

Physiological effect of β_2 -agonist adrenergic "clenbuterol" in cattle *Bos taurus* × *Bos indicus*, in the State of Puebla, México

Efecto fisiológico del β_2 -agonista adrenérgico "clenbuterol" en bovinos *Bos taurus* × *Bos indicus*, en el Estado de Puebla, México

Saavedra-Rodríguez, Abel¹; Caicedo-Rivas, Ricardo E.^{2*}; Paz-Calderón Nieto, Mariana¹; Estrada-Poblano, Mariana²

¹Complejo Regional Mixteca, Campus Izúcar de Matamoros; ²Laboratorio de Endocrinología de la Reproducción y Malacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Edificio Bio-1, Ciudad Universitaria, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, C.P. 72570. Puebla, México,

*Autor de Correspondencia: ricaido@yahoo.com

ABSTRACT

Objective: to determine the concentrations of clenbuterol in cattle (*Bos taurus* × *Bos indicus*) for human consumption and to detect the alterations that occur in the physiological components.

Design/methodology/approximation: This study was developed at the level of municipal trails and livestock farms in several states of the country, with a population of studied animals of 4650 (*Bos taurus* × *Bos indicus*). The study differentiates one control, plus three treatments: a) one is animals with clenbuterol, b) animals with *Fasciola hepatica* and c) animals with clenbuterol and *Fasciola hepatica*.

Results: The results showed that the values of clenbuterol ranged between 245.1 ± 23.2 and 1263.4 ± 62.6 ng / ml, showing that 63.2% of the population of cattle studied had high concentrations of Clb.

Limitations on the study/implications: The diagnosis of Clb was made by competitive enzyme immunoassay technique performed on blood serum, however, tissue study was not considered to determine the accumulated Clb concentrations in the liver in the different treatments.

Findings/Conclusions: This study demonstrates that clenbuterol masks fascioliasis, since the animals with *Fasciola hepatica* + clenbuterol showed no symptoms or external changes, but internally mainly in the liver and pancreas (metabolic abnormalities and morphological latter is not shown in this work). It is concluded that clenbuterol produces metabolic abnormalities in *Bos taurus* × *Bos indicus* cattle.

Keywords: Food additive, metabolic profile, muscle mass, metabolic abnormalities.

Agroproductividad: Vol. 12, Núm. 6, junio, 2019, pp. 63-68.

Recibido: enero, 2019. **Aceptado:** junio, 2019.

RESUMEN

Objetivo: Determinar las concentraciones de clenbuterol en ganado bovino (*Bos taurus*×*Bos indicus*) para consumo humano y detectar las alteraciones que se producen en los componentes fisiológicos.

Diseño/metodología/aproximación: Este estudio se desarrolló a nivel de rastros municipales y en fincas ganaderas en varios estados de México, con una población de animales estudiados de 4650 (*Bos taurus*×*Bos indicus*). En el estudio se diferencian un control, más tres tratamientos: a) animales con clenbuterol (Clb), b) animales con *Fasciola hepatica* (*Fh*) y c) animales con clenbuterol y *Fasciola hepatica* (Clb+*Fh*).

Resultados: Los resultados mostraron que los valores encontrados de clenbuterol oscilaron entre 245.1 ± 23.2 y 1263.4 ± 62.6 ng ml⁻¹, se demostró que el 63.2% de la población de bovinos estudiados tuvieron altas concentraciones de Clb.

Limitaciones del estudio/implicaciones: el diagnóstico de Clb se realizó por la técnica de inmunoensayo enzimático competitivo realizado en suero sanguíneo; sin embargo, no se consideró realizar estudio en tejidos para determinar las concentraciones acumuladas de Clb en hígado en los diferentes tratamientos.

Hallazgos/conclusiones: Este estudio demuestra que el clenbuterol enmascara la fascioliasis, ya que los animales con *Fh*+Clb no mostraron cambios externos, pero sí internos principalmente en el hígado y páncreas (anomalías metabólicas y morfológica, esta última no se muestran en este trabajo). Se concluye que el clenbuterol produce anomalías metabólicas en bovinos *Bos taurus*×*Bos indicus*.

