

EL CLENBUTEROL DISMINUYE LA SUSTENTABILIDAD DE LA GANADERÍA EN MÉXICO

CLENBUTEROL REDUCES THE SUSTAINABILITY OF STOCKBREEDING IN MEXICO

Clenbuterol y la sustentabilidad ganadera

Caicedo Ricardo R.E.^{1*}; M. Paz Calderón Nieto¹; B. Hernández Pérez¹ y J.S. Toxtle Tlamani¹

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

Abstract

The excessive use of food additives in México is producing an increase in production rate of the animals, no matter that these additives affect the reproductive rate of animals themselves, consequently resulting in import gametes. The beta-agonist such as clenbuterol is a synthetic adrenergic very similar to adrenalines, thus their function is to relax the muscles of the respiratory system, however, it is being used as anabolic as it is supplied to more than ten times the therapeutic concentration (0.08µg / twice daily) animals for human consumption. The aim of this study was to determine changes in the metabolic profile in crossbred *Bos indicus* X *Bos taurus*, with this food additive. The results show that this additive causes muscle hypertrophy, increased hepatic metabolism and the adrenal gland, altered blood parameters, these changes are also the use of implants of Estradiol (20 mg) and trenbolone acetate (200mg), remain for more than 90 days, producing a fixation of the muscle mass and testicular atrophy, also alters the production of sperm; metabolic changes are very marked reduction of production parameters at the hepatic system. We conclude that sustainable livestock production refers to the breeding of animals through a system which guarantees (or at least encourages), the long-term availability of necessary inputs to continue evolving, with a satisfactory return for the farmer. Unsustainable practices are those that harm the animal and environment, increase the risk of disease, bringing a decrease in genetic variation.

Palabras clave:

Aditivo
alimenticio
Beta-agonista
Perfil metabólico
Metabolismo

Keywords:

Food additive
Beta-agonist
Metabolic
Profile
Metabolism

Resumen

El uso desmedido de aditivos alimenticios en México, se esta empleando con el objeto de lograr mejoras productivas en los animales está afectan concomitantemente la tasa reproductiva de los mismos el clenbuterol beta-agonista-adrenergico sintético muy similar a la adrenalina, por ende su función es relajar la musculatura del sistema respiratorio principalmente, sin embargo, el mismo se está utilizando como anabólico, ya que es suministrado a más de diez veces su concentración terapéutica (0.08µg/diarias) a animales de consumo humano. El objetivo de este estudio fue determinar los cambios en el perfil metabólico en animales cruzados *Bos taurus* X *Bos indicus* con este aditivo alimenticio. Los resultados demuestran que este aditivo produce una hipertrofia muscular, incrementa el metabolismo hepático y de la glándula suprarrenal, asimismo altera los parámetros sanguíneos, hay cambios morfológicos a nivel de columna vertebral por el sobrepeso (Animales obesos), trayendo consiguio malformaciones en el tren posterior que e relacionan a los cambios en los niveles de calcio principalmente (valores de 15.5 ± 0.3 mg / dL), otros parámetros se alteran como la Gamma glutamil transferasa con valores de 26.3 ± 0.3 U/L en animales controles sin alimentación con Clb a 16.7 ± 0.32 U/ L anuales alimentados con Clb, otro parametro alterado es la urea / Bun con valor de 30.4 ± 0.23 8 mg / dL control, animales con Clb con valor de 95.8 ± 0.28 mg / dL, los niveles de glucosa se elevan también en control se obtuvieron valores de 5.8 ± 0.31 a animales con Clb de 195.4 ± 0.34 mg / dL. Podemos concluir que la producción ganadera sostenible se refiere a la cría de animales, mediante un sistema que garantiza (o al menos favorezca) la disponibilidad a largo plazo de los insumos necesarios para continuar en evolución, junto con un rendimiento satisfactorio para el campesino. Las prácticas no sostenibles son las que hacen daño al animal y al medio ambiente, incrementándose el riesgo a enfermedades, trayendo consigo una disminución de la variación

genética y gastos en tratamientos a los animales enfermos por factores abióticos y bióticos inducidos por el hombre, es por ello que el clenbuterol induce a enfermedades hepáticas o enmascaran a estas y que no son detectadas y que la misma altera a largo plazo las características inmunológicas de los bovinos.

