal controls where they were not given  $\beta_2$ -agonist-adrenergic (clenbuterol), data indicate that when comparing the control transaminase AST (533,9 $\pm$ 0,26 U/L), compared animals with *Fasciola hepatica* with a value of 751,5 $\pm$ 0,23 U/L), animals with clenbuterol 264,7 $\pm$ 0,22 U/L, compared with animals with clenbuterol and F.h (499,6 $\pm$ 0,20 U/L), the latter values are very similar to the control, in males, while in females this parameter metabolic control compared to animals with clenbuterol and F.h, values are similar (434,5 $\pm$ 0,65 and 436,4 $\pm$ 0,62 U/L, respectively), in other hand, glucose levels in both females and males remains very high and similar in animals treated with clenbuterol and F.h. The study shows that beta-agonist that acts as an anabolic increasing body mass of animals.

## Palabras clave:

Anabólico  
Perfil metabólico  
Masa corporal

## Keywords:

Anabolic  
Metabolic  
profile  
Body mass

## Resumen

El clenbuterol considerado como un potente  $\beta$ -agonista-adrenérgico sintético, utilizado como broncodilatador en animales domésticos y humanos, durante afecciones pulmonares, sin embargo, en la actualidad es utilizado como anabólico, ya que aumenta la masa corporal a través de mecanismo de glucogenólisis, glucolisis, degrada las grasa y acumula nitrógenos, para formar aminoácidos y de allí a formar estructuras celulares que darán origen al musculo esquelético; considerado como un verdadero repartidor de energía, sin embargo, los daños reales del mismo sobre las rutas metabólicas se desconoce, este estudio consistió en determinar los efectos que tiene este  $\beta_2$ -agonista sobre las actividades hepáticas en bovinos y como enmascara amuchas afecciones hepáticas, para ello se colectaron muestras de sangre de 250 animales Bovinos (Bt X Bi); alimentados con este aditivo alimenticio y animales controles donde no se les suministro el beta-agonista (clenbuterol) los datos indican que cuando se compara las transaminasa AST del control (533,9 $\pm$ 0,26 U/L) con respecto animales con *Fasciola hepatica* cuyo valor es de 751,5 $\pm$ 0,23 U/L, animales con clenbuterol 264,7 $\pm$ 0,22 U/L, en comparación con animales con clenbuterol y F.h (499,6 $\pm$ 0,20 U/L) estos últimos valores son muy semejantes al control, en machos, mientras que en hembras este parámetro metabólico, el control con respecto a animales con clenbuterol y F.h, los valores son similares (434,5 $\pm$ 0,65 y 436,4 $\pm$ 0.62 U/L, respectivamente), por otro lado, los valores de glucosa tanto en hembras como en macho se mantiene muy elevados y similares en animales tratados con clenbuterol y animales con F.h y clenbuterol. El estudio demuestra que este beta-agonista disfraza la fasciolosis, adherencia y tumores hepáticos cuando son tratados con beta-agonista y que actúa como un anabólico aumentando la masa corporal de los animales.

## Introducción

Las patologías hepáticas en la actualidad son muy frecuentes en bovinos como: la hepatitis intersticial multifocal parasitaria, colangiectasia, hepatitis purulenta multifocal, abscesos hepáticos, colangiectasia por obstrucción, fibrosis y cirrosis hepática; se ha observado que a nivel de rastro los animales que son alimentados con aditivos alimenticios (clenbuterol), desarrollan ciertas patologías hepáticas ya mencionadas arriba y que estas patologías impiden el buen funcionamiento de las estructuras hepáticas en bovinos (Caicedo *et al.*, 2010 y Torres 2010), cuando el clenbuterol se da en grandes cantidades produce inflamación de la arquitectura hepática y de los conductos biliares, con frecuencia de carácter crónico y acompañada de trastornos nutritivos, por otro lado los  $\beta_2$ -agonistas como el clenbuterol tiene como función principal en animales domésticos incrementar la constitución corporal del animal, además, se menciona que las parasitosis como la Fascioliasis, y la hepatitis intersticial multifocal parasitaria, estas producen cambios también en la estructura hepática y bioquímicos en el parénquima hepático, estas parasitosis cursan una anemia, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia, también es frecuente la eosinofilia, anemia, hipoalbuminemia y altos niveles de transaminasas (ALT/GPT y AST/GOT) en suero (Rowlands and Clampitt R.B. 1979). El incremento de la actividad plasmática de diferentes enzimas de origen hepático es característico de las dos fases (Ortega and Caicedo 2008). Sin embargo, el clenbuterol se considera un fármaco  $\beta_2$ -agonista, como un potente broncodilatador, anabólico y agente lipolítico en muchas especies; es un agente de repartición en virtud de que incrementa la producción de proteína y reduce las grasas. En el ámbito internacional como nacional está prohibido su uso como promotor de la producción de carne. En México se ha incrementado el uso de este aditivo en forma impresionante, hasta un 100% de los animales utilizados para el consumo humano, ya que desde septiembre del 2006 se pierde en dos rastros municipales del estado de Puebla más de \$25 millones (\$2.0 Millones USD, aproximadamente) de pesos en decomisos de hígado de res. Por otro lado, en zonas de alta densidad ganadera, se utiliza el clenbuterol para incrementar la masa muscular de cerdos, bovinos y ovinos (Kuri *et al.*, 2007). El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del clenbuterol en la fisiología hepática de bovinos y como puede enmascarar las patologías en este órgano.

