



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL**

**EFFECTO DEL ZILPATEROL Y LA RACTOPAMINA
SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS CONTRÁCTILES,
METABÓLICAS Y MORFOLÓGICAS EN FIBRAS
MUSCULARES ESQUELÉTICAS DEL BOVINO.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
P R E S E N T A:
JUAN IGNACIO PÉREZ ESPÍRITU**

**TUTOR: EUGENIO QUIROZ ROTHE
COMITÉ TUTORAL: PEDRO GARCÉS YEPEZ**

MEXICO, D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

DEDICATORIA.

A mis Padres:

Dolores Espiritu Jiménez

Benito Pérez Ruíz,

Por darme el ser y guiarme con el ejemplo; enseñarme que en las situaciones más difíciles podremos salir adelante con fe, amor y paciencia.

A mis hermanos:

Ana Selene y Benito, por su apoyo y comprensión.

A mi amorcilla:

Ilane Hernández Morales, por todo su apoyo y amor incondicional.

A mis dos corazones,

Zetna Geraldine y Meghan Melina,

Por su amor y permitirme compartir su infancia.

A mis abuelos Ignacio y Francisca (Chica) que en paz descansen.

Y a toda mi familia, tíos, primos y sobrinos

Gracias.

AGRADECIMIENTOS.

A mis Tutores:

Dr. Eugenio Quiroz Rothe y Pedro Garcés Yopez, por su apoyo, conocimientos y paciencia.

A los Doctores:

Teodomiro Romero Andrade y Edgardo Canizal Jiménez, por ser maestros, amigos y ejemplos a seguir, mil gracias por todo su apoyo, siempre estarán presentes en mi vida.

Al laboratorio: Intervet, Shering-Plough Animal Health (Dr. Pedro Garcés Yopez) por el apoyo y financiamiento para la realización de este proyecto.

A la engorda de SUKARNE S.A de C.V., Monterrey, por permitirme trabajar en sus instalaciones y brindarme las facilidades para que esta tesis se llevara a cabo.

Al Departamento de Técnicas Histológicas de la Fac. de Medicina de la UNAM. A las Técnicas Verónica Rodríguez Mata y Judith Reyes Ruiz, por su apoyo, guía y consejos.

A la Dra. Alicia Ortega Aguilar, por haberme guiado, mil gracias por todo su apoyo y tiempo.

Al Departamento de Producción Animal: Rumiantes y todos los profesores y personal que lo conforma, por acogerme como uno más de ellos y contribuir en mi formación profesional.

A mis Amigos de toda la vida: Andrés y Enrique que aun en la distancia sabemos que siempre, estamos para el que nos necesita.

Y a todos aquellos que estuvieron empujándome y me brindaron su ayuda durante esta maestría, como Olga, A.N.A., Moisés, Agustín, Tía Rosa, Tía Gina.

INDICE.

I. RESUMEN	I
II. ABSTRACT	II
III. LISTA DE IMÁGENES	III
III. LISTA DE GRAFICAS	IV
IV. LISTA DE CUADROS	VI
1. INTRODUCCION	1
1.1. Bases morfológicas del músculo esquelético	1
1.1.1. Población miofibrilar del músculo esquelético.	3
1.1.2. Perfil metabólico miofibrilar.	5
1.2. Generalidades de los fármacos bloqueadores agonistas de los receptores adrenérgicos B.	7
1.2.1. Efecto de los bloqueadores agonistas de receptores adrenérgicos B (B agonistas) en músculo esquelético.	8
1.2.2. Características del clorhidrato de zilpaterol	12
1.2.3. Característica del clorhidrato de ractopamina	13
2. JUSTIFICACIÓN	16
3. HIPÓTESIS	16
4. OBJETIVO GENERAL	16

5. MATERIALES Y METODO	17
5.1. <i>Animales</i>	17
5.2. <i>Toma de muestras.</i>	19
5.3. <i>Histología</i>	20
5.4. <i>Histoquímica</i>	20
5.5. <i>Reactividad no específica y precisión analítica</i>	21
5.6. <i>Análisis de imágenes.</i>	22
5.7. <i>Análisis estadístico</i>	23
6. RESULTADOS	24
6.1. Proporción de fibras en el músculo longissimus dorsi.	24
6.1.1 Morfología celular	25
6.1.2 Características metabólicas	28
6.2. Proporción de fibras en el músculo seitendinoso	33
6.2.1 Morfología celular	34
6.2.2 Características metabólicas	37
7. DISCUSION	42
8. CONCLUSION	59
9. PROSPECTIVAS	60
10. ANEXO	61
11. BIBLIOGRAFIA	69

I. RESUMEN

En México, la práctica de adicionar zilpaterol y la ractopamina, en la dieta de finalización para bovinos de engorda es una práctica legal. Los β agonistas tienden a incrementar parámetros productivos como la ganancia diaria de peso y el rendimiento de la canal. Se cree que esto se debe al aumento del área transversal y en la proporción del tipo de fibras musculares, las cuales difieren en sus características contráctiles, metabólicas y morfológicas. El objetivo de este trabajo fue conocer los efectos del zilpaterol y la ractopamina en las fibras esqueléticas de los bovinos, mediante determinaciones objetivas de las características contráctiles, metabólicas y morfológicas de fibras de los músculos *semitendinoso* (ST) y *longissimus dorsi* (LD) en el bovino. Se utilizaron 30 toretes de 24 meses de edad, de diferentes cruzas, que fueron divididos en tres grupos (10 n): grupo testigo (TEST), el grupo ractopamina (RACT) (200 mg/animal/día) y el grupo zilpaterol (ZILP) (0.15 mg/kg/peso vivo/día). Todos los animales recibieron la misma dieta. Los β agonistas se administraron por vía oral durante 35 días previos al sacrificio. Se obtuvieron las biopsias de ambos músculos antes de iniciar y al concluir los tratamientos. Las muestras fueron cubiertas con OCT, congeladas indirectamente con nitrógeno líquido y almacenadas a -70°C . Cada muestra fue cortada secciones seriadas transversales de $10\mu\text{m}$ de grosor, y teñidas con Hematoxilina- Eosina (HE), ácido peryódico de Schiff (PAS) y α amilasa PAS. Mediante histoquímica, se evaluó la actividad de las enzimas succinato deshidrogenasa (SDH), α glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (α GPDH) y mATPasa, con esta última se identificaron tres tipos de fibras (lentas oxidativas (I), rápidas oxidoglucolíticas (IIA) y rápidas glucolíticas (IIB)), determinando la actividad para cada enzima por D.O, número de núcleos, capilares (miles/ μm^2), área transversal (μm^2) y contenido de glucógeno D.O. La proporción de fibras tipo IIB del musculo ST aumentaron principalmente en el grupo zilpaterol en 94%, seguido por el de ractopamina 90%, mientras que en el LD, el grupo zilpaterol tuvo un aumento del 134% ($P<0.05$). La densidad de núcleos disminuyó en las fibras tipo IIB del grupo zilpaterol (25%) en el LD y (19%) en el ST ($P<0.05$), la densidad de capilares se mostro sin cambios. Sin embargo el área transversal, tuvo un decremento en los dos grupos tratados con respecto al testigo, en ambos músculos. La actividad de la α -GDPH en las fibras tipo I disminuyó la actividad (33%) en el grupo ractopamina del ST y (20%) en el grupo zilpaterol del LD ($P<0.05$). La actividad oxidativa (SDH) aumento en el grupo zilpaterol, en las fibras tipo I (40%), IIA (20%) y IIB (40%) del LD ($P<0.05$). La cantidad de glucógeno almacenado en los grupos tratados mostro disminución en ambos músculos (LD y ST), en los tres tipos de fibras ($P<0.05$). Se concluye que la administración de β agonistas a toretes implantados, induce cambios metabólicos y morfológicos, en las fibras musculares del bovino, por lo que algunos factores en los que se deben tener control son: raza, edad y manejo zootécnico.

II. ABSTRACT

In Mexico, the addition of zilpaterol and ractopamine in finishing diets for beef cattle is a legal practice. The β agonists tend to increase some productive parameters as the average daily gain and carcass yield. Those effects are due to change in the proportion and cross-sectional area of the fiber muscle, which are different in their contractile, metabolic and morphological characteristics. The aim of this study was to determine the effect of zilpaterol and ractopamine in bovine skeletal fibers by objective measurements of contractile, metabolic and morphological characteristics of fibers, in semitendinosus (ST) and longissimus dorsi (LD) muscles of the beef cattle. 30 different breed crosses steers with 24 months of age, were used. The animals were divided into three groups (10 n): control group (TEST), ractopamine group (RACT) (200 mg / animal / day) and zilpaterol group (ZILP) (0.15 mg / kg / body weight / day). All the individuals received the same diet. The β agonists were administered orally for 35 days before to slaughter. Biopsies were obtained from both muscles, before and the end of treatment. The samples were covered with OCT, frozen with liquid nitrogen indirectly and stored at -70°C . Each sample was cut in transverse serial sections of $10\mu\text{m}$ thickness, and stained with HE, PAS and α PAS. The activity of the enzymes succinate dehydrogenase (SDH), α -glycerol 3-phosphate dehydrogenase (α GPDH) and mATPase, was assessed by histochemistry. Using mATPase three types of fibers (slow-switch oxidative (I), fast-switch oxid-glucolitic (IIA) and fast-switch glycolytic (IIB)), were identified and the activity of each one was determined by Optic Density (D.O), number of nucleus, capillaries (miles / μm^2), cross-sectional area (μm^2) and glycogen content (DO). The proportion of type IIB of the ST muscle fibers. mainly increased in the zilpaterol group in 94%, followed by ractopamine group with 90%, while in the LD, zilpaterol group was up to 134% ($P < 0.05$). The number of nucleus decreased the type IIB fibers zilpaterol group (25%) in the LD and (19%) in the ST ($P < 0.05$), the density of capillaries showed no change. However, the cross-sectional area had a decrease in both treatment groups compared with the control in both muscles. The activity of α -GDPH in type I fibers decreased (33%) in group ST and ractopamine (20%) in group zilpaterol LD ($P < 0.05$). The oxidative activity (SDH) increased in the zilpaterol group in type I fibers (40%), IIA (20%) and IIB (40%) of LD ($P < 0.05$). The amount of glycogen stored in the treated groups showed a decline in both muscles (LD and ST) in the three fiber types ($P < 0.05$). The administration of β agonists to steers, induced metabolic and morphological changes in the type of fibers the beef, however more control should be put over race, age and animal management in cattle.

III. LISTA DE IMAGENES

Imagen.1. Macro y micro histología del músculo esquelético (Laboratorio de Anatomía, Universidad de Valparaíso, Chile)

Imagen. 2. Tinciones para ATPasa alcalina, en donde se muestran las tres diferentes intensidades en la tinción, que permiten diferenciar entre las fibras tipo I (oxidativas), IIA (oxidoglucolítica) y IIB (glucolítica).

Imagen. 3. Principales receptores β -adrenérgicos (β_1 , β_2) con su respectivo sistema transductor (proteína G); su efector primario (enzima adenilciclase AC); segundo mensajero (Adenosin Monofosfato cíclico, AMPc); y su efector secundario (proteinkinasa, PKA) (Fuente: Mersmann, 1998; Ferguson, 2001)

Imagen. 4. Fórmula estructural del Zilpaterol, que tiene afinidad por los receptores (β_2). (Adaptado de Johnson, 2004)

Imagen. 5. Fórmula estructural de la Ractopamina, que tiene afinidad por los receptores (β_1). (Adaptado de Johnson, 2004)

Imagen. 6. Actividades programadas para la fase experimental del proyecto.

Imagen 7. Resumen de resultados del músculo longissimus dorsi.

Imagen 8. Resumen de resultados del músculo semitendinoso.

IV. LISTA DE GRAFICAS.

Gráfica 1. Proporción de las fibras tipo I, IIA y IIB del músculo *longissimus dorsi*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post- tratamiento.

Gráfica 2. Densidad de núcleos de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post tratamiento.

Gráfica 3. Densidad capilar de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post-tratamiento.

Gráfica 4. Area transversal de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

Gráfica 5. Cantidad de ATPasa en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

Gráfica 6. Actividad de la enzima α -GPD en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post- tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

Gráfica 7. Actividad de la enzima SDH en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento, de los grupos test, ract y zilp.

Gráfica 8. Capacidad de digestión de glucógeno en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento, de los diferentes grupos (test, ract y zilp).

Gráfica 9. Cantidad de glucógeno almacenado en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento de los grupos test, ract y zilp.

Gráfica 10. Proporción de las fibras tipo I, IIA y IIB del músculo *semitendinoso*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post- tratamiento.

Gráfica 11. Densidad de núcleos de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post tratamiento.

Gráfica 12. Densidad capilar de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post-tratamiento.

Gráfica 13. Area transversal de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

Gráfica 14. Cantidad de ATPasa en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

Gráfica 15. Actividad de la enzima α -GPD en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post- tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

Gráfica 16. Actividad de la enzima SDH en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento, de los grupos test, ract y zilp.

Gráfica 17. Capacidad de digestión de glucógeno en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento, de los diferentes grupos (test, ract y zilp).

Gráfica 18. Cantidad de glucógeno almacenado en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento de los grupos test, ract y zilp.

V. LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Resumen de las principales características de los diferentes tipos de fibras musculares esqueléticas (López Rivero, 1988)

Cuadro 2. Características contráctiles, metabólicas y morfológicas, en el fenotipo fibrilar del músculo *longissimus dorsi*, de bovinos productores de carne del grupo testigo del primer y segundo muestreo.

Cuadro 3. Efectos de la administración de ractopamina, en el fenotipo fibrilar del músculo *longissimus dorsi* de bovinos productores de carne.

Cuadro 4. Efectos de la administración de zilpaterol, en el fenotipo fibrilar del músculo *longissimus dorsi* de bovinos productores de carne.

Cuadro 5. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en la densidad de núcleos ($\times 10^3/\mu m^2$), en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Cuadro 6. Efecto de la administración de ractopamina y zilpaterol en la densidad capilar ($\times 10^3/\mu m^2$), en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Cuadro 7. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en el área transversal de las fibras musculares (μm^2), en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Cuadro 8. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en la actividad de la ATPasa, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Cuadro 9. Efecto de la administración de ractopamina y zilpaterol en la actividad de la enzima α GPD, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Cuadro 10. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la actividad enzimática de la SDH, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Cuadro 11. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la digestión del glucógeno, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Cuadro 12. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la cantidad de glucógeno almacenado por las fibras musculares, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Cuadro 13. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la proporción del tipo de fibras, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Cuadro 14. Características contráctiles, metabólicas y morfológicas, en el fenotipo fibrilar del músculo *semitendinoso*, de bovinos productores de carne del grupo testigo del primer y segundo muestreo.

Cuadro 15. Efectos de la administración de ractopamina, en el fenotipo fibrilar del músculo *semitendinoso* de bovinos productores de carne

Cuadro 16. Efectos de la administración de zilpaterol, en el fenotipo fibrilar del músculo *semitendinoso* de bovinos productores de carne.

Cuadro 17. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en la densidad de núcleos ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$), en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

Cuadro 18. Efecto de la administración de ractopamina y zilpaterol en la densidad capilar ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$), en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

Cuadro 19. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en el área transversal de las fibras musculares (μm^2), en el músculo *semitendinoso* del segundo muestreo.

Cuadro 20. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en la actividad de la ATPasa, en el músculo *semitendinoso* del segundo muestreo.

Cuadro 21. Efecto de la administración de ractopamina y zilpaterol en la actividad de la enzima αGPD , en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

Cuadro 22. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la actividad enzimática de la SDH, en el músculo *semitendinoso* del segundo muestreo.

Cuadro 23. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la digestión del glucógeno, en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

Cuadro 24. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la cantidad de glucógeno almacenado por las fibras musculares, en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

Cuadro 25. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la proporción del tipo de fibras, en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

1. INTRODUCCIÓN

En México la industria cárnica bovina, ha enfrentado transformaciones profundas durante las tres últimas décadas. Una de estas transformaciones incluye el uso de promotores de crecimiento, los cuales tienen como fundamento principal promover un mayor rendimiento en canal (Escalante y col., 2005 y 2007). En este escenario los bloqueadores agonistas de receptores adrenérgicos β (AA- β), son los promotores de crecimiento de primera elección para las explotaciones intensivas de ganado bovino de carne. En la actualidad existen pocos estudios que expliquen los efectos que ejercen los (AA- β) a nivel muscular, especialmente en la morfología, metabolismo y contracción de las fibras musculares, para poder empezar a conocer estos efectos es necesario conocer las características musculares relacionadas con la morfología celular.