Introducción

El Efecto del clenbuterol (Cib) β_2 -agonistas-adrenergico principalmente el clenbuterol, el zilpaterol y la ractopamina, están está produciendo produce un incremento en de intoxicaciones a nivel animal y humano, principalmente por el uso desmedido de estos componentes que son utilizados como aditivos alimenticios (Sumano *et al.*, 2002, Caicedo *et al.*, 2009). Por otro lado, también se han desarrollado otros componentes que mejoran la calidad corporal de los animales como: antibióticos, probióticos, enzimas, antimicrobianos, modificadores del sistema inmunitario, modificadores metabólicos o agentes anabolizantes. La utilización del clenbuterol (Cib) aumenta la producción de carne a corto plazo, ya que retienen compuestos nitrogenados, incrementando la masa muscular del animal (Smith, 1998). Este fármaco β_2 -AR son es además un agentes químicos que actúan específicamente a nivel de los receptores adrenérgicos celulares, metabolizando los nutrientes y la energía, incrementan el metabolismo de las proteínas y de grasas, modifican la permeabilidad de la membrana celular, aumento de la lipólisis, y la glucogenólisis (Meyer y Rinke, 1991), trayendo consigo un incremento en la formación de masa muscular, y esto debido a que el grupo OH que poseen otros β -AR es sustituido por un halógeno como en el caso del clenbuterol (cloro), esto evita la biotransformación por las enzimas COMT (catecol-O-metil-transferasa) a nivel tisular y se hace lenta la biotransformación hepática (Courtheyn *et al.*, 1996), este ión cloro en el clenbuterol, lo hace más liposoluble que sus análogos (zilpaterol, salbutamol y ractopamina) y como resultado tiende a difundirse más profundamente en los tejidos y la grasa animal (Martin 1971, Ruffolo, 1991, Waldeck y Widmark, 1995). La aplicación de β_2 -AR a mamíferos, amplifica la ganancia de peso, esto posiblemente se deba al aumento de la cantidad de ARNt (ácido ribonucleico de transferencia) para varias proteínas del músculo esquelético, en este caso, después del tratamiento con β_2 -AR se incrementa el ARNm para la miosina de cadena ligera (Smith *et al.*, 1998), el ARNm de la α -actina (Helferich *et al.*, 1990) y el inhibidor de la proteasa calpaina-calpastina (Higgins *et al.*, 1988). Teóricamente la utilización de estas sustancias presenta una serie de ventajas relacionadas, no solo con la mejora de la productividad, sino también de la calidad de la carne, puesto que las carnes procedentes de animales tratados con β_2 -agonistas presentan un mayor porcentaje de tejido magro (Beermann, 1993; Waldeck y Widmark 1995 y Mersmann, 1998). Sin embargo, el aumento del uso de β_2 -agonistas (Cib) está relacionado con el incremento de intoxicaciones en humanos, según Kuri., *et al* (2007), estas intoxicaciones a nivel nacional se han incrementado, de 133 casos de intoxicados en 2002, a 1663 en 2009, tan solo en el Estado de Jalisco en el año 2009 hubo 1243 casos humanos de intoxicaciones reportadas. Considerando como dosis terapéutica (DT) 0.8 mg/kg de peso corporal dos veces por día. La duración máxima del tratamiento en ganado no lactante permitido es de 10 días por vía oral o intravenosa (FAO/OMS). 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). Para esclarecer este problema, el objetivo de este estudio fue determinar los cambios fisiológicos que producen los β_2 -agonistas (Cib) en animales rumiantes (bovinos), a través de la medición del perfil metabólico y de hormonas esteroideas y estos factores como afectan la sustentabilidad de la ganadería.

Material y métodos

Área de estudio: el estudio se realizó en rastros municipales, y en fincas privadas de diferentes regiones del país. Todas las fincas y rastros fueron georreferenciados, a través de un GPS (Geographical position satellite).

Animales: Se utilizaron 650 animales bovinos (*Bos taurus* X *Bos indicus*), los mismos eran adquiridos con edad de 16 a 20 meses de edad y una vez en la finca eran sometidos a una alimentación basada en granos (maíz y sorgo), marmilina como aditivo de mineral, zacate (planta de maíz seco y clenbuterol, por un periodo que fluctuó de 90 a 150 días continuos de alimentación. Los animales ganaban peso diario de 1.8 ± 0.01 a 2.3 ± 0.3 kilos.