Palabras clave: Aditivo alimenticio, perfil metabólico, masa muscular, anomalías metabólicas.

nes en humanos. En otras partes del país también hay incidencias de envenenamiento, reportando 17 estados con problemas de clenbuterol, por tanto, se debe considerar como un problema de salud pública a nivel nacional. El uso de Clb de forma terapéutica se utiliza en el tratamiento de hembras con riesgo de parto o aborto y también como broncodilatador en enfermedades respiratorias principalmente en equinos. Las dosis anabólicas superan las dosis terapéuticas de cinco a diez veces, y es cuando su uso se convierte en ilegal y por ende genera riesgos para el consumidor al ingerir productos cárnicos contaminados con esta sustancia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestrearon 4650 bovinos (*Bos taurus*×*Bos indicus*) hembras y machos en el estado de Puebla-México. Para este estudio de clasificaron los animales *Bos taurus*×*Bos indicus* de la siguiente manera: a) en engorda clínicamente sanos (CS) sin Clb; b) bovinos con suplemento de clenbuterol por 90 días pre-sacrificio; c) bovinos diagnosticados con *Fasciola hepatica* (*Fh*) y d) bovinos con *Fh* y suplementados con clenbuterol (Clb+*Fh*).

Muestreo

Se utilizaron tubos de ensayo al vacío sin anticoagulante para obtener el suero sanguíneo, y para la determinación del perfil metabólico. La sangre se centrifugó a 2500 rpm/10 min, el suero obtenido se separó en tubos eppendorf (1 mL) y se congeló a -20 °C para el análisis posterior del Clb y de los metabolitos; el Clb se determinó con el Kit -RIDASCREEN® Clenbuterol (No. de artículo: R1711- R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany) es un inmunoensayo enzimático competitivo,

INTRODUCCIÓN

El uso de β_2 -agonistas como el clenbuterol (Clb), componente sintético ha demostrado tener mayor eficiencia en el desarrollo de la masa muscular en ganado de engorda, y ha producido en los últimos años un aumento en intoxicaciones en humanos y animales en México; ya que se usa como aditivo alimentario (Sumando *et al.*, 2002, Caicedo *et al.*, 2009). El uso de esta sustancia aumenta la producción de carne a corto plazo, facilita la retención de compuestos nitrogenados, y de esta manera aumenta la masa muscular, a través de la reducción de grasa (lipólisis) (Smith, 1998). Estos medicamentos β -AR también son agentes químicos que actúan específicamente a nivel de receptores adrenérgicos celulares, metabolizan los nutrientes y aumentan el metabolismo de las grasas y proteínas, modifican la permeabilidad de la membrana celular, generan aumento de la lipólisis y glucogenólisis (Meyer y Rinke, 1991; Johnson *et al.*, 2014). La ventaja de usar este tipo de sustancias al tener efecto lipolítico permite que la carne que se obtiene sea más magra (Beermann, 1993; Waldeck y Widmark 1995; Mersmann, 1998); sin embargo, está relacionado con el aumento de intoxicaciones en humanos. Según Kuri *et al.* (2007), estas intoxicaciones en todo el país aumentaron de 133 casos en 2002, a 1663 en 2009 y 323 en los años 2015-2016 (Suave, 2011). Únicamente en el estado de Jalisco en 2009 se reportaron 1243 casos de intoxicacio-

para la determinación cuantitativa de Clenbuterol en leche, carne, Hígado, riñón, orina, plasma/suero, pelo, ojo y alimento. Para obtener las concentraciones de Clb existe un software especial, el RIDA[®]SOFT Win.net (Art. No. Z9996), está disponible para evaluar los inmunoensayos enzimáticos RIDASCREEN[®]. El curso de la curva estándar se muestra en el Certificado de Garantía de Calidad incluido en el kit de prueba. Para el cálculo sin software se utiliza la siguiente fórmula para detectar las concentraciones de Clb de cada muestra:

$$\frac{\text{Absorbancia del estándar (o muestra)}}{\text{Absorbancia del estándar (cero)}} \times 100 = B/BO (\%)$$