1.1 BASES MORFOLÓGICAS DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO.

El músculo esquelético es el tejido mayoritario en los mamíferos. El 90 % de este tejido son fibras musculares y el resto tejido conectivo, grasa, vasos y nervios, que presenta una diversidad funcional.

El músculo esquelético está completamente rodeado por una fascia de tejido conectivo fibroso llamado epimisio, que cubre a un conjunto de haces que se encuentran, cada uno rodeado por el epimisio, cada haz está conformado hasta por 150 fibras llamado fascículo. Cada fibra está separada de las fibras adjuntas por una capa de tejido conectivos llamada endomisio. Debajo del endomisio y rodeando a cada fibra muscular encontramos el sarcolema, esta membrana delgada y elástica, delimita el contenido de la fibra. Está compuesta por la membrana plasmática (plasmalema) y la membrana basal, entre estas dos membranas se encuentran las células satélites cuya función es la regeneración celular (Allen y Rankin, 1990). El sarcoplasma de las fibras contiene enzimas, partículas de lípidos y glucógeno, múltiples núcleos que se localizan hacia la periferia, mitocondrias y varios organelos necesarios para la función celular de la fibra muscular.

Cada fibra está compuesta por unidades funcionales llamadas "miofibrillas" posee una morfología alargada de varios mm de longitud, una razón de la longitud que presentan dichas fibras, es probablemente que cada fibra proviene de muchas células embrionarias

individuales, llamadas mioblastos que se fusionan durante el desarrollo embrionario para formar, miotubos, que posteriormente darán origen a las miofibrillas, estas son responsables de la contracción, tienen una forma cilíndrica alargada (1 a 3 μm de diámetro) con una disposición paralela al eje longitudinal de la célula (Pette, 1980). La miofibrilla también contiene pequeñas unidades más pequeñas llamadas filamentos o miofilamentos que se encuentran paralelos al eje de la miofibrilla, estos filamentos están compuestos por varias proteínas; la miosina, actina, tropomiosina y troponina, que constituyen cerca del 85% de la miofibrilla (Virgen, 2002).

Las miofibrillas que contienen cada músculo, difieren en sus propiedades metabólicas (capacidad glucolítica y oxidativa así como en el contenido de sustratos) y velocidad máxima de contracción. El fenotipo muscular se expresa de una manera coordinada y se puede llegar a adaptar a diferentes estímulos fisiológicos y patológicos (Brooke y Kaiser. 1970, Lefaucheur y col. 1998, Agüera y col. 2001).

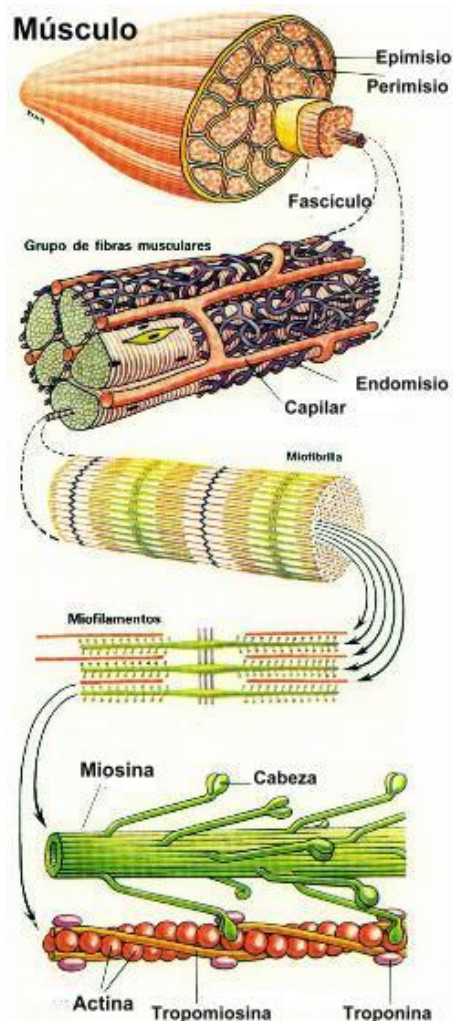


Imagen.1. Todos los músculos esqueléticos de los vertebrados, están organizados con una jerarquía estereotipada. El este órgano, está constituido por fibras multinucleadas paralelas, cada una de las cuales contienen muchas miofibrillas. Las miofibrillas están constituidas por sarcómeros, ordenados de un extremo al otro. Cada sarcómero contiene filamentos delgados de actina y filamentos gruesos de miosina. Los filamentos delgados a su vez están constituidos por tres diferentes proteínas, actina, troponina y tropomiosina. (Tomado de Laboratorio de Anatomía, Universidad de Valparaíso, Chile)

1.1.1 POBLACIÓN MIOFIBRILAR DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO.

La técnica histoquímica para la detección de miosin-ATPasa, por medio de la preincubación alcalina o ácida, permite la caracterización de tres tipos fundamentales de fibras musculares en el bovino, que son: fibras lentas o tipo I y rápidas tipo II (A) y (B). La estandarización de esta técnica de histoquímica, revela diferencia en la actividad enzimática mitocondrial. (Pearse, 1968), y permite delimitar un tipo de fibra lenta que presenta un metabolismo oxidativo (I) y dos tipos de fibras rápidas, la primera con metabolismo oxido-glucolítico (IIA) y la segunda presenta un metabolismo glucolítico (IIB). Los tipos de fibras difieren en su velocidad de contracción, determinada principalmente por las isoformas de miosina de cadena pesada (MHC) contenida en cada fibra. Las fibras tipo I (contracción lenta) y las fibras tipo II (contracción rápida) tiene una actividad alta y baja de miosin-ATPasa miofibrilar respectivamente (Barany, 1967). Por medio de técnicas inmunológicas se ha podido determinar el tipo de MHC que abunda en cada tipo de fibra. Con el uso de anticuerpos se distinguen 10 distintas isoformas de MHC en el músculo esquelético de mamíferos, incluyendo 6 rápidas, 2 lentas y 2 cadenas pesadas de desarrollo, que están expresadas en las fibras, dependiendo del metabolismo que presentan y arregladas de manera específica. Las MHC1, 2A, 2D/X, 2B, están presentes normalmente en músculos de mamíferos adultos, músculos de rata y conejillos de indias (Schiaffino y col., 1989; Delp y Duan, 1996). En este sentido las fibras tipo (I) oxidativas contienen MHC1, mientras que las fibras tipo IIA y IIB están compuestas por MHC2a y MHC2b respectivamente, sin embargo en los bovinos los tipos de MHC 2D/X no han sido identificados claramente (Brandstetter y col, 1998). En la actualidad se ha encontrado que un gran número de fibras híbridas contiene dos o mas isoformas de MHC, éstas fueron primero detectadas en músculos de animales neonatales, posteriormente se encontró que hay prevalencia en músculos que están en desarrollo y músculos de adultos, esto demuestra que hay un estado transitorio en la diferenciación del tipo de fibras musculares, un ejemplo de estas fibras híbridas que se encuentran en el músculo bovino son las fibras tipo (IIC), que contienen tanto MHC rápida como lenta, este tipo de fibras las podemos encontrar en pequeñas proporciones en el total de población fibrilar (Hämäläinen y Pette, 1995).

En el ganado bovino el número de fibras musculares es fijado al nacimiento, pero durante el transcurso de la diferenciación posnatal las fibras musculares experimentan una transición de

la isomiocina, esta transformación está regulada por signos neurológicos, factores endocrinos y en gran medida por demandas funcionales. Así cada músculo adquiere una composición de fibras específicas coordinado con cambios en la actividad enzimática metabólica y mantenido por la habilidad para la adaptación (Goldspink y col., 1992).

En general la transición del tipo de fibra evoluciona de una población en su mayoría conformada por fibras tipo I, hacia un tipo glucolítico que presenta la siguiente dinámica: I ↔ IIC ↔ IIA ↔ (IID/X) ↔ IIB. (Schiaffino y col., 1990). En bovinos, la proporción de fibras tipo I se mantiene relativamente constante mientras hay cambios del tipo oxidoglucolítico (IIA) a la fibra mas glucolítica IIB y viceversa, este es el mayor evento en la diferenciación posnatal de las fibras musculares. (Spindler y col., 1980; Seideman y col., 1986; Solomon y col., 1986; Jurie y col., 1995, Brandstetter, y col., 1998).

Sin embargo hay muy pocos reportes en los que se hayan evaluado estas características en fibras musculares de bovinos tratados con B agonistas . En una investigación en el cual se utilizó el clenbuterol (7 mg/kg/día, por 50 días), se incrementó en un 25% el área transversal de fibras oxidativas (tipo I y IIA) y glucolíticas (tipo IIB) en el músculo *longissimus dorsi* al mismo tiempo que aumentó el contenido de ARNm para miosina de cadena ligera 1 (Smith y col., 1995). Estudios realizados con cimaterol (0.6 mg/kg/día, por 90 días) demostraron cambio de metabolismo oxidativo a glucolítico en los músculos *longissimus dorsi* y *semitendinoso*. Los cambios se asociaron con disminución en la proporción de fibras tipo IIA e incremento en la de fibras tipo IIB, así como un incremento en el área transversal de estas últimas fibras y disminución en la densidad de capilares (Vestergaard y col., 1994).

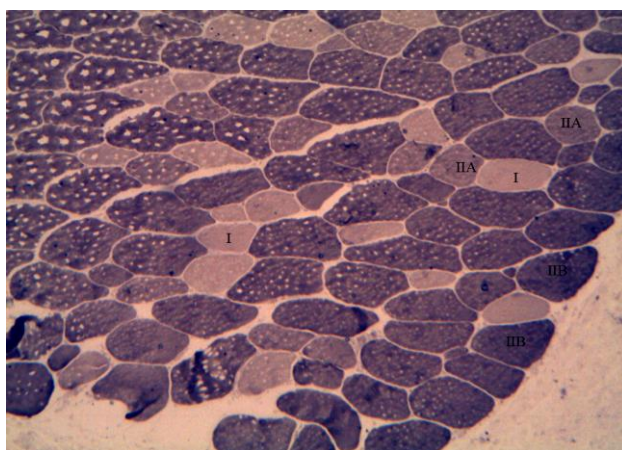
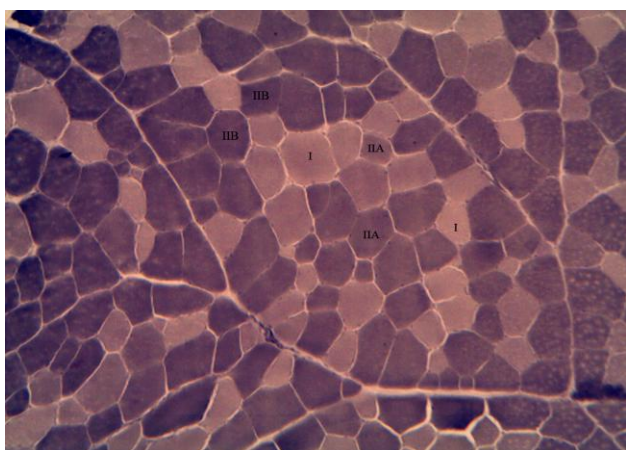


Imagen. 2. Tinciones para ATPasa Alcalina, en donde se muestran las tres diferentes intensidades en la tinción, que permiten diferenciar entre las fibras tipo I (oxidativas), IIA (oxidoglucolítica) y IIB (glucolítica). Fotografía tomada con el equipo Spot RT color camera, (modelo 2.2.0, Diagnostic Instruments Inc., Sterling Heights, MI), por Juan I. Pérez Espíritu.

1.1.2 PERFIL METABÓLICO MIOFIBRILAR.

Se ha demostrado que los B agonistas aparte de inducir una hipertrofia muscular, inducen un cambio en el tipo de fibras hacia oxidoglucolíticas y glucolíticas (Miller y col, 1988). Sin embargo, al inducir un cambio en la proporción del tipo de fibras, también se ve afectado el perfil metabólico, el cual puede ser determinado con técnicas histoquímicas, poniendo en evidencia las enzimas que están involucradas en las principales rutas metabólicas de las fibras (Hintz y col. 1984), por medio de estas técnicas bioquímicas se puede determinar la cantidad y tipo de los sustratos energéticos (carbohidratos o lípidos) contenidos en cada tipo de fibra (Lindholm, 1975, Snow y cols. 1981, Stull, 1986). Entre las diferentes especies, las actividades enzimáticas varían, (Reichmann y Pette, 1982) o entre fibras pertenecientes al mismo tipo histoquímico lo que indica un amplio espectro en su perfil metabólico (Spamer y Pette, 1980, Pette 1985, Pette y Spamer 1986), esto se puede atribuir al hecho de que las propiedades metabólicas y contráctiles, de cada fibra, se regulan de manera independiente (Pette 1985; Pette y Spamer 1986). Las fibras tipo I (oxidativas) presentan una tasa muy alta en el metabolismo energético, lo que le permiten utilizar de una manera mucho más efectiva la energía por medio de la ruta aeróbica (López Rivero, 1988). La glucosa, ácidos grasos libres, glucógeno y triglicéridos son utilizados como sustratos que se metabolizan por rutas oxidativas, permitiendo el mayor aporte de ATP a las fibras (Gollnick 1982; Newsholme y Leech 1983, López Rivero 1988). Este tipo de fibras presentan una alta cantidad de mitocondrias, las cuales le permiten tener una gran capacidad oxidativa y consecuentemente una menor capacidad glucolítica (Bylund y col. 1977; Mathieu y col. 1981) de este tipo de metabolismo están involucradas una gran variedad de enzimas oxidativas, así como una alta capilaridad y un alto contenido de mioglobina (fibras rojas). Las características antes mencionadas permiten una mejor oxigenación de las fibras, lo que les confiere una mayor resistencia a la fatiga (Barlow y col. 1984; van den Hoven y col. 1985, López Rivero 1988). La escasa cantidad de miosin-ATPasa en estas fibras, provoca una menor capacidad para hidrolizar el ATP, de ahí la lentitud en el rendimiento energético de este tipo celular (Rose 1986; McMiken 1983). Las fibras tipo II producen una alta cantidad de energía mediante la utilización de moléculas energéticas (glucosa y glucógeno) por la rutas anaeróbicas, confiriéndole a este tipo de fibras un mayor potencial de consumo y de rendimiento, pero menor resistencia (Barlow, 1984; McMiken, 1983).

Cuadro.1. Resumen de las principales características de los diferentes tipos de fibras musculares esqueléticas (López Rivero, 1988).

Características	Tipos de fibras			
A) HISTOLÓGICAS	I	IIA	IIB	Reporta
Tamaño	Pequeño	Intermedio	Grande	Barlow y col. 1984
Color	Rojo	Intermedio	Blanco	Schuber 1971 /72
Densidad capilar	Alta	Intermedio	Bajo	Snow 1983a
Mitocondrias	Numerosas	Numerosas y periféricas	Escasas	Hoppeler y col. 1983
Densidad volumen mitocondrial	5.6 %	6.7 %	0.7 % - 3.25 %	Hoppeler y col. 1983
B) FISIOLÓGICAS				
Velocidad de contracción	Lenta	Rápida		Howald 1982
Tiempo de contracción	99 – 140 ms	40 – 88 ms		Garnett y col., 1979
Veloc. de relajación	Lenta	Rápida		Wiles y col., 1979
Máxima tensión	12 g	25 g		Garnett y col., 1979
Veloc. Conducción de membrana.	2.5 m/s	5.4 m/s		Howald 1982
Elasticidad	Alta	Baja		Barlow y col. 1984
Fuerza/intensidad	Lento	Rápido desarrollo		Barlow y col. 1984
	Baja			
Función	Aplomos y resistencia	Propulsión y velocidad		Aberle y col., 1976
C) METABÓLICAS				
Cap. Oxidativa	Alta	Intermedia	Baja	Snow 1983
Cap. Glucolítica	Baja	Intermedia	Alta	Valberg y col., 1985
Cont. Glucógeno	Intermedio	Alta	Alta	Andreas/Spurgeon 1985
Cont. Miosin -ATPasa	Baja	Alta	Alta	Rose 1985
Ac. Glucógeno sintetaza	Baja	Alta	Alta	Snow y col., 1982b
Act. Lactato deshidrogenasa (LDH)	Baja	Alta	Alta	Valberg/Essén-G 1985
Act. alfa-glicerofosfato deshidrogenasa (AGDPH)	Baja	Baja	Alta	V.D.Hoven y col., 1985
Act. Citrato Sintetasa (CS)	Alta	Alta	Baja	Valberg/Essén-G 1985
D) HISTOQUÍMICAS				
Act. nicotinamide adenine dinucleotide tetra-zolium reductasa (NADH – TR)	(Alta)	Intermedia	(Baja)	Essén y col. 1980
Act. Succinato deshidrogenasa (SDH)	(Alta)	Intermedia	(Baja)	Snow/Guy 1980

1.2 GENERALIDADES DE LOS FÁRMACOS BLOQUEADORES AGONISTAS DE LOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS β .

En la década de los 70's los β agonistas se comenzaron a utilizar para inducir la broncodilatación. En la siguiente década, se descubrió que la administración oral de β agonistas, a dosis supraterapéuticas utilizadas para inducir broncodilatación, promovía el crecimiento muscular esquelético al tiempo que reducía la deposición de grasa corporal (Emery y col., 1984). Este efecto se ha observado en todas las especies animales en las que se ha estudiado este fenómeno (Mersmann, 1995; Salem, y col., 2006).