Toma de muestras: Se emplearon tubos de ensayo al vacío, sin y con EDTA (anticoagulante); el primer tubo sin anticoagulante, para obtener el suero sanguíneo para la determinación del perfil metabólico y perfil hormonal de esteroides principalmente (progesterona y 17β -estradiol) y otro tubo con EDTA, para la realización de frotis sanguíneos y así determinar la biometría hemática (el recuento diferencial de leucocitos). La sangre sin EDTA fue centrifugada a 2,500 rpm / 10min, el suero obtenido se separó en tubos eppendorf y fueron congelados a -20°C para su posterior análisis de metabolitos sanguíneos (se utilizaron kit-Bio-System-USA), se midieron 14

metabolitos tales como: calcio, fosforo, enzimas hepáticas: transaminasas como: Alanina amino-transferasa (ALT/TGP) y aspartato amino-transferasa (AST/TGO), albumina, Bilirrubina directa y total, colesterol total, Fosfatasa alcalina, Gamma-glutamyl transferasa (γ -GT), Glucosa, lactato deshidrogenasa (LDH-L), Proteínas totales y Urea/BUN; las mediciones se realizaron en un espectrofotómetro (Spectronic 20). Para la determinación del clenbuterol (Clb) (se utilizó el kit RIDASCREEN, Clenbuterol Fast (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany), para medir las concentraciones de esteroides: progesterona (P_4) y 17β -estradiol (E_2), se utilizaron los Kits de kit diagnóstico, USA. Para la medición de estos tres parámetros se utilizó la técnica de inmunodiagnóstico de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay).

Morfometría testicular y ovárica: Se le realizó a órganos genitales en machos y hembras se realizó midiendo con un vernier, al largo, ancho y grosor de los testículos y epidídimo (cola cuerpo y cabeza de los mismos en milímetro (mm) en ováricos se midió el ancho, grosor y longitud como el número de folículos en desarrollo, igualmente se pesaron las estructuras reproductivas en gramos (grs)

Tratamiento: Se muestrearon animales hembras y machos unos con tratamiento de clenbuterol y otros diagnosticados con fasciolosis por *Fasciola hepatica* y tratados con β_2 -agonista-Clb por 120 días, una vez terminado el tratamiento, un grupo de N=45 de hembras y otro grupo de N=45 de machos se dejaron en cuarentena durante 20 días y se llevaron al rastro, los animales restantes de la muestra se mantuvieron en las fincas. Animales no tratados sin ningún aditivo solo con pastos y concentrados alimenticios y sin *Fasciola hepatica* fueron los animales controles. Se utilizaron animales con fascioliasis para determinar el grado de enmascaramiento de esta afección y que podía producir este Clb en los animales, tanto en hembras como en machos, mas sin embargo, estos parámetros no son detallados en este estudio, solo fue un parámetro inducido como detonador de patologías hepáticas y que el Clb podía influir en el diagnóstico de estos.

Análisis estadístico: A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el programa estadístico Stat-2 (Olivares, 1994), y para determinar la significancia entre promedios se utilizó Duncan New múltiple range test. Se graficaron con el programa Cricket graph (Macintosh).