## Material y métodos

**Áreas de estudio:** Los animales muestreados, provenían de diferentes zonas geográficas del Estado de Puebla, el cual podemos mencionar: Mixteca Poblana, Sierra Norte, Sierra Negra, y provenían de otros estados como: Chiapas, Guerrero, Morelos, Oaxaca y Veracruz. Todos los animales fueron alimentados con clenbuterol.

**Animales:** Se utilizaron bovinos de ceiba (*Bos taurus* X *Bos indicus*) y animales de descarte que estaban en producción de leche, los mismos fluctuaron en edades que iban desde 18 a 42 meses, de estos el 16.7 % fueron hembras y 83.3% fueron machos. Todos con una condición corporal de 4 y 5. Fueron alimentados durante todo su periodo de engorda (por más de 150 días) con clenbuterol mezclado con marmolina, sorgo y maíz y forraje seco (zacate). Los animales no entran en un periodo de descanso cuando son alimentados con clenbuterol, una vez alcanzado el peso de sacrificio son llevados al rastro.

**Toma de muestras:** Se tomaron muestras de 250 bovinos (*Bos taurus* X *Bos indicus*), estos animales se clasificaron de la siguiente manera: a) clínicamente sanos (CS), b) alimentados con Clb (AcClb) c) alimentados sin clenbuterol (AsClb), d) con otras patologías hepáticas (O) y d) con fascioliasis (*F.h*) e) con fascioliasis y Clb (cClb*F.h*). Se tomaron muestras en tubos de ensayo al vacío y con EDTA, el primero para obtener el suero sanguíneo para la determinación del perfil metabólico y el otro tubo para la realización del frotis sanguíneos para el recuento diferencial de leucocitos. La sangre sin EDTA fue centrifugada a 2,500 rpm / 10 min., el suero obtenido se separó en tubos eppendorf, una vez obtenido fueron congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis de metabolitos sanguíneos (se utilizó kit diagnóstico marca Bio-System, USA), las mediciones se realizaron en un espectrofotómetro (Spectronic 20). Para la determinación del clenbuterol se utilizó el kit RIDASCREEN, Clenbuterol Fast (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany).