Medición de metabolitos, macrominerales y enzimas

Los kits utilizados para la medición de estos fueron de BioSystem S.A, Costa Brava 30 (Barcelona-España). Para cada muestra y control se agregaron 500 μL de reactivo de trabajo y 10 μL de suero de *Bt* x *Bi*. Para los metabolitos bilirrubina y glucosa se realizó una sola medición a 540 y 500 nm, respectivamente. En cuanto a la medición de urea/BUN la lectura se realizó a 340 nm, tomado dos mediciones de absorbancia (A1), se tomó exactamente a los 30 s, posteriormente a los 60 s de leer (A1), se tomó la absorbancia (A2), se calculó el cambio de absorbancia por minuto mediante la resta (A1-A2). La detección de Calcio (Ca) y fósforo (P), la lectura se realizó a una longitud de onda de 610 y 340 nm, respectivamente, y se obtuvieron sus valores con una sola medición. En cuanto a las enzimas las mediciones de aspartato amino-transferasa (AST/GOT) y alanina amino-transferasa (ALT/GP), ambas se realizaron su lectura a una absorbancia de 340 nm y de Gamma-glutamyl transferasa (GGT) su lectura se realizó a 405 nm, en las tres enzimas se realizaron las mediciones al minuto 1, 2 y 3. Para determinar el cambio de absorbancia por minuto. Para la determinación de estos metabolitos, macrominerales y enzimas se utilizó un espectrofotómetro "Spectronic-20".

Con los datos obtenidos se 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.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio, se muestran datos significativos que indican la eficacia del β_2 -agonista adrenérgico (clenbuterol) para producir cambios metabólicos. Se detectaron niveles de clenbuterol entre 245 y 1263 ng kg⁻¹, que superan al valor máximo permitido por FAO/OMS Codex

Alimentarius de 125 ng kg⁻¹ (concentración máxima de Clb que debe contener un animal en sangre, destinado para el consumo humano, y que han sido tratados con este aditivo). El análisis bioquímico sanguíneo mostró valores de bilirrubina diferentes entre tratamientos ($P < 0.01$). En machos suplementados con Clb se registraron valores de bilirrubina de 0.5 ± 0.001 mg dL⁻¹, en machos clínicamente sanos de 0.2 ± 0.002 mg dL⁻¹, en machos con *Fh* valores de 5.3 ± 0.001 mg dL⁻¹; mientras que, en animales con *Fh* y Clb se registraron valores muy similares a animales clínicamente sanos. En hembras con *Fh* se obtuvieron valores de bilirrubina de 0.3 ± 0.001 mg dL⁻¹, en hembras clínicamente sanas de 0.2 ± 0.001 mg dL⁻¹, asimismo, los valores de bilirrubina en hembras con *Fh* y *Fh*+Clb fueron muy similares a los animales clínicamente sanos. La *Fasciola hepatica* obstruye canalículos hepáticos e incrementa los valores de bilirrubina y el Clb enmascara las patologías hepáticas en bovinos (Caicedo et al., 2011). En cuanto a la glucosa, los animales machos con Clb y *Fh*+Clb mostraron valores significativamente altos ($P < 0.01$), lo que indica que este aditivo produce daños importantes a nivel del páncreas en la producción de insulina (Caicedo et al., 2011).