Resultados y discusión

Los datos obtenidos en este estudio, muestran bajo observaciones morfológicas y metabólicas, el grado de obesidad de los animales destinados al sacrificio, mostraron una condición corporal entre 4 y 5, con malformaciones en el tren posterior, la misma se debe al exceso de peso; hay reducción de las estructuras reproductivas como los testículos (cuya) longitud fue de $12,6 \pm 1,1$ cm (control $15,6 \pm 2,3$ cm); anchura del testículo fue de $5,4 \pm 0,5$ cm (control $7,6 \pm 0,9$ cm); el grosor con valor de $4,6 \pm 0,7$ cm (control de $8,1 \pm 1,2$ cm) y el peso (fue) de $233,6 \pm 17,7$ cm (control $398,8 \pm 29,4$ cm). Los ovarios en las hembras mostraron un sin número de folículos ováricos atréticos (conozco la palabra atréticos atréticos con el sentido de imperforados pero no sé si puede escribirse como aparece en el texto o es un error al teclear la palabra) y quistes ováricos. Cuando (nos) referimos al efecto del Clb en el perfil metabólico de los animales existen alteraciones metabólicas muy marcadas; los datos que se muestran son significativos, indican la eficacia que tiene el Clb en producir cambios metabólicos; se detectaron niveles de Clb en suero sanguíneo con valor de $237,3 \pm 23,9$ a $954,6 \pm 65,4$ ng / kg, los cuales no coinciden con los valores aceptados por la FAO/OMS (125 ng/k, MRL=Maximal Residues Limit), mientras que niveles de 17β -Estradiol (E_2) entre $152,9 \pm 45,3$ a $1152,2 \pm 67,8$ pg/ml, y valores muy similares de Progesterona (P_4) que fluctuaron entre $248,4 \pm 35,8$ a $852,8 \pm 68,9$ pg/ml, fueron obtenidos de hembras con anestro post parto muy prolongados, entre 120-150 días, lo cual indica que hay un problema hormonal a nivel del ovario, hay presencia de muchos folículos en desarrollo y quistes ováricos, la cual coincide con lo observado en animales *post mortem* alimentados con Clb, (Caicedo *et al.*, 2010). En cuanto al perfil metabólico se obtuvieron concentraciones elevadas de transaminasas: ALT/GPT (Alanina amino-transferasa) y AST/GOT (Aspartato amino-transferasa), Gamma glutamil-transferasa (γ GT) ($p < 0,05$), en animales con *Fasciola hepatica*, si lo comparamos con animales clínicamente sanos (CS-M y H), valores muy bajos que coinciden con valores normales de estas tres enzimas. En relación a la bilirrubina también se encontraron concentraciones elevadas ($*p < 0,01$), mientras que los niveles de colesterol y glucosa son bajos si lo comparamos con animales que no consumen este fármaco; esto indica que el uso del Clb como aditivo alimenticio afecta las actividades metabólicas hepática, principalmente, y que la presencia de un halógeno, que en este caso es el ión cloro (Cl) en su estructura química (Courtheyn *et al.*, 1996), establece que su efecto es mucho más prolongado que cualquier otro β_2 -agonista utilizado para incrementar el peso de los animales; se puede decir, además, que su excreción total también es más retardada (Martin 1971, Ruffolo, 1991, Waldeck y Widmark, 1995). Podemos agregar que el efecto del Clb sobre el sistema endocrino, son debidos en gran parte a

la liberación de otras hormonas. Entre ella las acciones de las catecolaminas (Blum and Flueckiger, 1988), también está la inhibición de la secreción de insulina (Zimmerli and Blum, 1990, Helferich *et al.*, 1990 Ni *et al.*, 2010)), el aumento de glucagón y el estímulo de la liberación de hormona adrenocorticotropa (ACTH), somatotropa (STH) y gonadotropinas (FSH y LH), (Mersmann, 1998). Con base a esto hemos comprobado que en hembras bovinas el Clb estimula la producción de esteroides a nivel de los ovarios como progesterona y 17 β -estradiol y en machos incrementa los niveles de testosterona (T) (datos aun no bien claros), sin embargo, se desconoce el daño que puede producir el Clb en los órganos reproductivos en bovinos. Hay también que considerar que el Clb produce un incremento de la actividad del sistema nervioso, que acarrea la pérdida del apetito (Mersmann, 1998), lo cual puede ser debido a la sensación de malestar del animal o a la actividad glucogenolítica y lipolítica, bloqueando los centros del apetito mediante señales de sobrecarga procedentes de los receptores quimiostáticos (Caicedo *et al.*, 2009). El crecimiento muscular, como respuesta al tratamiento con Clb, es una hipertrofia del tejido muscular esquelético estriado, lo que se demuestra por los estudios realizados por Beerman *et al.*, (1986) en ratas y por Martin *et al.*, (1990) en vacas. Todos los parámetros medidos comprueban el enorme daño que producen el Clb a la salud animal, sin embargo la utilización de este componente químico sintético no garantiza la sustentabilidad de la ganadería en México, trayendo consigo un aumento en la importación de sementales y de semen, como el aumento significativo en la importación de leche en polvo y de carne procedente del sur de los Estados Unidos.

Conclusiones

Podemos considerar que la utilización de los del clenbuterol (β_2 - agonista) produce un desequilibrio entre medio ambiente interno y externo al animal provocando a mediano plazo la baja sustentabilidad fisiológica del animal induciendo a su disminución en el medio donde es utilizado.