Los AA- β pertenecen al grupo de las fenetanolaminas incluyen el brombuterol, carbuterol, cimaterol, cimbuterol, clenbuterol, clenpenterol, fenoterol, isoproterenol, mabuterol, mapenterol, orciprenalina, pirbuterol, ractopamina, salbutamol, terbutalina, tulobuterol y zilpaterol. Las catecolaminas naturales del organismo (epinefrina y norepinefrina) son muy similares a los AA- β . Pero, sin embargo las fenetanolaminas muestran importantes diferencias en las actividades intrínsecas, ello se debe a las características de los grupos sustituyentes. Asimismo, las diferentes sustituciones en diferentes partes de su estructura molecular, confieren a estos fármacos distintas características farmacocinéticas; a su vez, las diferentes capacidades de distribución y permanencia en el organismo determinan la magnitud del efecto del AA- β y la persistencia de residuos en los tejidos animales. Para los AA- β , las sustituciones en el anillo aromático son importantes para obtener una actividad biológica definida. (Sumano, y col., 2002)

En bovinos, aunque se reporta incremento en el peso de la canal de hasta 25% con el uso de B agonistas (Vestergaard y col., 1994a), el efecto puede ser menor al 25 % y en ocasiones no se presenta un incremento significativo (Moloney y col., 1994). Las diferencias en ganancia de peso se pueden atribuir a factores experimentales como edad, sexo y raza de los animales, así como al B agonistas utilizado. A pesar de que en ocasiones no hay diferencia en el peso vivo con los animales testigo, la proporción de músculo depositado en los cortes valiosos en los animales tratados con B agonistas se incrementa de manera significativa (Moloney y col., 1994). Esto se puede explicar por un efecto de redistribución proteica, lo que ocasiona que más proteínas se depositen en los músculos, haya menos grasa y se incremente la proporción canal:visceras (Moloney y col., 1994; Anvedaño-Reyes y

col., 2006; Walker y *col.*, 2006), no es necesario incrementar la proteína metabolizable en la dieta para maximizar la respuesta a los B agonistas (Walker y *col.*, 2006). Todo esto hace que a los B agonistas se les denomine como promotores no esteroideos del rendimiento o agentes de repartición.

1.2.1. EFECTO DE LOS BLOQUEADORES AGONISTAS DE RECEPTORES ADRENERGICOS β (AA- β) EN MÚSCULO ESQUELÉTICO.

Los bloqueadores agonistas de los receptores β (B agonistas) son moléculas orgánicas que tienen afinidad por los receptores β -AR, dicha unión da como resultado el complejo agonista-receptor, que induce la activación de la proteína Gs, una vez estimulada, la subunidad α , activa a la adenilatociclasa, que produce el monofosfato de adenosina cíclico (AMPC). Esta molécula produce sus efectos al unirse a la subunidad reguladora de la proteína cinasa A, para liberar la subunidad catalítica que fosforila a gran número de proteínas intracelulares, dentro de las cuales, podemos encontrar el aumento en la síntesis de proteínas clave para el funcionamiento celular (Sillence, y *col.*, 2000, Peters, 1989, Ruffolo, 1991).

Los agonistas fisiológicos de los receptores adrenérgicos β (β -AR) son la norepinefrina y la epinefrina. Ambas catecolaminas pertenecen al grupo de las fenetanolaminas. La norepinefrina también es un neurotransmisor del sistema nervioso simpático, que se biosintetiza a partir de la tirosina y circula en el suero en concentraciones relativamente elevadas. La epinefrina se sintetiza en su mayoría y secreta en la médula adrenal; circula en menores concentraciones que la norepinefrina en la mayoría de los mamíferos, pero en situaciones de estrés responde más activamente que ésta. (Mersmann HJ, 1998). La norepinefrina es más selectiva de receptores α y la epinefrina actúa sobre ambos, con mayor selectividad por los receptores β . Las respuestas fisiológicas se producen cuando estos B agonistas se unen a los tres diferentes receptores β que existen en las células, dependiendo de la afinidad que presente el B agonistas elegido, provocando que los resultados entre los diferentes B agonistas sean variables. La administración oral de los B agonistas , modifica el crecimiento por aumento de la masa muscular y disminución de la acumulación de grasa. Los receptores β -AR están presentes en las células de los mamíferos, mostrando tres diferentes subtipos β_1 , β_2 y β_3 ; la proporción de cada uno de estos receptores, varía intertisular e interespecie. (Mersmann HJ, 1998). La magnitud de la actividad fisio-farmacológica de un agonista o agonista-parcial β -AR, dependerá de su denominada actividad intrínseca en el

receptor y distribución en los tejidos blanco (Smith DJ, 1998). Los receptores β_1 predominan en el corazón estimulando su inotropismo y en el músculo liso intestinal induciendo relajación, (Peters, 1989) mientras que a los receptores β_2 se les localizan tanto en músculo liso como en el músculo estriado, en el músculo liso inducen relajación, sin embargo, en el músculo estriado, inducen un aumento en la síntesis de proteína y una reducción en la degradación proteica, lo cual causa un aumento en el tamaño de la miofibrilla, conocido como hipertrofia muscular (Winterholler y col,2007, Vestergaard y col, 1994a).

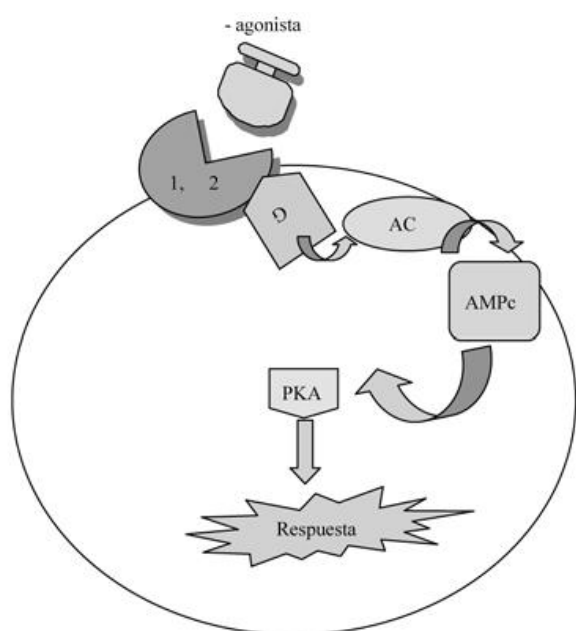


Imagen. 3. Principales receptores β -adrenérgicos (β_1 , β_2) con su respectivo sistema transductor (proteína G); su efector primario (enzima adenilciclasa AC); segundo mensajero (Adenosin Monofosfato cíclico, AMPc); y su efector secundario (proteinkinasa, PKA) (Fuente: Mersmann, 1998; Ferguson, 2001)

En el año 1965 se presentaron datos que indicaban la posibilidad de modificar el crecimiento de los mamíferos al suministrar estos AA- β agonistas. (Mersmann HJ, 1998). Se sugirió que directa o indirectamente podrían lograr el incremento en peso corporal al cambiar la concentración intracelular del AMPc. En los inicios de la década de los ochenta, los Laboratorios Cyanamid publicaron algunos datos sobre la modulación del crecimiento en animales utilizando el clenbuterol (Ricks, y col., 1984). Asimismo, Ricks y col., (1984) demostraron que la administración oral de este B agonistas en varias especies productoras de carne como bovinos, aves, cerdos y ovejas, produjo un aumento en la masa muscular y disminuyó la cantidad de grasa corporal. En México se obtuvieron resultados similares con el clenbuterol, suministrado en el alimento tanto a cerdos como a aves. (Ornelas GJJ, 1992). Sin embargo, en aves se requirió hasta cinco veces la dosis promotora del rendimiento usada

en otras especies, para obtener resultados tangibles. A estos hallazgos siguieron, algunos años después, réplicas con otros β agonistas como el cimaterol, (Vanbelle y Tellez, 1991) ractopamina, zilpaterol y salbutamol, aplicados a diferentes especies, obteniéndose resultados variados, pero la gran mayoría con informes sobre aumento en el rendimiento de la canal (Moody, y col., 1999; Penny, y col., 1994; Hansen, y col., 1997; Hanrahan, 1992).

De acuerdo con Mersmann, 1998 y Vestergaard, 1994a, los efectos de los B agonistas se manifiestan en bovinos/ovinos/cerdos y aves, siendo esta última especie, la que presenta un efecto menos pronunciado en la hipertrofia muscular. Una probable explicación es la selección tan intensiva en la velocidad de crecimiento de algunas especies, principalmente la de las aves, que tienen menor potencial para incrementar el crecimiento debido a que están muy próximas a la velocidad de crecimiento biológico máximo. Otros posibles mecanismos incluyen la afinidad del B agonistas por los receptores β , el acoplamiento de este al receptor y al sistema transductor de señales, estos son factores que influyen el transporte del fármaco a los sitios del receptor. Además existe un número limitado de receptores β -AR en tejidos blanco, reduciendo la respuesta al B agonistas. (Mersmann, 1998). Uno de los efectos más claros derivados de la administración oral de los AA- β en el ganado, cerdos y ovinos, es el aumento en la masa muscular (Smith, 1998).

En condiciones fisiológicas el crecimiento posnatal del músculo esquelético es resultado de la hipertrofia, debido al aumento de la síntesis proteica muscular y una disminución en la degradación de proteína muscular o una combinación de ambos (Yang y McElligott, 1989). La aplicación de AA- β amplifica estos efectos, el tratamiento de los mamíferos con agonistas β -AR causa un incremento en la cantidad ARNm para varias proteínas del músculo esquelético, como la miosina de cadena ligera; el ARNm de la α -actina y el inhibidor de la proteasa calpaína - calpastatina. (Smith, y col., 1989; Helferich, y col., 1990; Higgins, y col., 1988). Los agonistas β -AR pueden incrementar el flujo sanguíneo a ciertas regiones del cuerpo, este aumento permite el proceso de hipertrofia en el músculo esquelético al transportar mayores cantidades de sustratos y fuentes de energía para la síntesis de proteínas. Otra acción de la administración oral de los B agonistas es la disminución en la cantidad de grasa de la canal (Kim y col., 1987). Se ha demostrado *in vitro* la degradación de triglicéridos en adipocitos y la inhibición de la síntesis de ácidos grasos y de triglicéridos. (Adeola, y col., 1992; Preitner y col., 1998). La administración crónica de un agonista, provoca en el tejido adiposo de los animales una actividad lipolítica aumentada o una

actividad lipogénica disminuída, o ambas. La elevación de la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados después de la administración de un AA- β , confirma la actividad lipolítica que ocurre en los adipocitos. (Mersmann HJ, 1996; Mersmann HJ 1989a; Mersmann HJ, 1989b; Sumano y col., 2002). Por lo tanto los B agonistas, son fármacos capaces de inducir un efecto anabolizantes a nivel muscular y un efecto catabólico del tejido adiposo, mediante una lisis de los triglicéridos y una disminución en la síntesis de lípidos; teniendo como consecuencia, una mayor cantidad de energía disponible para sintetizar proteína a nivel muscular (Yen y col., 1989), a partir de aminoácidos disponibles para este fin. Se piensa que el incremento en el flujo sanguíneo muscular, después de la administración de algún B agonistas, contribuye a un mayor transporte de nutrientes a este tejido (Byrem y col., 1998; Eisemann y Bristol, 1998). Esto se traduce en un incremento en la síntesis de proteína en bovinos, porcinos y aves (Herbert y col., 1985; Mersmann, 1998).

Las diferencias en ganancia de peso debido a la administración de B agonistas, se pueden atribuir a factores como la edad, raza y sexo de los animales (Vestergaard y col., 1994a). En el caso del tipo de especie (bovinos, ovinos, suinos y aves), tipo de músculo (esquelético o liso) y la expresión de genes específicos para proteínas relacionadas en el metabolismo de los B agonistas son afectados en diferentes grados, dependiendo del tipo de B agonistas que se esté administrando (p.e. clenbuterol, cimaterol o ractopamina) (Bridge y col., 1998). Greife y col. (1989) y Vestergaard y col. (1994b) demostraron que la administración de B agonistas resulta en mayor ganancia diaria de peso en bovinos con mayor peso al inicio de la engorda comparados con bovinos de menor peso al inicio de la engorda. Otros autores como Schiavetta y col., (1990), han señalado que la madurez fisiológica, podría explicar las diferencias en la repartición de nutrientes inducido por la administración de AA- β .

El incremento gradual en la masa muscular que se logra con los B agonistas se atribuye al aumento en la síntesis de proteínas musculares, la reducción en la degradación de estas proteínas, o una combinación de ambos (Mersmann, 1998). La disminución en el recambio proteico se asocia con reducción en la excreción de nitrógeno e incremento muscular en el ARNm para la calpastatina, inhibidor endógeno de las proteasas calpains (Killeffer y Koohmaraie, 1994). La mayor movilización de aminoácidos hacia el interior del músculo y de ácidos grasos no esterificados a partir del músculo (Byrem y col., 1998) promueve la deposición gradual de proteínas y la hipertrofia muscular.

1.2.2. CARACTERÍSTICAS DEL CLORHIDRATO DE ZILPATEROL

El crecimiento muscular puede ser manipulado mediante el uso de técnicas de manejo que incrementan la hipertrofia muscular y al mismo tiempo disminuyen la deposición de grasa (Swanek y col, 1999). Dentro de estas técnicas podemos citar el uso de los B agonistas . Varias investigaciones han reportado que estos compuestos regulan tanto la síntesis como la degradación proteica (Bohorov y col., 1987). Entre ellos está el zilpaterol, usado para la finalización de bovinos, esta acción fue aprobada hace más de 10 años en México (Anvedaño-Reyes y col., 2006), y de manera más reciente en los Estados Unidos de América. (Alexander y col, 2007; Andersen y Henriksson, 1977). El clorhidrato de zilpaterol se absorbe rápidamente por vía oral, aproximadamente 12 horas después del consumo. Su eliminación se presenta de modo bifásico con una primera fase de disminución rápida (11.9 a 13 horas de vida media), seguida por una remanencia todavía medible al octavo día. Debido a esta razón el zilpaterol presenta un periodo de retiro de 3 días, por lo que dentro de esta fecha no podrá ser consumida la carne de los animales alimentados con este fármaco.

La adición del zilpaterol en la dieta de finalización en engordas de bovinos destinados para consumo humano es una práctica común y legal (NOM-EM-015-ZOO-2002). El zilpaterol posee características fisicoquímicas que le permite a los bovinos eliminar este fármaco rápidamente (Sumano y col., 2002), el cual ha demostrado que se excreta rápidamente por la orina que es la principal vía de excreción, ya que por ella se llega a eliminar el 86% del fármaco, del total de la dosis administrada el 60%, es eliminada en las primeras 24 horas y llega a ser del 98% en 48 horas. La administración del zilpaterol ha demostrado mejorar la eficiencia en la conversión alimenticia (CA) y el rendimiento en canal, mediante pruebas en engordas comerciales (Oneida y col., 2002).