Por otra parte, la relación urea/BUN en machos clínicamente sanos fue de 30.4 ± 0.23 mg dL⁻¹, en animales con Clb fue de 95.8 ± 0.28 mg dL⁻¹, animales con *Fh* registraron valores de 77.4 ± 0.28 mg dL⁻¹ y animales con Clb+*Fh* tuvieron valores de 125.8 ± 0.25 mg dL⁻¹. Este último grupo de animales mostró una grave funcionalidad metabólica en los animales machos; mientras que, en hembras, los valores se mantuvieron iguales, con las mismas características fisiológicas. Lo anterior indica que tanto el Clb como la *Fh*, alteran de manera importante la fisiología hepática y las características productivas (Caicedo et al., 2010; Caicedo et al., 2011).

Cuando se midieron los macrominerales Ca y P, en todos los tratamientos realizados no hubo cambios significativos, lo cual sugiere que, el Clb no juega un papel importante aparentemente en la fisiología de estos macrominerales a nivel (hepático). Al medir la actividad enzimática del aspartato amino-transferasa (AST/GOT), se observó que en animales machos clínicamente sanos (CS), fue de 533.9 ± 0.26 UL, en bovinos con *Fh* el valor detectado fue de 751.5 ± 0.23 U L⁻¹ (este valor refleja daño hepático al compararlo con el obtenido en animales CS), en bovinos con Clb el valor fue de 264.7 ± 0.22 U L⁻¹, y en bovinos con Clb+*Fh* fue de 499.6 ± 0.20 U L⁻¹. Este último valor es parecido al registrado en animales CS en

machos, mostrando que el Clb puede enmascarar las patologías hepáticas (Caicedo *et al.*, 2011). En hembras, la actividad de AST/GOT fue de $434.5 \pm 0.65 \text{ U L}^{-1}$ en animales CS y de $436.4 \pm 0.67 \text{ U L}^{-1}$ en animales con Clb+Fh, ambos valores son muy similares, esto comprueba que existe enmascaramiento de la fascioliasis por parte del Clb (Caicedo *et al.*, 2010; y Caicedo *et al.*, 2011). Los principales cambios que produce el Clb en bovinos en este estudio son las anomalías hepáticas junto con la fascioliasis, ambas influyen en la homeostasis hepática; sin embargo, en este estudio se demuestra que todos los bovinos que son suplementados con Clb desarrollan patologías hepáticas (Fiems, 1987; Smith, 1998; Caicedo *et al.*, 2010; Caicedo *et al.*, 2011; Paz Calderón *et al.*, 2011 y Caicedo *et al.*, 2016). Lo mismo sucedió con enzimas tales como: Alanina amino transferasa (ALT/GPT), gamma glutamil amino transferasa (GGT), el Clb enmascara las patologías hepáticas, tanto en hembras como en machos: animales con Clb, Fh y Clb+Fh) (datos no mostrados).

Asimismo, el uso de Clb como aditivo alimentario afecta las actividades metabólicas hepática (hepatocitos por la acumulación del mismo Clb y sus metabolitos) y pancreática (disminución en el colesterol). En cambio, el alto contenido de glucosa revela que hay daño a nivel de las células de Langerhans en el páncreas principalmente. El Clb posee en su estructura química un halógeno, en este caso el ion cloruro (Cl-) (Courtheyn *et al.*, 1996), el cual causa incremento de la biodisponibilidad y retrasa la biotransformación (retraso de la excreción total) del Clb, en comparación con cualquier otro β_2 -agonista adrenérgico utiliza-

do para promover la masa corporal de los animales (Martin, 1971; Ruffolo, 1991; Waldeck y Widmark, 1995).