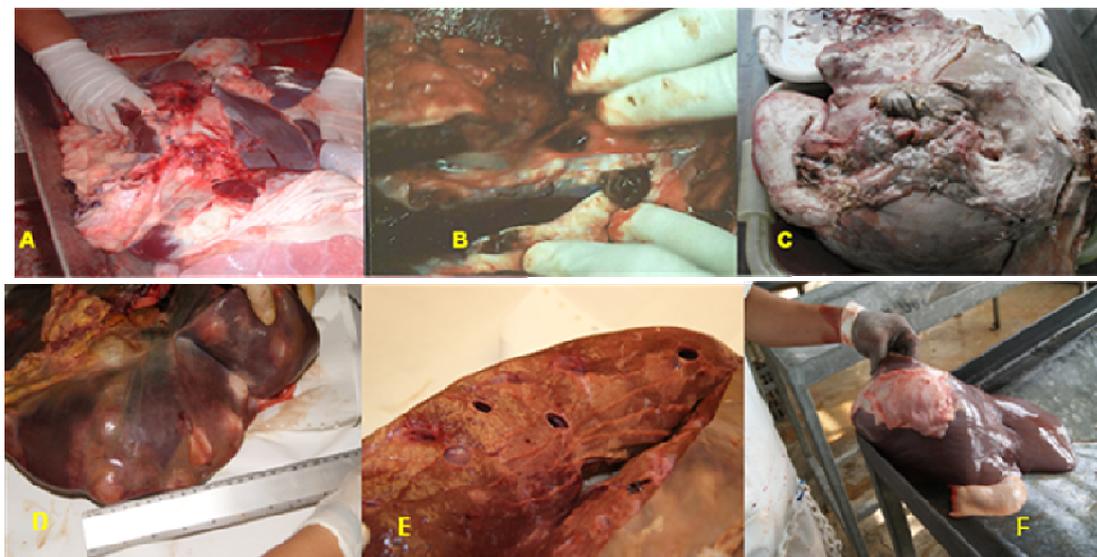
**Análisis estadístico:**

Los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el programa estadístico Stat2 (Olivares, 1994) y para determinar la significancia entre promedios se utilizó Duncan's New múltiple range test. Se graficaron con el programa Cricket graph (Macintosh).

## Resultados y discusión

Los resultados fueron obtenidos de un grupo de 250 animales (*Bos taurus* X *Bos indicus*). Con base a la información obtenida el 63,6 % de los animales tuvieron afecciones hepáticas, la prevalencia de bovinos que

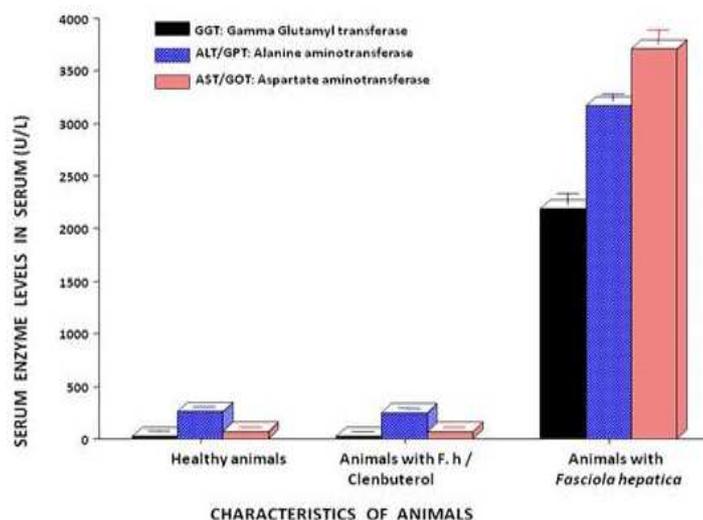
presentaron un parasitismo a nivel hepático fue de 23,7% por *Fasciola hepatica* y de *Ascaris* spp de 2.9%. Podemos decir Se quiere decir que el Clenbuterol se ha autorizado en la Unión Europea y en los Estados Unidos de Norteamérica para su uso terapéutico en bovinos y equinos y mascotas (Kuiper *et al.*, 1998), pero en México esta prohibido por Norma Federal (061-2002). Por otro lado, se considera como dosis terapéutica (DT) 0.8 µg/kg de peso corporal dos veces por día, uno de las características muy particulares de este estudio es que los animales son alimentados con Clb, por más de 110 días continuos (Caicedo *et al.*, 2009), esto implica que las alteraciones a nivel metabólico y hepático son evidentes en este estudio, sin embargo,, la duración máxima del tratamiento en ganado no lactante permitido es de 10 días por vía oral o intravenosa (Meyer and Rinke, 1991; Beerman *et al.*, 1986 y Sumano *et al.*, 2002). En bovinos puede emplearse además la vía intramuscular. El uso ilegal del clenbuterol y análogos en el ganado, es toda dosis que supere la dosis terapéutica (Sauer *et al.*, 1995). Los resultados obtenidos en relación al recuento diferencial es el siguiente: en Machos el numero de Neutrófilos en animales sanos su valor fue de  $54.9 \pm 1.7$  (figura 1-A), en bovinos con hepatomegalia y Clb  $46.2 \pm 1.3$  (figura 1-C); con *F. hepatica*  $47.8 \pm 3.0$  (figura 1-B), en hembras sanas  $50.7 \pm 2.2$ , con abscesos hepáticos crónicos  $34 \pm 2.7$  (figura 1-F), con Telangiectasia  $44.6 \pm 2.9$  y con *F. hepatica*  $46.5 \pm 4.1$ , en cuanto al número de eosinófilos fluctuó grandemente en machos sanos:  $2.0 \pm 0.1$ , con hepatomegalia y Clb  $5.4 \pm 0.2$ , con *F. hepatica*  $9.3 \pm 0.1$ ; en hembras sanas  $2.9 \pm 0.4$ , con abscesos hepáticos crónicos  $29.0 \pm 2.3$ , con hepatitis purulenta multifocal  $16.5 \pm 0.1$  (figura 1-D), con Telangiectasia  $7.0 \pm 0.1$  y con *F. hepatica* de  $9.4 \pm 0.3$ , estos nos demuestra que los animales tanto hembras como en macho el incremento de los eosinófilos es significativo y esto dependerá del grado del daño hepático que tenga el animal.