En evaluaciones comerciales donde se suministró el zilpaterol durante los últimos 30 días de alimentación, la conversión alimenticia mejoró entre un 14 y un 22%, el peso en canal entre 5 y 7% y el rendimiento en canal entre un 3 y un 3.5% sobre el grupo testigo (Strydom, 1988). Estudios recientes en bovinos demostraron que la administración oral en el alimento de zilpaterol (50-60 mg/animal/día, por 30-33 días) (Anvedaño-Reyes y col., 2006; Castellanos-Ruelas y col., 2006) incrementó de manera significativa la ganancia diaria de peso, la conversión alimenticia, el peso de la canal y el área del músculo *longissimus dorsi*. (Anvedaño-Reyes y col., 2006).



Imagen. 4. Fórmula estructural del Zilpaterol, que tiene afinidad por los receptores (β₂). (Adaptado de Johnson, 2004)

1.2.3. CARACTERÍSTICA DEL CLORHIDRATO DE RACTOPAMINA

El clorhidrato de ractopamina (RAC), es una fenetanolamina, este fármaco estimula la síntesis de proteínas y disminuye la deposición de tejido adiposo en el ganado bovino, pero en el cerdo muestra un efecto mucho más marcado (Smith, 1987; Watkins y col., 1990; Dunshea y col., 1993a; Xiao y col., 1999).

Este fármaco fue aprobado por la FDA para su uso en cerdos en el año 2000, y en marzo de 2004, fue aprobado para su uso en bovinos. Dado que el uso de la ractopamina es relativamente nuevo en la producción de carne de origen vacuno, es básico determinar la dosis óptima y la vida media del fármaco, evaluar el rendimiento que se presente en corrales de engorda y características de la canal, y así poder conocer las posibles consecuencias metabólicas y el mejoramiento en el comportamiento con la alimentación de la ractopamina en ganado de engorda. El clorhidrato de ractopamina, fue probado a niveles de 200 a 300 mg por novillo, en los últimos 30 a 35 días de engorda, observándose que los novillos tratados ganaron peso más rápido (17.9%), mejoraron 14% en su eficiencia alimenticia y sus canales pesaron en promedio 5.1 kg más que el grupo testigo (Loe et al., 2005). En la biotransformación de la ractopamina participan principalmente el hígado y el intestino, mientras que las principales vías de eliminación son el riñón y la bilis, la vía biliar de la ractopamina es de gran importancia en las ratas y los pavos (35 a 60% de la dosis administrada) (Smith y Paulson, 1994), pero en cerdos esta vía tiene menos importancia, en los cuales el 88% de una dosis oral de clorhidrato de ractopamina es eliminada en la orina (Dalidowicz et al., 1992). En lo referente a los residuos de ractopamina en hígado con un

tiempo de retiro, denominado “cero” (que en realidad es 12 h), se ha informado que es igual o inferior a 0.013 ppm. Este valor es inferior a la concentración de residuos máximos (MRL=*maximal residue limit*), que es de 0.15 ppm. (Sumano y col., 2002).

La ractopamina es una fenetolonamina bloqueador agonista de los receptores adrenérgicos β , que contiene dos átomos de carbono quirales, y existe como una mezcla de cuatro estereoisómeros (Ricke y col., 1999). Los resultados de Ricke y col. (1999) indican que el isómero de la ractopamina es responsable de la mayoría de los efectos que mejoran la presencia de carne magra en ratas. Uno de los efectos más evidentes de la ractopamina es el aumento de masa muscular (Mersmann, 1998). La ractopamina parece estimular eficazmente la hipertrofia muscular en los cerdos, al mismo tiempo que aumenta la tasa de crecimiento. Por otra parte, aumenta la retención de nitrógeno y parece incrementar la síntesis de proteínas (Smith y col., 1989a). Bergen y col. (1989) estudiaron los efectos de la ractopamina sobre acumulación y síntesis de proteínas, la actividad de las catepsinas B, H, L y proteinasas dependientes del calcio, y el contenido de ácido nucleico del músculo *semitendinoso* (ST) en machos castrados cruzados. Un aumento en el contenido de ARNm normalmente se asocia con aumento de la síntesis de proteínas, lo que indica un aumento en la tasa de la síntesis de ARNm (Smith et al., 1989a).

Un segundo efecto de la ractopamina, es la disminución de la cantidad de grasa presente en la canal (Mersmann, 1998), esto es debido a su actividad a través de mecanismos lipogénicos de dos vías (Liu y col., 1994). Un mecanismo es que la fosforilación de la PKA-dirigida de proteínas existentes pueden disminuir su actividad, y la segunda es que el aumento de la PKA puede conducir a una disminución en la tasa de transcripción de los genes y el contenido celular de las proteínas clave (Liu y col., 1994). Sin embargo, en dietas para cerdos, en las que se adicionó ractopamina a una dosis de 20 mg/kg de la dieta no provoca reacciones típicas que presentan los β agonistas en el tejido adiposo, lo cual hace pensar que el tejido adiposo es un blanco menos sensible que el músculo esquelético para la ractopamina. (Liu y col., 1994). Datos de estudios donde fueron utilizados β -agonistas radiomarcados, muestran claramente que el clorhidrato de ractopamina y el clorhidratato de clenbuterol no son lipofílicos. El total de residuos radiactivos en el tejido adiposo del cerdos fue de 20 ppm después de un tiempo de espera de 0 día, de una dieta que contiene 30 ppm de ractopamina, pero después de un tiempo de espera de 48 hrs los residuos radiactivos fueron indetectables (límite de detección de 10 ppm) (Dalidowicz et al. 1992). Por el

contrario, los residuos en el hígado y el riñón fueron detectables 48 horas después de retirar el fármaco. Los residuos totales de clorhidrato de ractopamina en el hígado de cerdos fueron 19 veces mayores que los residuos de tejido adiposo en un tiempo de espera cero (Dalidowicz et al., 1992).

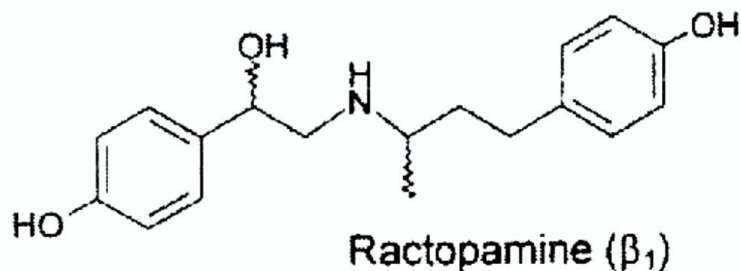


Imagen. 5. Formula estructural de la Ractopamina, que tiene afinidad por los receptores (β₁). (Adaptado de Johnson, 2004)

2. JUSTIFICACIÓN

El trabajo pretende conocer la biología muscular de los bovinos tratados con zilpaterol y ractopamina, en particular sus características contráctiles, metabólicas y morfológicas de las fibras musculares. Estos resultados contribuirán al entendimiento de los cambios que ocurren a nivel celular en el músculo esquelético de esta especie. La adición de zilpaterol o ractopamina a la dieta de finalización para bovinos de engorda puede incrementar el rendimiento de la canal y podrá alterar la proporción del tipo de fibras en los músculos *semitendinoso* y *longissimus dorsi*.

3. HIPÓTESIS

La administración de zilpaterol o ractopamina a la dieta de finalización para bovinos de engorda incrementará la proporción de fibras musculares glucolíticas (IIB) al mismo tiempo que disminuirá las oxidativas (I). Este cambio se reflejará en un incremento del metabolismo muscular glucolítico y disminución del oxidativo. La ractopamina y el zilpaterol incrementarán el área transversal de las fibras musculares glucolíticas, pero no la de las oxidativas, sin afectar de manera significativa el número proporcional de capilares.

4. OBJETIVO GENERAL

Definir de manera objetiva el efecto del zilpaterol y la ractopamina sobre las características contráctiles, metabólicas y morfológicas de las fibras musculares esqueléticas en el bovino.

5.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el efecto del zilpaterol y la ractopamina sobre la actividad de la enzima trifosfatasa de adenosina miofibrilar (mATP-asa).
- Analizar el efecto del zilpaterol y la ractopamina sobre la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa a nivel muscular.
- Conocer el efecto del zilpaterol y la ractopamina sobre el contenido de glucógeno y su digestión enzimática en las fibras musculares.
- Determinar el efecto del zilpaterol y la ractopamina sobre el área transversal de cada fibra, número de núcleos y el número proporcional de capilares asociados a cada fibra.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Los procedimientos descritos a continuación se llevaron a cabo posterior a la aprobación por parte del Subcomité Interno para el Cuidado de Animales de Experimentación (SICUAE) del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal de la UNAM. Los animales se manejaron de acuerdo a los lineamientos de la legislación Mexicana vigente para el uso de animales en experimentación (NOM-062-ZOO-1999).

5.1. Animales

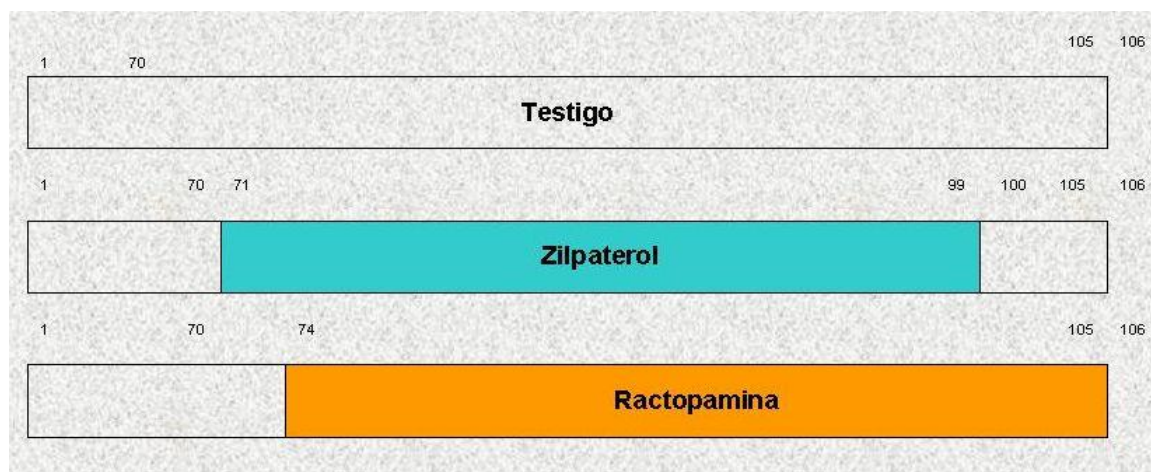
La fase experimental se realizó en una explotación perteneciente a la empresa Sukarne S.A. de C.V, dedicada a la engorda y finalización de bovinos productores de carne, ubicada en Monterrey, Nuevo León, en la cual a la llegada de 30 toretes se les practicó un examen clínico general, se pesaron, implantaron con Revalor®G (40 mg Acetato de trembolona y 8 mg Estradiol) (Intervet, Schering-Plough Animal Health, México D.F.) y desparasitaron con abamectina de aplicación subcutánea (0.5 mg/kg; Avotan® Pour-On, Intervet, México D.F.) para después dividirlos según su peso, (350 kg de P.V.), en grupos de 10 animales. 70 días después, los animales se reimplantaron nuevamente con Revalor®H (140 mg Acetato de trembolona y 14 mg Estradiol) (Intervet, Schering-Plough Animal Health, México D.F.) y se volvieron a formar 3 grupos de 10 toretes cada uno, de los cuales se extrajeron en el momento del ímplate, las biopsias musculares.

Cada grupo se colocó en corrales de 350 m², con 30 m² de sombreadero. Los corrales cuentan con 33 cm de longitud por cada 10 cabezas para los bebederos y con una longitud de 70 cm en los comederos, todos los animales recibieron el mismo alimento de finalización integrado por: maíz (71%), rastrojo de maíz (11.8%), cascarilla de soya cocida (4.0%), melaza de caña (3.6 %), pasta de soya (3.5%), aceite vegetal (2.9%), carbonato de calcio (1.3%), urea (1%), sal y premezcla de vitaminas con minerales (0.9%). El contenido nutricional calculado del alimento fue: 1.93 Mcal de energía neta por kg para mantenimiento, 1.29 Mcal de energía neta por kg para ganancia de peso, 13.2% de proteína cruda, 0.70% de Ca y 0.28% de P, en base seca. La concentración de nutrimentos, está acuerdo con el NRC (1996) y permite una ganancia de peso de aproximadamente 1.46 kg/día. Los animales tuvieron libre acceso al consumo de agua.

Los tres grupos se denominaron testigo (grupo TEST), ractopamina (grupo RACT) y zilpaterol (grupo ZILP). Cada animal del grupo ZILP recibió 0.15 mg/kg de PV de zilpaterol por día

(Zilmax[®], Intervet, México D.F.), mientras que los del grupo RACT recibió 200 mg de ractopamina por día (Optaflexx[®], Elanco Animal Health, Greenfield, IN). La dosis de zilpaterol es la recomendada por el fabricante y la de ractopamina se sugiere como la de desempeño alimenticio óptimo en bovinos (Abney, 2006). Los tratamientos se mezclaron en el alimento. Todos los animales se alimentaron con la dieta de finalización, durante 70 días para que se acostumbraran a ésta. En este periodo, se calculó el consumo voluntario de alimento por corral para posteriormente dosificar los tratamientos durante 35 días. La ración se ofreció en dos tomas, la primera a las 8:00 horas y comprendió el 60% del total y el resto se administró en la segunda toma a las 14:00 horas. Todos los animales se sacrificaron el mismo día en el rastro Tipo Inspección Federal de la empresa, bajo lineamientos establecidos en la legislación Mexicana vigente (NOM-033-ZOO-1995). Para poder cubrir los requerimientos que exige la NOM, en los tres diferentes grupos, los toretes del grupo ZILP comenzaron el tratamiento con el B agonistas tres días antes que los animales del grupo RACT (Imagen 6), se optó por este manejo, para respetar los tiempos de retiro para cada fármaco.

Imagen. 6. Actividades programadas para la fase experimental del proyecto.



Día 1	Selección, pesaje, desparasitación y agrupación de los animales
Día 1-70	Medición consumo voluntario de alimento por grupo
Día 70	Primera Colección de biopsias de músculos
Día 71	Inicio de tratamiento con zilpaterol
Día 74	Inicio de tratamiento con ractopamina
Día 99	Finaliza tratamiento con zilpaterol
Día 100- 105	Reinicia dieta sin tratamiento para el grupo ZIL
Día 105	Finaliza tratamiento con ractopamina
Día 106	Sacrificio de todos los animales

5.2. Toma de muestras.

El primer muestreo de biopsias musculares, se llevó a cabo un día antes de iniciar los tratamientos, La obtención de biopsias se realizó mediante una aguja percutánea, del músculo *semitendinoso* izquierdo y del *longissimus dorsi* izquierdo. Estos músculos fueron seleccionados ya que expresan los tres tipos de fibras (I, IIA y IIB) (Picard y col., 1998; Tanabe y col., 1998; Toniolo y col., 2005). Las biopsias se obtuvieron previa infiltración subcutánea de 3 ml de lidocaína al 2% (Pisacaína® 2%, Laboratorios Pisa, Guadalajara, Jalisco). Las muestras se colectaron siempre de la parte media central de los músculos, ya que las características metabólicas, contráctiles y morfométricas cambian a lo largo y ancho del músculo durante los primeros 12 meses de edad en bovinos (Brandstetter y col., 1997), a una profundidad de 8 cm aproximadamente.

La segunda fase de obtención de muestras se hizo, aproximadamente 5 minutos después de que los animales se sacrificaron, durante esta fase se colectaron muestras de aproximadamente 5 gr de la parte media central de los músculos mencionados anteriormente. Tanto la obtención de biopsias y muestras postmortem se colectó por la misma persona, para precisar el mismo sitio del cual se obtuvieron las muestras.

Los especímenes tanto del primer como del segundo muestreo, se identificaron y colocaron en solución salina al 0.9% para permitir su relajación y posteriormente se congelaron en isopentano enfriado con nitrógeno líquido. Las muestras se conservaron a -70°C hasta su análisis histológico e histoquímico. Una vez agrupadas las muestras se procedió a cortarlas en secciones transversales de 10 µm de grosor, por medio de un Criostato 2800 Frigocut (Reichert-Jung, Leica, Bensheim, Alemania). Las secciones se colocaron en laminillas de vidrio cubiertas con poly-L-lisina, obteniendo de cada muestra 10 laminillas, una vez que se terminaron de obtener los cortes de las muestras.

5.3. Histología

La tinción de hematoxilina - eosina, permite identificar estructuras (basófilas) en tonos azul y púrpura y componentes acidófilos en tonos de color rosa. Estas secciones se utilizaron para visualizar la cantidad de núcleos con que cuentan los miocitos y determinar el diámetro transversal de las miofibrillas.