Bibliografía

- Beermann, D.H., Bittler, W.R., Hogue DE., Fishell V.K., Dalrymple R.H., Ricks C.A., and Scanes CG. 1986. Toxicity of Clenbuterol, beta adrenergic in animals. *J. Animal Sci.* 65:1514-1524.
- Beermann D.H, W.R. Butler, D.E. Hogue, V.K. Fishell, R.H. Dalrymple, C.A. Ricks and C.G. Scanes. 1987. Cimaterol-induced muscle hypertrophy and altered endocrine status in lambs. *J. Anim. Sci.* 65:1514-1524.
- Beermann, D.H.1993. Beta-adrenergic agonist and growth. In: M.P. Shreibman, C.G. Scanes, and P.K.T. Pang (ed.)*The endocrinology of growth, Development, and Metabolism in Vertebrates*, pp 345-366. Academic Press, San Diego, C.A.
- Blum, J. W. and N.Flueckiger.1998. Early metabolic and endocrine effects of perorally administered β -adrenoceptor agonist in calves. *European Journal of Pharmacology.* 151:177-187.
- Caicedo R. R.E., Torres Beltrán A., Hernández, Zepeda J.S., Reséndiz Martínez R., Pérez y Terrón. R. y Cabrera Bautista E. 2009. Effects o 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 Zoogénéticos.* Joao Pessoa- Paraíba-Brasil, pp. 460-465.
- Courtheyn D., Moermans R., Schilt R., y Boenke A. 1996. Beta-agonists in animal feed. II. Optimization of the extraction. *Food Additives Contam.* 13:493-509.
- FAO/WHO. 1992. Expert committee on food additives. Residues of some veterinary drugs in animals and food: Monographs prepared by the Four Meeting of the Join FAO/WHO Expert Committee on Food. Geneva Switzerland. Geneva, Switzerland Foods Agriculture Organization. FAO: 614-621.
- FAO/WHO. 1993. Expert committee on food additives. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Fortieth report of the Joint World Health Organization. WHO.-Technical-Reports-Series. New York: WHO: 832-862.
- Helferich W.G, Jump D.B., Anderson D.B., Skjaerlund M.D., Merkel R.A., Bergen W.G. 1990. Skeletal muscle α -actin synthesis is increased pretranslational in pig fed the phenetholamine ractopamina. *Endocrinology*; 126:3096-3100.

- Higgins J.A., Lassett Y.V., Bardsley R.G, Buttery P.J.1988. The relation between dietary restriction or clenbuterol treatment on muscle growth and calpain proteinase (EC3.4.22.17) and calpastain activities in lamb. *Br. J. Nutr*; 60:645-652.
- 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.
- Mersmann, H.J. 1998. Overview of the effect of beta-adrenergic receptor agonist on animal growth including mechanism of action. *J. Anim. Sci*. 221:502-508.
- Meyer, H.H.D. y Rinke, M.L. 1991. The pharmacokinetics and residues of clenbuterol in veal calves. *J. Anim. Sci*. 69:4538-4544.
- Maltin, C.A., Delday, M.I., Hay, S.M. Innes, G.M. and Williams, P.E.V. 1990. Effect of beta-adrenergic in beef. *Brit. J. Nutr*. 63: 535-545.
- Martin L.E, Hobson JC, Page JA, Harrison AC. 1971. Metabolic studies of Salbutamol-3H: a new bronchodilator in rat, rabbit, dog, and man. *Eur J Pharmacol*; 14: 183-199.
- Ni Y, Zhang Q, Kokot S. 2010. Analysis of the interactions of mixtures of two beta-agonists steroids with bovine serum albumin: a fluorescence spectroscopy and chemometrics investigation. *Analyst*.; 135(8):2059-68.
- Olivares Sáenz, E. 1994. Paquete de diseños experimentales. FAUANI. Versión 2.5. Facultad de Agronomía. UANL. Martin. NL.
- 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*. 18:81-86.1995
- Smith DJ. 1998. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of beta-adrenergic agonists in livestock. *J. Anim. Sci*; 76:173-194.
- Smith S.B., Gracia D.K., Anderson D.B., 1989. Elevation of a specific mRNA in longissimus muscle of steer fed ractopamina. *J. Anim. Sci.*; 76:3495-3520.
- Ruffolo RE. 1991. Chirality in α and β -adrenoceptor agonists and antagonists. *Tetrahedron*; 47:9953-9980.
- Sumano, L.; Ocampo C., Gutiérrez O. 2002. Clenbuterol y otros betas agonistas, Una opción para la producción pecuaria o un Riesgo para la salud humana? *Vet. Mex*; 33 (2), 137-159.
- Waldeck B, Widmark E. 1995. Steric aspects of agonism and antagonism at β -adrenoreceptors: experiments with the enantiomers of clenbuterol. *Pharmacol Toxicol*; 56:221-227.
- Zimmerli, U.V. and J.W. Blum. 1990. Acute and longterm metabolic, endocrine, respiratory, cardiac and skeletal muscle activity changes in response to perorally administered β -adrenoceptor agonists in calves. *Journal animal Physiology. Anim. Nutr*. 63:157-172.