Los efectos promotores del crecimiento muscular ejercidos por Clb están fuertemente mediados por la estimulación directa de los receptores adrenérgicos β_2 localizados en el tejido muscular (Helferich *et al.*, 1990; Ni *et al.*, 2010; Johnson *et al.*, 2014), y por las concentraciones plasmáticas de hormonas catabólicas o anabólicas (Higgins *et al.*, 1988), como los glucocorticoides, la hormona del crecimiento (GH) o la insulina. Si las hormonas pueden alterar la respuesta del tejido adiposo a las catecolaminas endógenas, también pueden afectar la respuesta del músculo esquelético a los agonistas β_2 exógenos (Sumano *et al.*, 2002). El estudio demuestra un prototipo del efecto del Clb y que éste modifica la composición de la carcasa de los animales, ya que en animales tratados con β_2 -agonistas adrenérgicos, se observa un aumento en el depósito de proteínas (15%) y una disminución en la grasa (18%) (Lueso y Gómez, 1990). El crecimiento muscular, en respuesta al tratamiento con β_2 -agonistas adrenérgicos, es una hipertrofia del tejido muscular esquelético estriado, como lo demuestran los estudios realizados por Beermann *et al.* (1986) en ratas y por Martin *et al.* (1990) en bovinos. Los efectos de los β_2 -agonistas adrenérgicos en el sistema endocrino se deben en gran parte a la liberación de otras hormonas (Caicedo *et al.*, 2009; Johnson *et al.*, 2014). Los efectos de los β_2 -agonistas adrenérgicos en el metabolismo de las grasas son muy difíciles de definir; sin embargo, actúan indirectamente en el depósito de grasa, al aumentar la tasa metabólica y el gasto de energía de los ani-

males tratados y activando la termogénesis, parte de la energía ingerida previene la formación de grasa, por otro lado, la acción directa está en el aumento de los niveles de adenosín monofosfato-3',5' (AMPC) en el tejido adiposo, pero el efecto metabólico del Clb está relacionado con la concentración tisular de adenosín monofosfato-3',5' cíclico (AMPC), a nivel muscular y hepático, la conversión de trifosfato de adenosina (ATP) en AMPC se produce de forma acelerada, así como la activación de diferentes enzimas, principalmente del tipo de fosforilasa, que catalizan la transformación del glucógeno en glucosa. Aunque otras enzimas también están involucradas (quinasas, lipasas y la fosfofructoquinasa), de esta manera, se produce una aceleración de la movilización de ácidos grasos, formando ácido láctico. La sangre, el hígado y los músculos esqueléticos, también presentan una tendencia especial hacia el aumento de la lipólisis o la disminución de la lipogénesis (Sauer *et al.*, 1999), el aumento de una lipasa intracelular que transforma los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol.

En el tejido muscular aumenta el adenosín monofosfato-3',5' cíclico (AMPC); de tal manera que una proteína cruza la membrana celular siete veces, formando tres bucles intracelulares y tres extracelulares a los que se unen adrenalina y norepinefrina (Caicedo *et al.*, 2009; 2010; 2011 y 2016), al aumentar la perfusión de la sangre al músculo y produce una mayor disponibilidad de energía y aumenta la síntesis de aminoácidos y la retención de proteínas que favorece la hipertrofia muscular, principalmente de los músculos del cuarto posterior del animal (Li *et al.*, 2000; Ekpe *et al.*, 2000; Castellanos-Ruelas *et al.*,

2006; Jonhson et al., 2014). Estos mecanismos aumentan la lipólisis y disminuyen la lipogénesis; sin embargo, el efecto de este componente (β_2 -agonista-adrenérgico-Clb) dependerá de la especie de animal tratado, ya que no todos los animales poseen los mismos receptores β_2 , por lo que el aumento en la concentración de Clb administrada y el tiempo en que los animales están sujetos a este β_2 -agonista adrenérgico, juega un papel muy importante en el efecto a corto y mediano plazo, para la administración de éste, por otro lado, el efecto del Clb dependerá de la concentraciones que se le administre, al igual, el tiempo en que el animal lo consume, su repercusión en este es significativo, produciendo al consumidor final (el hombre) daños a nivel de hígado, páncreas y al sistema nervioso central a través de la barrera hematoencefálica, como también al sistema circulatorio, alterando la presión sanguínea y por ende repercutirá en el sistema renal y posiblemente al reproductor.