Secciones contiguas a las utilizadas en la primera tinción se tiñeron con la tinción periódica de Schiff (PAS) utilizando una solución ácida por 5 minutos a 37°C, para delimitar la cantidad de glucógeno que contiene las miofibrillas musculares. Otras secciones se incubarán por 60 minutos a 37°C en solución de α -amilasa al 2.2% y se tiñeron con el mismo protocolo de PAS (Andersen y Henriksson, 1977). Estas secciones se utilizaron para visualizar tanto capilares, como tejido blanco para cuantificar la digestión de glucógeno intrafibrillar.

5.4. Histoquímica

La velocidad de contracción fibrilar se determinó de acuerdo a la actividad de la enzima mATP-asa según modificación de Picard y col. (1998), al método de Guth y Samaha (1969) para preincubaciones alcalinas, La actividad miofibrilar de la mATP-asa se determinó en preincubaciones alcalinas (pH 10.48) por 7 minutos. Estos protocolos permitieron distinguir tres niveles de intensidad de teñido (claro, medio y oscuro) que adoptan las miofibrillas, dependiendo de la actividad glucolítica, oxidativa o mixta.

El metabolismo oxidativo de la fibra se determinó al evaluar la actividad de la succinato deshidrogenasa (SDH), enzima que se localiza en la membrana interna mitocondrial y que se usa como marcador de la capacidad oxidativa, por lo que puede ser relacionado con la cantidad total de mitocondrias. La tinción se llevó a cabo según protocolo descrito por Blanco y col. (1988).

Las fibras identificadas de acuerdo a su reacción a mATP-asa y SDH se clasificaron según Peter y col., (1972) en fibras oxidativas lentas (SO), fibras que reaccionan fuertemente a mATP-asa después de preincubación ácida y a actividad SDH, fibras glucolíticas oxidativas rápidas (FOG, fibras que no reaccionan a mATP-asa después de preincubación ácida y que reaccionan con intensidad moderada a SDH) y fibras glucolíticas rápidas (FG, fibras que no

reaccionan a mATP-asa después de preincubación ácida y que reaccionan con intensidad baja a SDH) (Cuadro 1).

La capacidad glucolítica de los miocitos puede ser verificada y medida, mediante la aplicación de técnicas histoquímicas para las dos principales enzimas involucradas en el metabolismo anaerobio: Lactato deshidrogenasa (LDH) y la alfa-glicerofosfato deshidrogenasa (α GPDH), que forman parte de la porción soluble celular. La presencia y actividad de la alfa-glicerofosfato deshidrogenasa se indica con una tinción oscura indicada por la precipitación catalizada por la enzima alfa-glicerofosfato deshidrogenasa (α GPDH). Las modificaciones hechas por Sigel y Pette (1969) a esta técnica, permite diferenciar diferentes tonalidades de intensidad reactiva, que indican una alta o baja actividad de esta enzima.

5.5. Reactividad no específica y precisión analítica

Para cada estudio histológico e histoquímico, se procesaron tres secciones consecutivas seriadas en la misma laminilla. Para cada ensayo histológico (HE) e histoquímico (PAS, α PAS, mATP-asa, SDH y α GPDH), las tres secciones consecutivas en la misma laminilla se incubaron en el medio con sustrato. Para cada ensayo histoquímico, los niveles control se determinaron por duplicado y se obtuvo el promedio de la intensidad de tinte. Para la determinación cuantitativa del contenido intrafibrilar de glucógeno, las secciones teñidas con α -amilasa-PAS se utilizaron como tejido control, ya que esta enzima degrada el glucógeno intracelular. En esta tinción, los niveles control se derivaron en duplicado a partir de cada fibra.

La variabilidad de las reacciones histoquímicas se evaluó por mediciones repetidas en las mismas fibras de tres secciones consecutivas. En total, se examinaron 30 secciones consecutivas por muestra (positivas a la tinción y 14 controles). Bajo condiciones estandarizadas, la realización de las técnicas histoquímicas e histológicas en 20 días hábiles. Las secciones se digitalizaron dentro de las 4 semanas siguientes a la tinción.

5.6. Análisis de imágenes.

El análisis de los cortes histológicos, se basó en la evaluación visual y digital por medio del programa Image J Proplus (V. 1.4.1. para Windows Vista/XP/ Macintosh). La correcta interpretación provee datos que sostienen resultados fiables y aplicables al campo de interés. Con el fin de minimizar la discordancia diagnóstica, se realiza el análisis de imágenes, que permite hacer una evaluación cuantitativa y medición objetiva de estas (Gundersen y col., 1988; Romano y col., 1996; Userpater y col., 2003).

La medición de las formas de los organismos (morfometría), permite comprender la fisiología, patología o realizar el seguimiento de tratamientos, por medio de los cambios citológicos observados en diferentes tejidos. Gracias a la histometría es posible medir parámetros tridimensionales (estereología) (Userpater y col., 2003).

Las reacciones estequiométricas establecen una relación entre las estructuras marcadas y la intensidad del color (Montes, 1996; Wells, 1993).

Las secciones de la muestra que se analizaron estuvieron libres de artefactos y en el caso del tejido muscular la sección debe de incluir al menos 50 fibras contiguas en las diferentes tinciones para su digitalización con el equipo Spot RT color camera, (modelo 2.2.0, Diagnostic Instruments Inc., Sterling Heights, MI), que permiten una correcta identificación de la misma fibra en las diferentes tinciones. Las células se numeraron aleatoriamente pero siempre deben de ser las mismas (en cada tinción analizada), a esta sección se le llama también mapa o máscara fibrilar. Se debe determinar un valor D.O como referencia, es decir; se calculó un valor blanco en cada tinción, considerado como valor mínimo en cada muestra analizada. Se estableció la medida del área o estructura a analizar, para que posteriormente poder determinar la densidad de diferentes organelos o enzimas (Wells y col, 1993; Weibel, 1989). Una vez que fueron digitalizadas e identificadas las fibras musculares, se procedió a medir la D.O, área transversal (ImageJ V. 1.41a para Windows XP/Vista/Macintosh, Wayne Rasband National Institutes of Health, USA). El conteo de núcleos se realizó en la tinción de Hematoxilina –eosina y el número de capilares en el área seleccionada de la sección se obtuvo de la tinción α -amilasa-PAS y se expresó en términos relativos como número de capilares por $1,000 \mu\text{m}^2$ de fibras.

5.7. Análisis estadístico

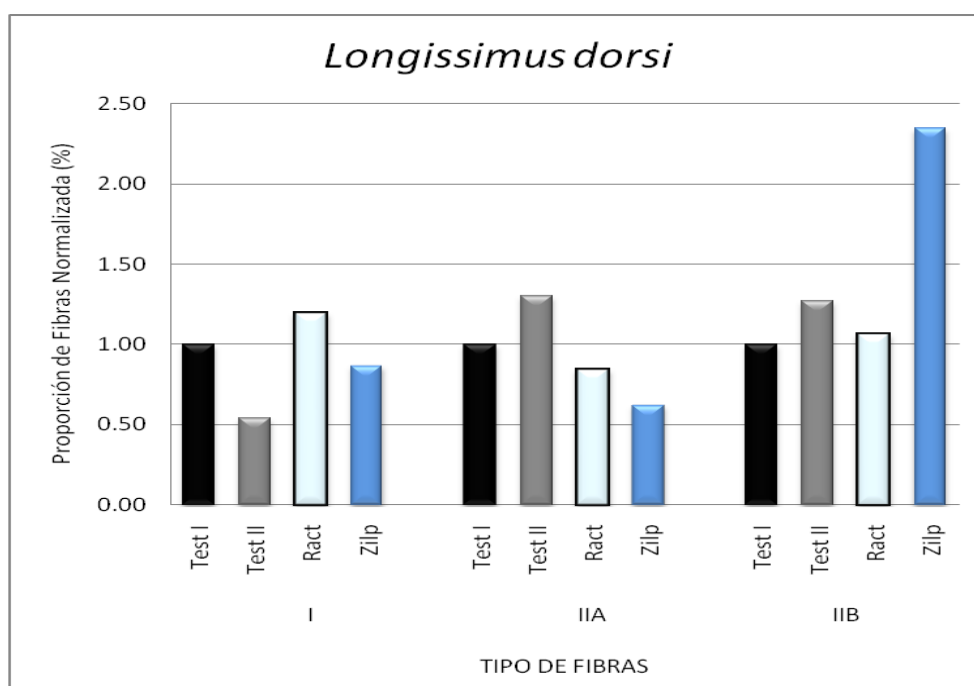
El programa Statistical Analysis System SAS® (v 7.1 para Windows, SAS Campus Drive, Cary, Carolina del Norte 27513, EE.UU.) se utilizó para cálculos de estadística descriptiva, medias y errores estándar de la media (e.e.m.). El efecto del tratamiento sobre *i*) los tipos de fibras musculares, *ii*) la actividad metabólica de las fibras musculares, *iii*) el área total de las fibras musculares y *iv*) el número de capilares se analizó por medio de un modelo lineal que consideró el efecto del animal, el tiempo y la interacción de estos dos. Para poder conocer si existía diferencia estadística entre los diferentes tratamiento se corrieron análisis de varianza y en caso de salir significativos los valores de esta prueba se corrió la prueba de Tukey con una ($P < 0.05$) para conocer cuales eras las variables significativamente diferentes, entre los diferentes tratamientos. Valores de $P < 0.05$ se consideraron significativamente diferentes.

6. RESULTADOS

A continuación se describen las diferencias ($P < 0.05$) en los músculos *longissimus dorsi* y *semitendinoso*, en sus tipos fibrilares I, IIA, IIB, al comparar antes y después de los tratamientos con ractopamina y zilpaterol, así como en el grupo testigo las características morfológicas (densidad de núcleos, de capilares y área transversal), metabólicas (cantidad de glucógeno intrafibrilar) y actividad enzimática (digestión del glucógeno, actividad oxidativa SDH, actividad glucolítica GDPH) actividad contráctil (miosin ATPasa). El resumen de los resultados, se pueden consultar en la sección de anexos.

6.1 Proporción de fibras en el músculo *longissimus dorsi*.

La proporción de fibras tipo I del músculo, mostraron cambios en el grupo ractopamina, con un aumento del porcentaje de fibras del 23.31 al 27.88% ($P < 0.05$), el porcentaje de las fibras tipo IIA, no presentó cambios con respecto al testigo. Mientras que para las fibras tipo IIB, se presentó un cambio franco en la proporción del grupo zilpaterol de un 16.67 a 39.15% ($P < 0.05$), como se muestra en la gráfica 1. (Cuadros 2, 3, 4 y 13).



Gráfica. 1. Proporción de las fibras tipo I, IIA y IIB del músculo *longissimus dorsi*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post- tratamiento.

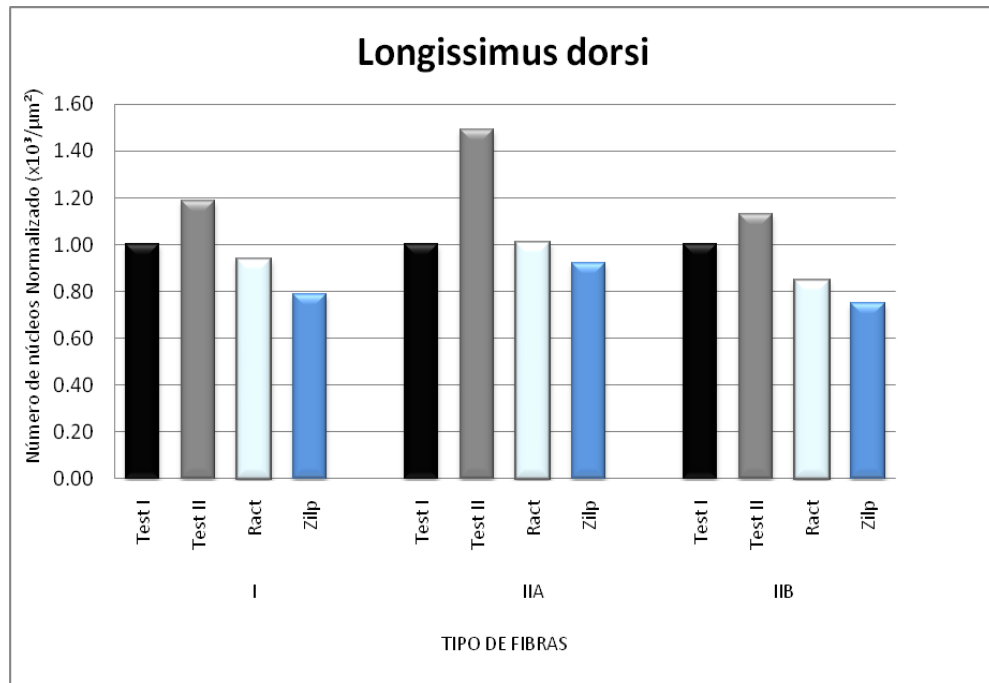
6.1.1 Morfología celular.

Para evaluar la morfología celular se tomaron en cuenta tres variables:

- a) densidad de núcleos ($10^3/\mu\text{m}^2$),
- b) densidad capilar ($10^3/\mu\text{m}^2$)
- c) área transversal de las fibras (μm^2).

a) Densidad de núcleos.

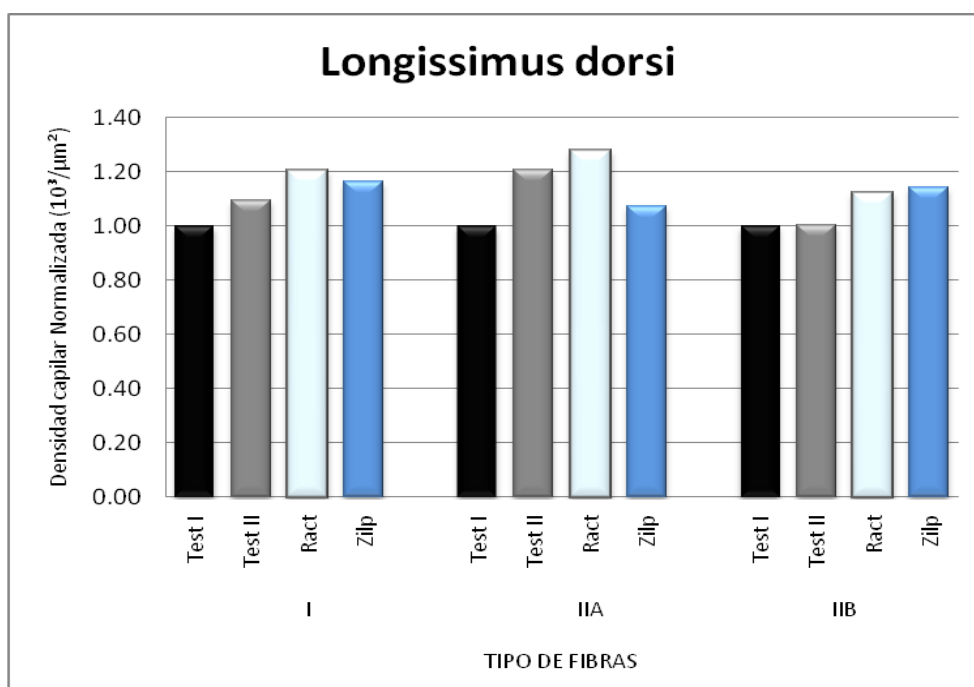
Esta variable mostró no mostro cambios significativos en las fibras tipo I y las tipo IIA, mientras que para las fibras tipo IIB, arrojaron una disminución en el número de núcleos, en el grupo ZILP de (5.12 ± 0.397 a 3.85 ± 0.13) ($P < 0.05$), como se muestra en la gráfica. 2 (Cuadros 2, 3, 4 y 5).



Gráfica 2. Densidad de núcleos de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post tratamiento.

b) Densidad capilar.