**Figura 1.** Diferencias morfológicas y estructurales de diferentes hígados obtenidos en rastros municipales del estado de Puebla, México A) hígado sin ningún tipo de alteración B) hígado con *Fasciola hepática* C) hígado con *Fasciola hepatica* y con clenbuterol la coloración cambia cuando los niveles de este beta-agonista es elevado se produce una hepatomegalia, D) se muestra a un hígado con hepatitis purulenta multifactorial E) hígado con fibrosis hepatica y F) Abscesos hepáticos crónicos (*Morphological and structural differences of various municipal slaughterhouse livers obtained from state A) liver without any alteration B) liver with Fasciola hepatica C) liver with clenbuterol Fasciola hepatica and the color changes when the levels of this beta-agonist is high produces hepatomegaly, D) shows a liver with hepatitis purulent multifactorial E) liver with liver fibrosis and F) chronic liver abscesses*)

En cuanto al perfil metabólico se muestran valores de Urea/BUN en machos sanos con valor de  $26.4 \pm 1.5$ , en comparación aquellos que presentaron hepatomegalia cuyo valor detectado fue de  $7.8 \pm 0.23$  mg / dL, y con fascioliasis de  $13.9 \pm 1.9$  mg / dL. En cuanto a las transaminasa la AST/GOT el valor del control fue de  $533.9 \pm 0.26$  U/L, con respecto animales con *Fasciola hepatica* cuyo valor fue de  $751.5 \pm 0.23$  U/L, animales con clenbuterol  $264.7 \pm 0.22$  U/L, en comparación con animales con clenbuterol y *F.h* ( $499.6 \pm 0.20$  U/L), estos últimos valores son muy semejantes al control, en machos; mientras que en hembras este parámetro metabólico, el valor del control con respecto a animales con clenbuterol y *F.h*, fue de  $434.5 \pm 0.65$  y  $436.4 \pm 0.62$  U/L, respectivamente, ambos son casi similar. Las anomalías hepáticas en este estudio demuestran que todos los

animales con una alimentación basada en clenbuterol como aditivo alimenticio desarrollan anomalías a nivel del sistema hepático (Fiems, 1987, Smith, 1998, Caicedo *et al.*, 2010).



**Figura 2.** Valores enzimáticos hepáticos de animales clínicamente sanos, en comparación con animales con fascioliasis y con clenbuterol, bovinos con fascioliasis muestran un nivel muy elevado de enzimas (GGT, ALT/GPT y AST/GOT), el aumento es significativo ( $*p < 0,05$ ). Los animales con clenbuterol, su comportamiento hepático enzimático es casi similar a los bovinos clínicamente sanos, esto es una prueba que el beta-agonista (clenbuterol) enmascara esta enfermedad [*Values of hepatic enzyme asymptomatic animals compared to animals with fascioliasis and clenbuterol, cattle with fascioliasis showed a very high level of enzymes (GGT, ALT / GPT and AST / GOT), the increase is significant ( $* p < 0.05$ ). Animals with clenbuterol, liver enzyme behavior is almost similar to clinically healthy cattle, this is proof that beta-agonist (clenbuterol) masks the disease*]