CONCLUSIONES

La administración de clenbuterol a una dosis anabólica (entre 5 a 10 veces mayor que la dosis terapéutica), provoca hipertrofia muscular en bovinos. El uso de clenbuterol ayuda a incrementar de manera fraudulenta los niveles de masa muscular al llenarlos de agua y derivados de Clb (metabolitos). El ganado que recibe β_2 -agonistas adrenérgicos tiende a tener una menor cantidad de bandas de grasa, menor grosor de grasa en la espalda y mayor tonicidad. La elevación de los tipos de fibra glicolítica con el tratamiento con β_2 -agonistas-adrenérgicos es principalmente responsable del aumento de la hipertrofia muscular, y está correlacionada negativamente con la cantidad de tejido adiposo intermuscular e intramuscular. Este estudio determinó que el Clb afecta directamente el bienestar del animal y a la salud humana al consumir carne con Clb; por lo que, debe existir regulaciones más estrictas, no solo con detectar las concentraciones del Clb en animales, sino también en su trazabilidad y detectar a los ranchos y no a los rastros municipales, con el fin de detener el uso y abuso de esta sustancia en la engorda de animales de importancia económica.

LITERATURA CITADA

- Beermann, D.H., Bittler, W.R., Hogue, D.E., Fishell, V.K., Dalrymple, R.H., Ricks, C.A. & Scanes, C.G. (1986). Toxicity of clenbuterol, beta adrenergic in animals. *Journal of Animal Science*, 65, 1514-1524.
- Beermann, D.H. (1993). Beta-adrenergic agonist and growth. En M.P. Sherman, C.G. Scanes & P.K.T. Pang (Eds.). *The endocrinology of growth, development, and metabolism in vertebrates* (pp. 345-366). Academic Press, San Diego, C. A.
- Caicedo, R.R.E., Torres, B.A., Hernández, Z.J.S., Reséndiz, M.R., Pérez, T.R. & Cabrera, B.E. (2009). Effects of beta agonist in the diagnosis of fasciolosis in *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, 1, 183-187.
- Caicedo, R.R.E., Torres, B.A., Martínez, B.S.V., Paz, C.N.M., Ramírez, P.M.P., Hernández, Z.J.S., Reséndiz, M.R., Cabrera, B.E. & Silvia, G.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 Zoogenéticos*. Joao Pessoa- Paraíba-Brasil, pp. 460-465.
- Caicedo, R.R.E., Paz-Calderón, N.M. & Badillo, M.S.V. (2011). Clenbuterol (β_2 -agonista-adrenérgico), enmascara las patologías hepáticas en bovinos. *AICA*, 1, 327-331.
- Caicedo, R.E., Paz-Calderón N.M. & Ramírez, V.A. (2016). Inocuidad de los productos alimenticios de origen animal. En M.C. Martínez & J.J. Ramírez (Eds.). *Ciencia y Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México* (pp. 427-447). México: Biblioteca Básica de agricultura, Colegios de Postgraduados.
- Castellanos, R.A.F., Rosado R.J.G., Chel G.L.A. & Betancur, A.D.A. (2006). Empleo del zilpaterol en novillos con alimentación intensiva en Yucatán, México. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 14(2), 56-59.
- Courtheyn, D., Merman, R., Schilt, R. & Boenke, A. (1996). Beta-agonists in animal feed. II: Optimization of the extraction. *Food Additives & Contaminants* 13(5), 493-509.
- Ekpe, E. D., Moibi, J.A. & Christopherson, R.J. (2000). Beta-adrenergic receptors in skeletal muscles of ruminants: effects of temperature and feed intake. *Canadian Journal of Animal Science*, 80(20), 79-86.
- Fiems, L.O. 1987. Effect of beta-adrenergic agonists in animal production and their mode of action. *Annales de Zootechnie* 36(3), 271-290.
- 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 Joint 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 alpha-actin synthesis is increased pretranslationally in pig fed the phenethanolamine ractopamine. *Endocrinology*, 126(6), 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. *British Journal of Nutrition*, 60, 645-652.
- SUAVE. (2011). Sistema Único Automatizado de Vigilancia Epidemiológica. Segundo Foro Nacional de Rastros: Programa de Proveedor confiable.
- Bradley J. Johnson; Stephen B. Smith Y Ki Yong Chung. (2014). Historical Overview of the Effect of β -Adrenergic Agonists on