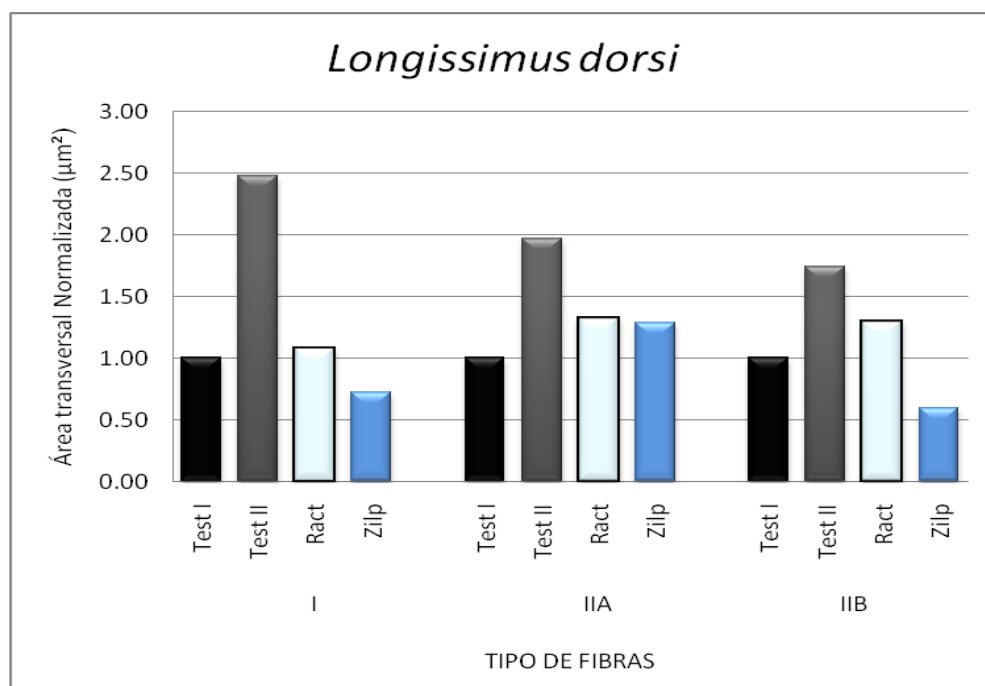
Las fibras tipo I presentaron aumento en el número de capilares en los grupos Ract y zilp, con valores de $(4.44 \pm 0.213$ a $5.34 \pm 0.231)$ y de $(4.55 \pm 0.248$ a $5.3 \pm 0.168)$ para cada grupo respectivamente ($P < 0.05$). Con respecto a las fibras tipo IIA solo el grupo Ract, arrojó un aumento de $(4.69 \pm 0.185$ a $5.98 \pm 0.209)$. La fibras glucolíticas tipo IIB también tuvieron un cambio en el grupo Ract con valores de $(4.81 \pm 0.176$ a $5.39 \pm 0.172)$ ($P < 0.05$), estos cambios se pueden observar en la gráfica 3, (Cuadros 2, 3, 4 y 6).



Gráfica 3. Densidad capilar de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post-tratamiento.

c) Área transversal.

Las fibras oxidativas (I) y las oxido glucolíticas (IIA) no presentaron cambios en ambos grupos tratados ($P < 0.05$). Sin embargo las fibras glucolíticas mostraron una disminución en esta variable, en el grupo zilpaterol con valores de $(4477.95 \pm 511.65$ a $2673.09 \pm 124)$ ($P < 0.05$), como se muestra en la gráfica 4 (Cuadros 2, 3, 4 y 7).



Gráfica 4. Área transversal de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

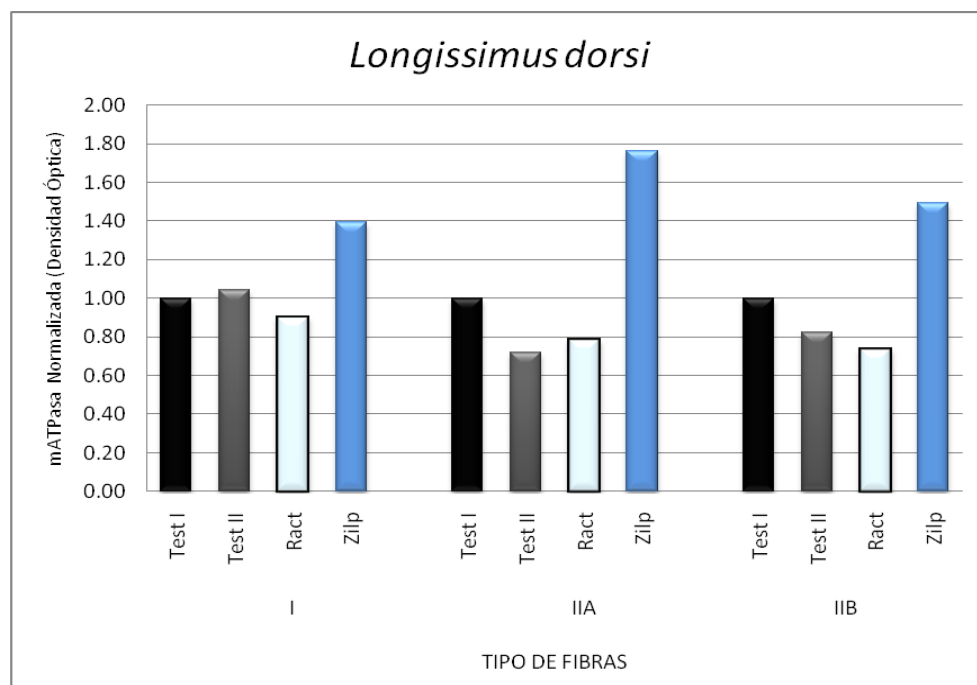
6.1.2 Características metabólicas.

Los resultados en el músculo *longissimus dorsi*, son analizados a partir de los siguientes marcadores metabólicos:

- Actividad de miosin ATPasa (mATPasa)
- Actividad de α -glicerofosfato deshidrogenasa (α -GDPH)
- Actividad de la succinato deshidrogenasa (SDH)
- Degradación de glucógeno
- Acumulación de glucógeno almacenado.

a) Actividad de miosin ATPasa (mATPasa)

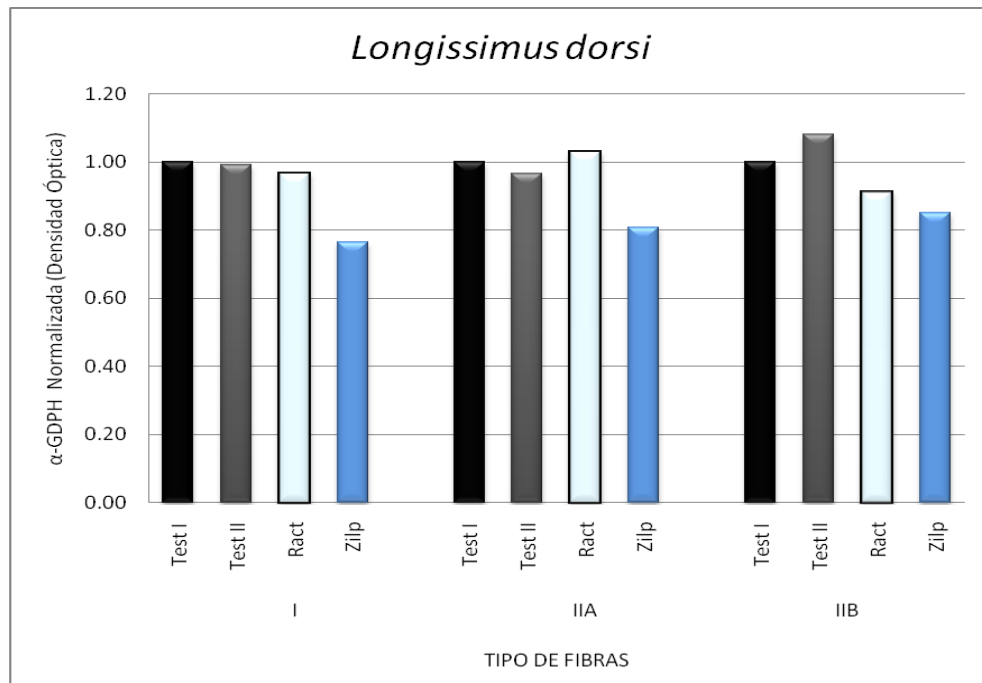
Cuando se evaluó la actividad de esta enzima en las fibras tipo I, el grupo RACT mostró disminución en la actividad con valores (0.271 ± 0.015 a 0.244 ± 0.012), mientras que el grupo zilp, tuvo un repunte con valores (0.201 ± 0.006 a 0.28 ± 0.007) ($P < 0.05$). Por otra parte en las fibras tipo IIA y las tipo IIB, el grupo zilpaterol mostró una aumento (0.309 ± 0.008 a 0.545 ± 0.007) y (0.457 ± 0.02 a 0.687 ± 0.0068) para cada tipo de fibra respectivamente ($P < 0.05$), como se muestra en la gráfica 5 (Cuadros 2, 3, 4 y 8).



Gráfica 5. Cantidad de ATPasa en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

b) Actividad de α -glicerofosfato deshidrogenasa (α -GDPH)

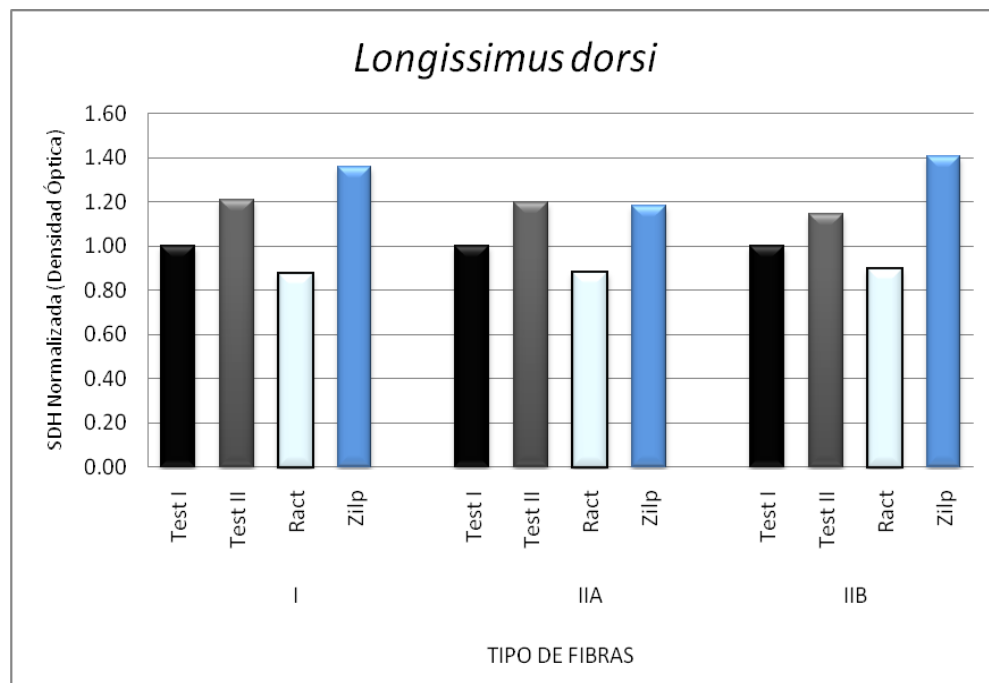
Los principales cambios en la actividad de la esta enzima, para los tres diferentes tipos de fibras, se presentaron en el grupo zilpaterol, arrojando una reducción en la actividad con valores (0.57 ± 0.0171 a 0.436 ± 0.0119) en las fibras tipo I, ($0.632 \pm 0.511 \pm 0.013$) para las fibras tipo IIA y (0.57 ± 0.0108 a 0.485 ± 0.0107) en las fibras tipo IIB ($P < 0.05$). Mientras que el grupo ractopamina no mostró cambios en dicha actividad, como se muestra en la gráfica 6 (Cuadro 2, 3, 4 y 9).



Gráfica 6. Actividad de la enzima α -GPD en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post- tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

c) Actividad de la succinato deshidrogenasa (SDH)

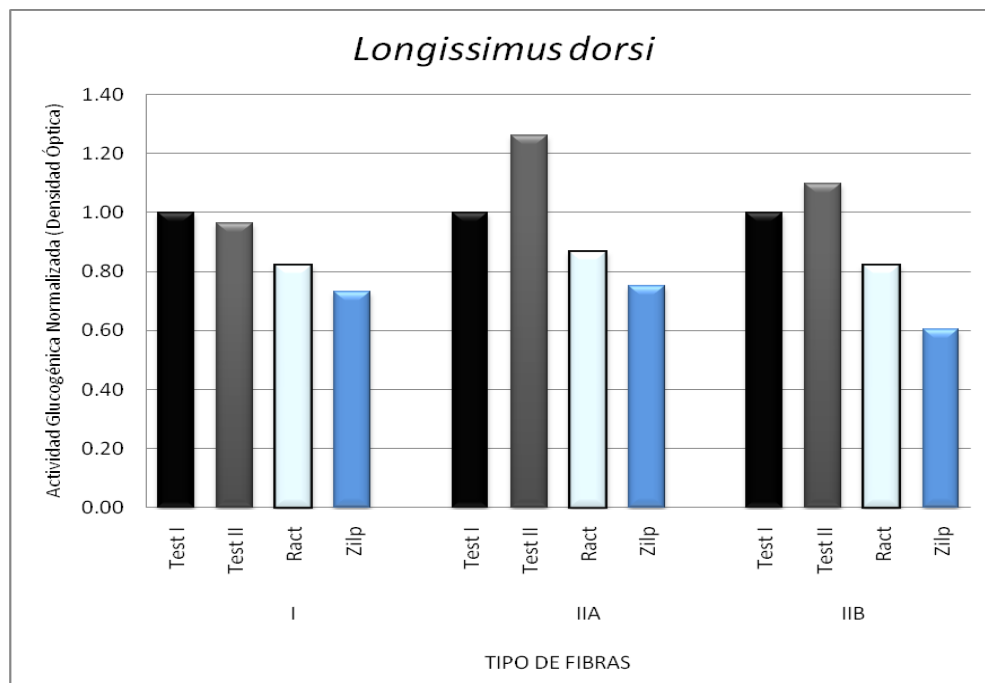
El metabolismo oxidativo que presentan las fibras musculares, fue medido por la actividad de esta enzima, involucrada en el ciclo de Krebs y en la cadena de transporte de electrones a nivel de la membrana mitocondrial, la actividad de esta enzima se midió mediante D.O. En el tipo de fibra I, el grupo ZILP presentó un aumento en la actividad con valores $(0.424 \pm 0.0189$ a $0.576 \pm 0.0134)$ ($P < 0.05$), mientras que en este mismo grupo las fibras IIB mostraron un aumento en la actividad $(0.427 \pm 0.0186$ a $0.601 \pm 0.0128)$ ($P < 0.05$), como se muestra en la gráfica 7 (Cuadros 2, 3, 4 y 10).



Gráfica 7. Actividad de la enzima SDH en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento, de los grupos test, ract y zilp.

d) Degradación de glucógeno

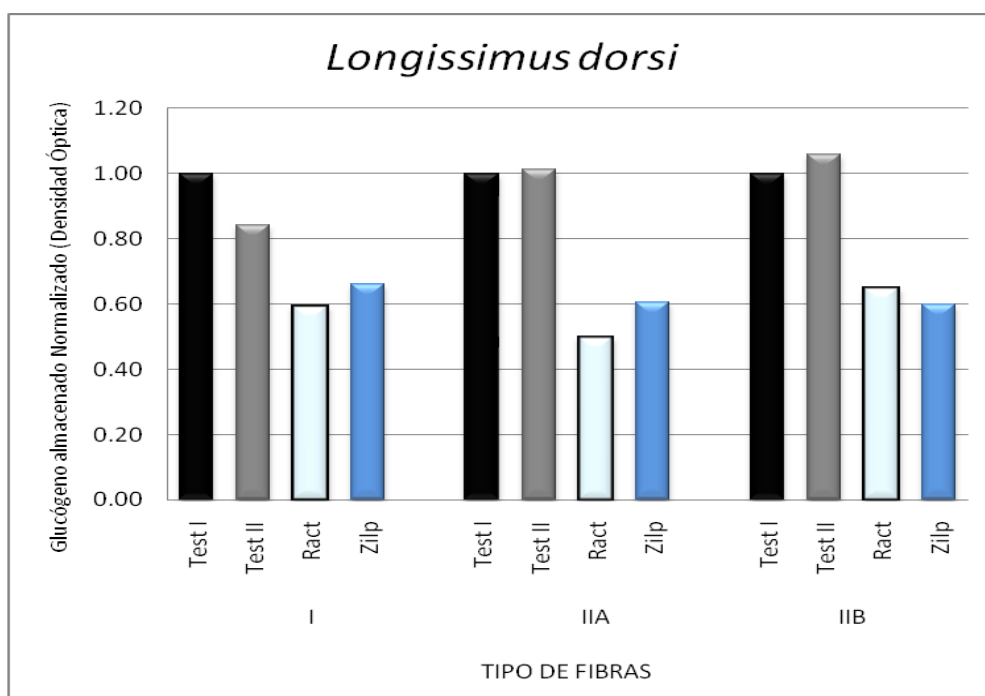
La actividad de la glucogenolisis, determinada por la tinción de α -amilasa PAS, en las fibras tipo I mostró reducción en los grupos RACT y ZILP, con valores (0.43 ± 0.0095 a 0.353 ± 0.0063) y (0.439 ± 0.0157 a 0.321 ± 0.006) respectivamente ($P < 0.05$) (cuadro 8). Sin embargo para las fibras tipo IIA, solo el grupo zilpaterol mostró una disminución en la actividad (0.432 ± 0.0116 a 0.324 ± 0.0058) ($P < 0.05$). Con respecto a las fibras tipo IIB, ambos grupos tuvieron disminución en la actividad enzimática (0.408 ± 0.007 a 0.335 ± 0.004) en el grupo ract y (0.53 ± 0.0215 a 0.32 ± 0.005) en el grupo zilp. Como se muestra en la gráfica 8 (Cuadro 2, 3 y 4).