### Conclusiones

Los datos que se muestran en este estudio nos indican que los animales son alimentados con sobredosis (anabólico) de clenbuterol por un periodo muy prolongado, y a pesar que los hígados están parasitados por *Fasciola hepatica* o *Ascaris* spp, los animales no muestran ningún comportamiento anómalo en base a estos parásitos, el comportamiento hepático con el clenbuterol se mantiene normal en cuanto a su metabolismo y a las actividades del hígado que realiza, ya que el animal sigue ganando peso, a pesar de todas las patologías que llega a desarrollar. En conclusión este aditivo alimenticio por ser un componente altamente dañino (al administrarse en forma anabólica) al animal permite que el bovino gane peso, a pesar del daño que tiene en su estructura hepática, el clenbuterol realmente, enmascara las patologías hepáticas sin embargo, se precisa realizar más estudios para poder determinar la biodisponibilidad y la biotransformación de este aditivo alimenticio a nivel hepático principalmente.

### Agradecimientos

Agradecemos a la Vicerrectoría de investigación y estudios de posgrado por haber apoyado este proyecto con código CARR-NAT10-1

### Bibliografía

- Bermann, D.H. Bittler, W.R., Hogue, D.E., Fishell, V.K., Darrymple, R.H., Ricks C.A. and Scanes C.G. 1986. Toxicity of clenbuterol, beta adrenergic in animals. *J. Anm. Sci.* 65:1514-1524.
- Caicedo R. R.E., Torres Beltrán A., Hernández, Zepeda J.S., Reséndiz Martínez R., Pérez y Terrón. R. y Cabrera Bautista E. 2009. Effects of beta agonist in the diagnosis of fasciolosis in animal ruminant *Bos indicus* X *Bos taurus*, in the State of Puebla, Mexico. In International Symposium on sustainable Improvement of animal production and health.FAO/IAEA, Vienna, Austria, Vol1: 183-187.

- Caicedo R. R.E., Torres Beltrán A., Martínez Badillo, S.V., Paz Calderón Nieto M., Ramírez Peñaloza M.P., Hernández, Zepeda J.S., Reséndiz Martínez R., Cabrera Bautista E., y Silvia Gómez S.E. 2010. Efectos de los beta-agonistas (clenbuterol), en las actividades fisiohepáticas y reproductivas en rumiantes, En: XI Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zogénéticos. Joao Pessoa- Paraíba-Brasil, pp. 460-465.
- Fiems, L.O. 1987. Effect of beta-adrenergic agonist in animal production and their mode of action. *Ann. Zootech.* 36(3), 271-290.
- Kuri M.P.; Parres, FJA.; Aguilar V.K. and Mújica V.Y. 2007. Intoxicación por Clenbuterol (segunda y última parte). Boletín del Centro Nacional de Vigilancia epidemiológica y Control de enfermedades de la secretaría de Salud. 10-13.
- Kuiper, H. A., Noordam, M. Y., van Doore-Flipsen, M. M. H., Schilt, R. & Roos, A. H. 1998. Illegal Use of  $\beta$ -Adrenergic Agonists: European Community. *J. Anim. Sci.* 76:195-207.
- Meyer, H.D. y Rinke, M.L. 1991. The pharmacokinetics and residues of clenbuterol in veal calves. *J. Anim. Sci.*, 69:4538-4544.
- Ortega Ch.V. and Caicedo Rivas, RE. 2008. Physiopathologic effects in bovines (*Bos taurus* X *Bos indicus*) with fascioliasis. In: Xth. European Multicolloquium of parasitology from Satellites to microsattellites. P-324, pag. 194.
- Rowlands, D.T. and Clampitt, R.B. 1979. Plasma enzyme in ruminants infected with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitology*, 5:155-175.
- Sauer, M. J., Ickett, R. J. H., Limer, S. & Dixon, S. N. 1995. Distribution and elimination of clenbuterol in tissues and fluids of calves following prolonged oral administration at a growth-promoting dose. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 18:81-86.
- Smith DJ. 1998. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of beta-adrenergic agonists in livestock. *J. Anim. Sci.*; 76:173-194.
- Sumano, L., Ocampo, C. Gutiérrez O. 2002. Clenbuterol y otros Beta-agonistas, ¿Una opción para la producción pecuaria o un riesgo para la salud humana?. *Vet Mex.* 33(2), 137-159.