- Beef Cattle Production. *Asian-Australas J. Animal Science*. 2014 May; 27(5): 757–766. DOI: 10.5713/AJAS.2012.12524.
- Kuri, M.P., Parres, F.J.A., Aguilar, V.K. & Mújica, V.Y. (2007). Intoxicación por Clenbuterol. *Boletín del Centro Nacional de Vigilancia epidemiológica y Control de enfermedades de la secretaria de Salud*. 10-13.
- Li, Y. Z., Cristopherson, R.J., Li, B.T. & Moibi, J.A. (2000). Effects of a beta-adrenergic agonist (L-644,969) on performance and carcass traits of growing lambs in a cold environment. *Canadian Journal of Animal Science*, 80(3), 459-465.
- Lueso, S.M.J. y Gómez, B.M.A. (1990). Los β -agonistas, cómo afectan a la canal y calidad de la carne En: *Revista "Mundo Ganadero"*, N° 7, págs. 70-78.
- Mersmann, H.J. (1998). Overview of the effect of beta-adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanism of action. *Journal of Animal Science*, 221, 502-508.
- Meyer, H.H.D. & Rinke, M.L. (1991). The pharmacokinetics and residues of clenbuterol in veal calves. *Journal of Animal Science*, 69, 4538-4544.
- Martin, C.A., Delday, M.I., Hay, S.M. Innes, G.M. & Williams, P.E.V. (1990). Effect of beta-adrenergic in beef. *British Journal of Nutrition*, 63, 535-545.
- Martin, L.E., Hobson, J.C., Page, J.A., Harrison, A.C. 1971. Metabolic studies of Salbutamol-3H: a new bronchodilator in rat, rabbit, dog, and man. *European Journal of Pharmacology*, 14(2), 183-199.
- Ni, Y., Zhang, Q. & Kokot, S. (2010). Analysis of the interactions of mixtures of two β -agonists steroids with bovine serum albumin: a fluorescence spectroscopy and chemometrics investigation. *Analyst*, 135(8), 2059-68.
- Olivares, S.E. (1994). Paquete de diseños experimentales. FAUANI. Versión 2.5. Facultad de Agronomía. UANL. Martin. NL.
- Paz-Calderón, M., Caicedo, R.R.E. & Hernández, P.B. (2011). Efecto del clenbuterol en los niveles de fosfatasa ácida "Fracción Prostática" en bovinos machos. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*, 1, 136-140.
- Sauer, M.J., Pickett, 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. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 18(2), 81-86.
- Sauer, M.J., Dave, M., Lake, B.G., Manchee, G.R., Howells, L.C. & Coldham, N.G. (1999). β_2 -agonist abuse in food producing animals: use of in vitro liver preparations to assess biotransformation and potential target residues for surveillance. *Xenobiotica*, 29(5), 483-97.
- Smith, D.J. (1998). The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of β -adrenergic agonists in livestock. *Journal of Animal Science*, 76, 173-194.
- Smith, S.B., Garcia, D.K. & Anderson, D.B. (1989). Elevation of a specific mRNA in longissimus muscle of steer fed ractopamine. *Journal of Animal Science*, 67, 3495-3520.
- Sumano, L., Ocampo, C. & Gutiérrez, O. (2002). Clenbuterol y otros β -agonistas, ¿una opción para la producción pecuaria o un riesgo para la salud pública? *Veterinaria México*, 33(2), 137-159.
- Ruffolo, R.E. (1991). Chirality in α and β -adrenoceptor agonists and antagonists. *Tetrahedron*, 47(48), 9953-9980.
- Waldeck, B. & Widmark, E. (1995). Steric aspects of agonism and antagonism at β -adrenoreceptors: experiments with the enantiomers of clenbuterol. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 56(3), 221-227.