Gráfica 8. Capacidad de digestión de glucógeno en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento, de los diferentes grupos (test, ract y zilp).

e) Acumulación de glucógeno almacenado.

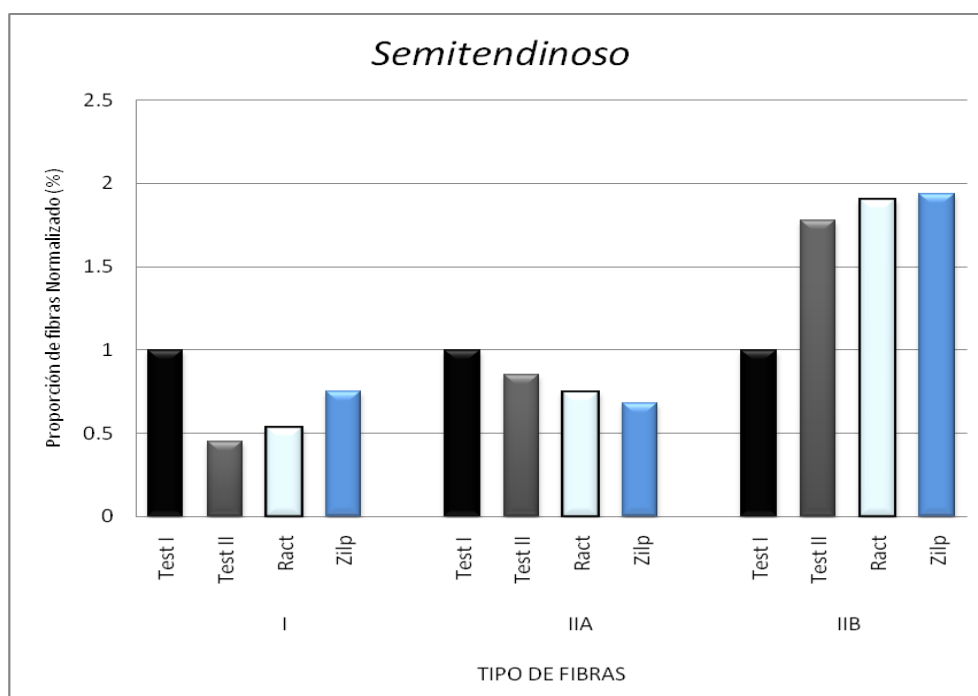
La actividad glucogénica se determinó por la reacción de PAS, que en las fibras tipo I, arrojó una reducción en el grupo Ract (0.453 ± 0.0168 a 0.268 ± 0.009) y en el grupo zilp (0.389 ± 0.011 a 0.257 ± 0.0053) ($P < 0.05$). Siguiendo con esta tendencia las fibras tipo IIA, mostrarán una reducción en la acumulación de glucógeno con valores (0.45 ± 0.01 a 0.224 ± 0.008) y (0.419 ± 0.009 a 0.253 ± 0.0049) para el grupo Ract y Zilp, respectivamente ($P < 0.05$). Las fibras tipo IIB, mostraron reducción de glucógeno en el grupo ract (0.435 ± 0.0147 a 0.282 ± 0.0058) y en el grupo zilp (0.386 ± 0.02 a 0.231 ± 0.0046) ($P < 0.05$), como se aprecia en la gráfica 9 (Cuadro 2, 3, 4 y 12).



Gráfica 9. Cantidad de glucógeno almacenado en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *longissimus dorsi*, pre y post-tratamiento de los grupos test, ract y zilp.

6.2 Proporción de fibras en el músculo *semitendinoso*.

En este músculo el cambio en la proporción de fibras fue más notorio que en el *longissimus dorsi*, debido a que en las fibras tipo IIA, mostraron una disminución tanto en el grupo Ract como en el zilp, con porcentajes de (39.09 a 29.06%) y (51.03 a 34.62%) para cada drupo respectivamente ($P < 0.05$). Sin embargo para las fibras glucolíticas (IIB), mostraron un aumento de (28.18 a 53.58%) en el grupo Ract, y de (24.13 a 46.73%) en el grupo Zilp, como puede apreciarse en la gráfica 10 (14, 15, 16 y 25).



Gráfica 10. Proporción de las fibras tipo I, IIA y IIB del músculo *semitendinoso*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post- tratamiento.

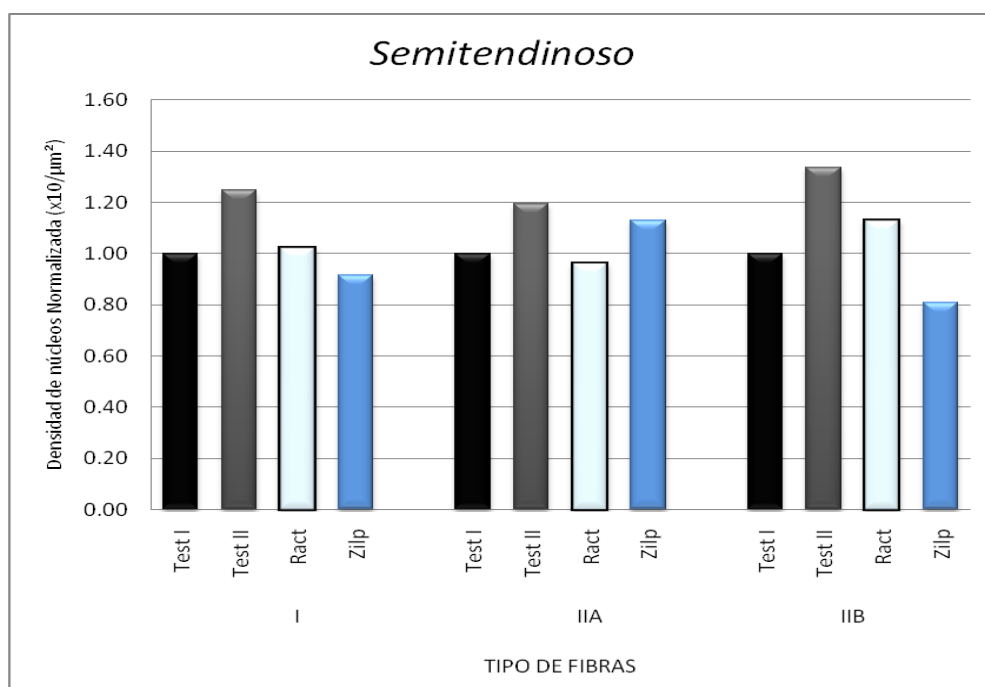
6.2.1. Morfología celular.

Para evaluar la morfología celular del músculo *semitendinoso*, se tomaron en cuenta tres variables:

- Densidad de núcleos ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$)
- Densidad capilar ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$)
- Área transversal (μm^2)

a) Densidad de núcleos ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$)

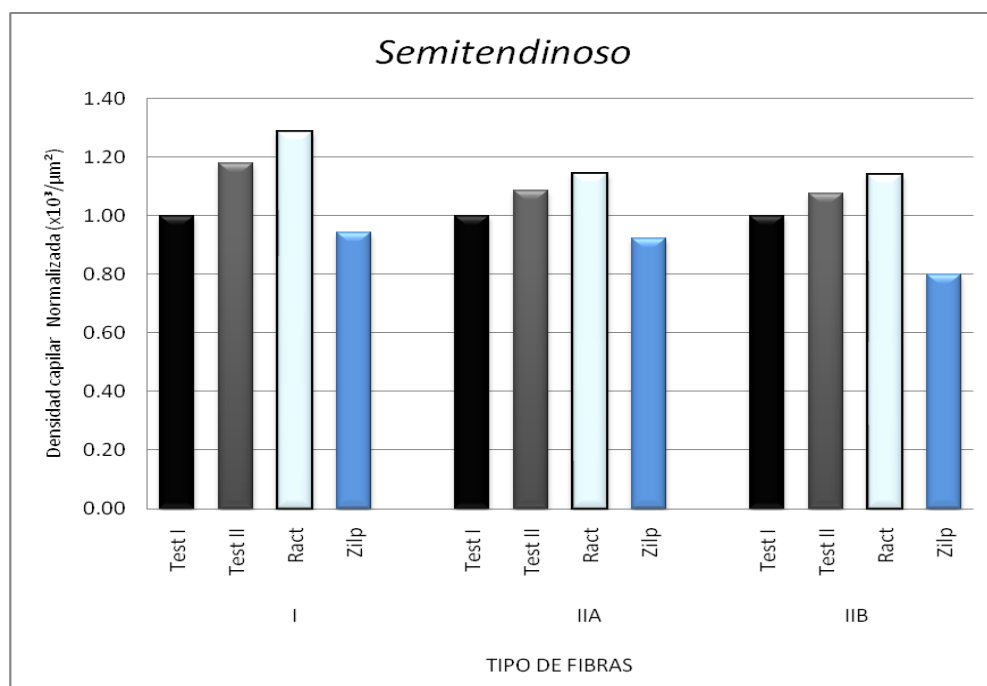
La densidad de núcleos asociados a las fibras musculares, no mostraron cambios significativos en las fibras tipo I y IIA, mientras que en las fibras tipo IIB, solo el grupo zilp presentó una reducción en la cantidad de núcleos, que fue de (5 ± 0.349 a 4.04 ± 0.122) ($P < 0.05$), como se puede ver en la gráfica 11 (Cuadros 14, 15, 16 y 17).



Gráfica 11. Densidad de núcleos de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post tratamiento.

b) Densidad capilar ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$)

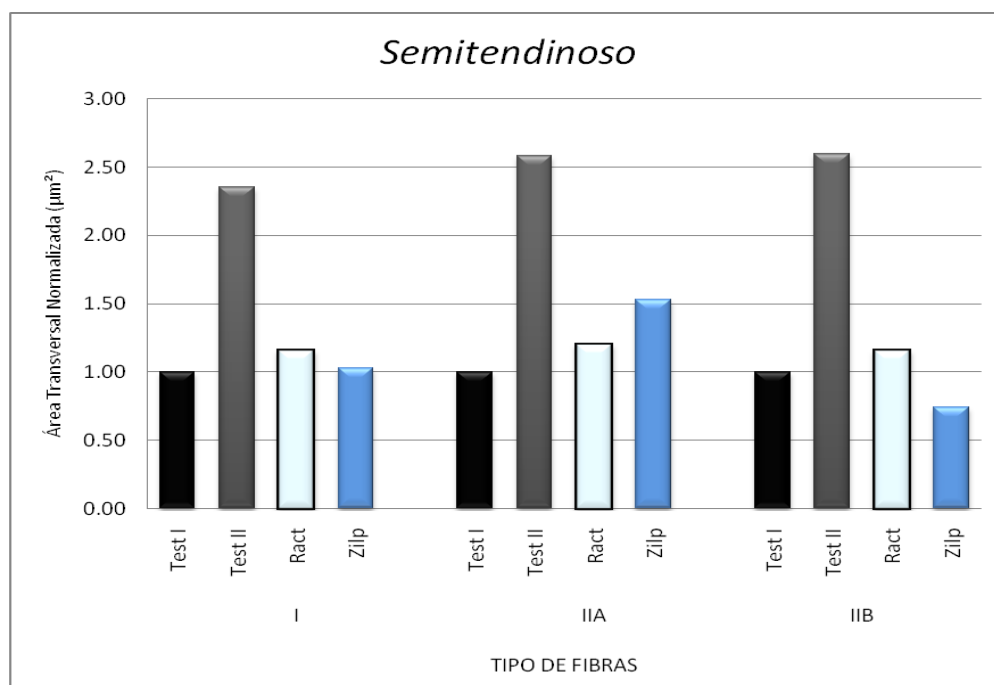
La cantidad de capilares en las fibras tipo I, mostró un aumento significativo en el grupo Ract (3.8 ± 0.224 a 4.89 ± 0.289) ($P<0.05$), este mismo grupo presentó cambios significativo en la cantidad de capilares en las fibras tipo IIA con valores (4.39 ± 0.185 a 5.02 ± 0.159). Por otro lado, el análisis de las fibras tipo IIB, el grupos ract, mostro un aumento que fue de (4.64 ± 0.319 a 5.29 ± 0.0136) ($P<0.05$). Mientras que el grupo zilpaterol mostró una reducción en esta variable (5.2 ± 0.217 a 4.16 ± 0.121) ($P<0.05$), como se aprecia en la gráfica 12 (Cuadros 14, 15, 16 y 18).



Gráfica 12. Densidad capilar de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, en los grupos test, ract y zilp, pre y post-tratamiento.

c) Área transversal (μm^2)

En el área transversal no presentó cambios en el área transversal de los tres tipos de fibras que se evaluaron, teniendo valores no significativos con respecto a los valores del grupo testigo. (Gráfica 13, Cuadros 14, 15, 16 y 19).



Gráfica 13. Área transversal de las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

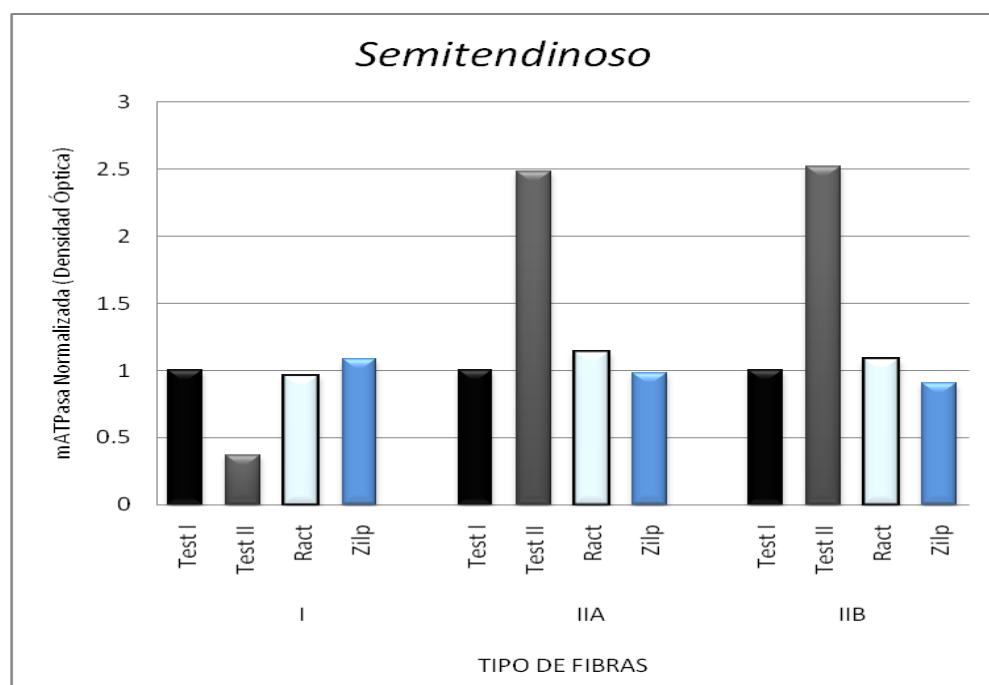
6.2.2. Características Metabólicas.

Los resultados en el músculo *semitendinoso* para evaluar las características metabólicas, fueron analizados a partir de los siguientes marcadores metabólicos:

- Actividad de miosin ATPasa (mATPasa)
- Actividad de α -glicerofosfato deshidrogenasa (α -GDPH)
- Actividad de la succinato deshidrogenasa (SDH)
- Degradación de glucógeno
- Acumulación de glucógeno almacenado

a) Actividad de miosin ATPasa (mATPasa)

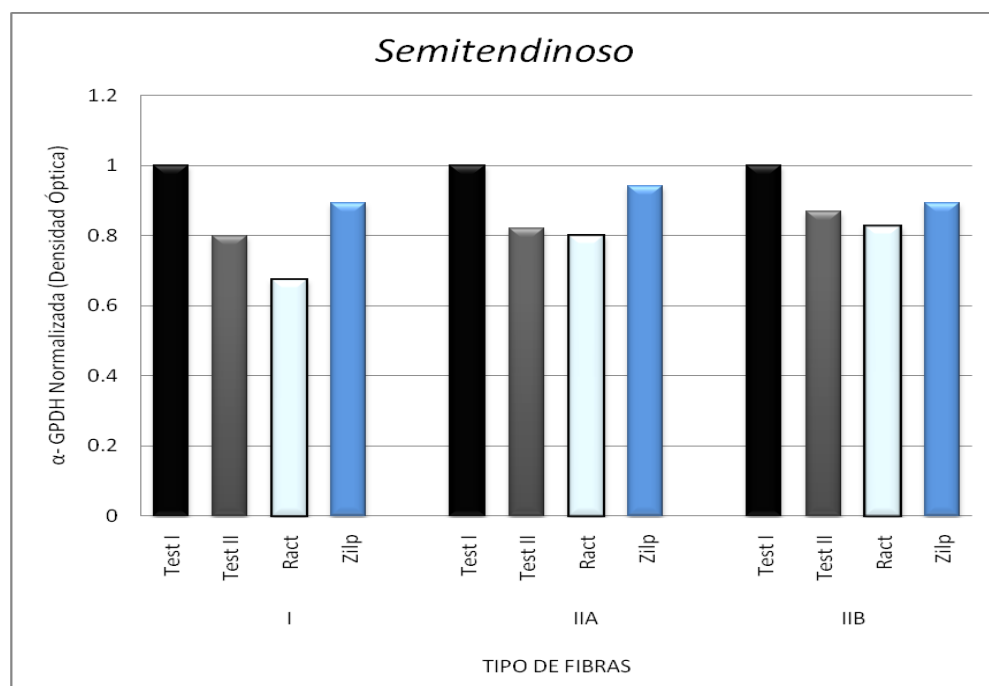
Las capacidad de contracción miofibrilar no mostró un aumento en la actividad de los tres tipos d fibras musculares I, IIA y IIB, lo que se interpretaría como un cambio mínimo en la actividad ed esta enzima, que sta asociada a la capacidad de contracción miofibrilar y por ende a la síntesis de proteínas, estos datos pueden apreciarse en la gráfica 14 (Cuadro 14, 15, 16 y 20).



Gráfica 14. Cantidad de ATPasa en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

b) Actividad de α -glicerofosfato deshidrogenasa (α -GDPH)

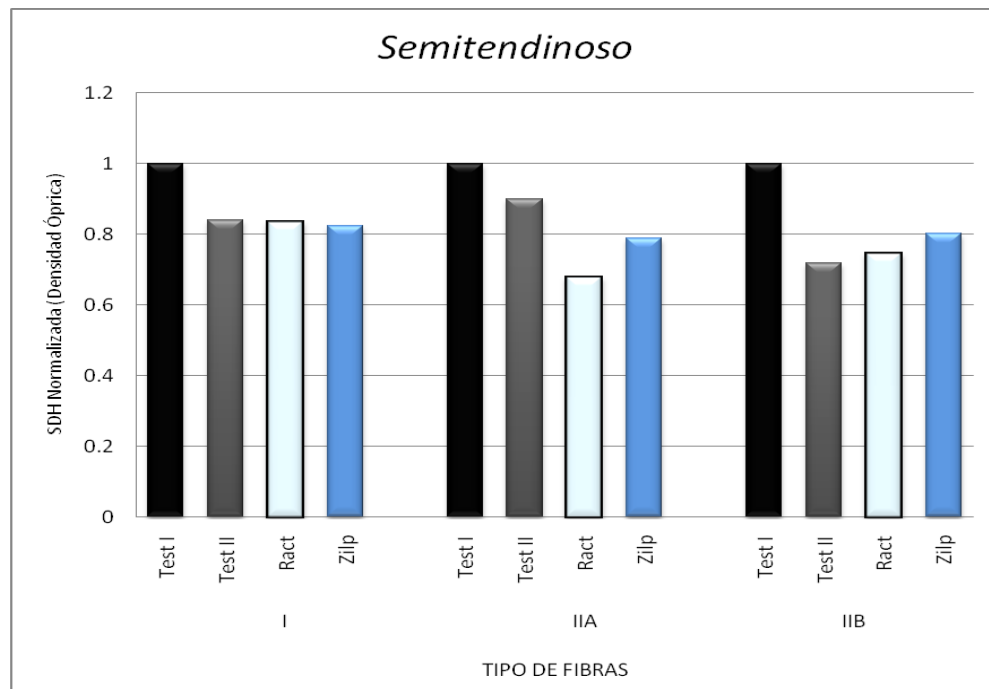
El metabolismo glucolítico de las fibras musculares, medido por la acción de la enzima α GPDH, mostró en las fibras tipo I una disminución en la actividad en el grupo Ract (0.727 ± 0.013 a 0.49 ± 0.012) ($P < 0.05$), mientras que en las fibras tipo IIB, este mismo grupo mostró una ligera disminución en la actividad enzimática (0.744 ± 0.007 a 0.614 ± 0.006) ($P < 0.05$), como se puede apreciar en la gráfica 15 (Cuadro 14, 15, 16 y 21).



Gráfica 15. Actividad de la enzima α -GPD en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post- tratamiento, en los grupos test, ract y zilp.

c) Actividad de la succinato deshidrogenasa (SDH).

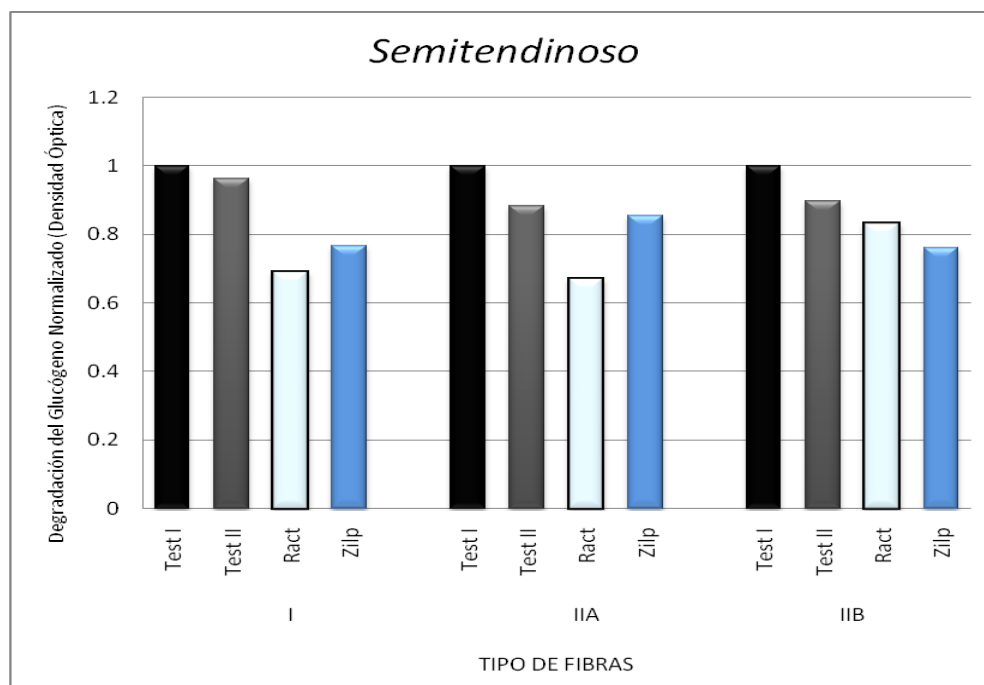
El metabolismo oxidativo medido por la SDH, en las fibras tipo I y las tipo IIB, no presentaron cambios significativos en dicha actividad enzimática, mientras que para las fibras IIA, la actividad de de esta enzima se vio disminuida arrojandó valores ($0.0.787 \pm 0.013$ a 0.538 ± 0.011) para el grupo Ract y (0.693 ± 0.007 a 0.546 ± 0.006) en el grupo Zilp ($P < 0.05$). (Gráfica 16, Cuadro 14, 15, 16 y 22).



Gráfica 16. Actividad de la enzima SDH en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento, de los grupos test, ract y zilp.

d) Degradación de glucógeno

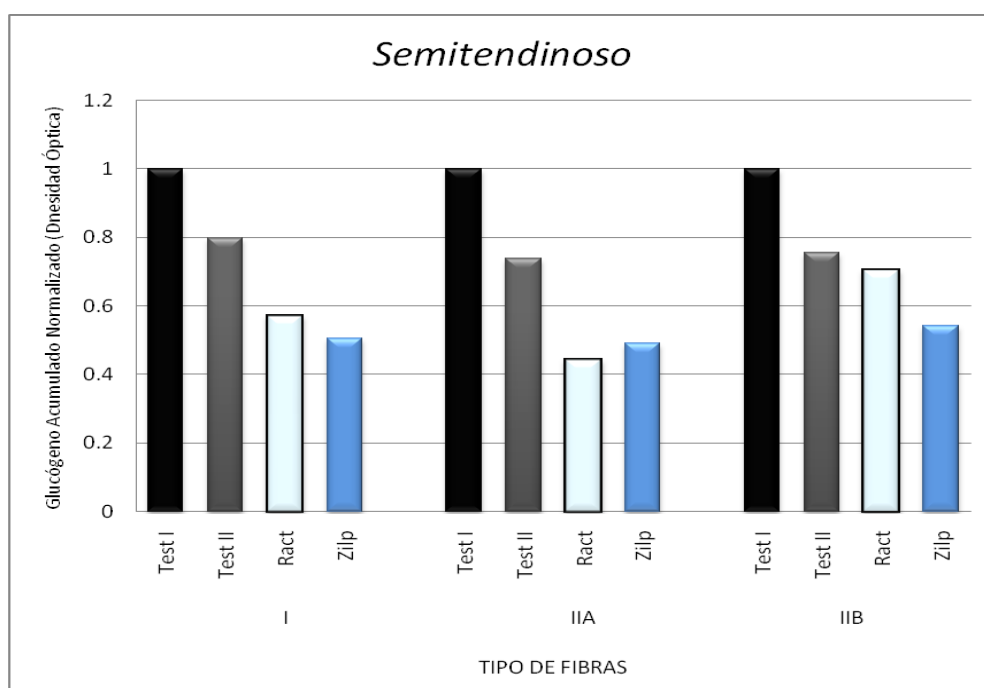
La capacidad de degradación del glucógeno determinada por la tinción α -amilasa-PAS, muestran una disminución en las fibras tipo I tanto en el grupo Ract como en el Zilp, (0.499 ± 0.025 a 0.344 ± 0.008) y (0.403 ± 0.008 a 0.309 ± 0.003) respectivamente ($P < 0.05$). En el caso de las fibras tipo IIA el grupo ract mostró una reducción (0.489 ± 0.016 a 0.328 ± 0.004). Por otra parte las fibras tipo IIB arrojó disminución tanto en el grupo ract (0.389 ± 0.007 a 0.324 ± 0.002), como en el grupo zilp (0.385 ± 0.009 a 0.293 ± 0.002) ($P < 0.05$). (Gráfica 17, Cuadro 14, 15, 16 y 23).



Gráfica 17. Capacidad de digestión de glucógeno en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento, de los diferentes grupos (test, ract y zilp).

e) Acumulación de glucógeno almacenado.

Las cantidades de glucógeno acumuladas en las fibras tipo I menores; en el grupo ract obtuvieron valores (0.46 ± 0.03 a 0.263 ± 0.011) y para el grupo zilp fueron de (0.456 ± 0.012 a 0.23 ± 0.005). Por otro lado, las fibras tipo IIA, mostraron la misma tendencia en ambos grupos, (0.557 ± 0.031 a 0.246 ± 0.008) en el grupo ract y (0.447 ± 0.01 a 0.22 ± 0.003) para el grupo zilp ($P < 0.05$). Las fibras tipo IIB, presentaron la misma tendencia a la baja en la cantidad de glucógeno acumulado, en el grupo Ract (0.352 ± 0.006 a 0.248 ± 0.006) y (0.406 ± 0.01 a 0.22 ± 0.003) en el grupo zilp ($P < 0.05$). (Gáfica 18, Cuadro 14, 15, 16 y 24).



Gráfica 18. Cantidad de glucógeno almacenado en las fibras tipo I, IIA y IIB, del músculo *semitendinoso*, pre y post-tratamiento de los grupos test, ract y zilp.

7. DISCUSIÓN

La administración oral de bloqueadores de los receptores beta adrenérgicos inducen cambios organolépticos (marmoleo, sabor, firmeza, suavidad y textura) en la canal de los bovinos productores de carne (Tuma y col., 1962, Kirchofer y col., 2002). Para poder conocer el efecto de estos fármacos a nivel celular, se debe realizar un análisis histológico, histoquímicos e inmunohistoquímicos que muestren los cambios morfológicos, metabólicos y de funcionamiento del músculo esquelético. Al empezar a evaluar a los músculos, encontramos que tienen diferente función y tipo de crecimiento, por lo que no todos tiene la misma composición en fibras musculares, estas variaciones se deben a una serie de factores que afectan estas poblaciones como son la raza (Johnston y col., 1981), sexo (Johnston y col., 1975), tiempo y tipo de alimentación (Suzuki y col., 1976), edad del animal (Cornforth y col., 1980; Wagner y col., 2000) y la administración de promotores del crecimiento como los B agonistas (Vestergaard y col., 1994). Los tres tipos de fibras musculares (I, IIA y IIB) en el músculo bovino, han sido reportadas en varios músculos como el *longissimus dorsi* y el *semitendinoso* (Hunt y Hedrick, 1997; Johnston y col., 1981; Manabe y col., 1988).

1) *Músculo Longissimus dorsi*

1.a) *Proporción de Fibras*

En condiciones normales se ha observado una transición en la proporción de los tres tipos de fibras a los 16 meses de edad, confirmando una transición de fibras tipo I hacia IIA y IIB, presentándose tanto en musculo losngissimus dorsi como en semitendinoso (Brandstetter y col., 1998). En nuestro estudio como se muestra en la imagen 7, el grupo testigo presento la misma tendencia en el cambio de proporción de los tres tipos de fibras, mostrando una decreción en las fibras tipo I del 46% y un aumento tanto en las fibras tipo IIA y IIB del 30%, datos que están acordes a los publicados por Brandstetterter y col., 1998; Picard y col., 1995, Wegner y col 2000. En presencia de la ractopamina y zilpaterol, la proporción de las fibras tipo I se afecto en menor grado, en el caso de ractopamina, la fibras tipo I aumentaron en su proporción un 20%, sin embargo el grupo zilpaterol tuvo una decreción como el testigo, en menor proporción (13%). Estos resultados indican que la administración de ractopamina tiene un efecto directo sobre la diferenciación de las fibras, retardando el cambio de fibras tipo I hacia otro tipo de fibra.

En el caso de las fibras tipo IIA, del grupo ractopamina, hay una decreción en la proporción del 16%, mientras que el zilpaterol disminuyó la proporción de estas fibras en 38%. Por otro lado, las fibras tipo IIB mostraron un aumento del 6% en el grupo ractopamina, pero con respecto a las fibras tipo IIA mostraron un aumento del 22%, sin embargo el grupo zilpaterol presentó en este tipo de fibras un aumento del 134% (imagen 7). De acuerdo a lo que está reportado por Gonzalez y col., 2007, quienes trabajaron con vacas que se les administró un régimen de implantes (acetato de trembolona con estradiol) y ractopamina, encontraron que se presenta un incremento en el número de fibras tipo IIA y IIB, en el que destaca que un gran porcentaje de las fibras I se convierten a fibras IIB, llegando a ser hasta un 60% del total de fibras tipo II en el músculo *longissimus dorsi*. En el mismo sentido Vestergaard y col., (1994); Rajab y col., (2000) mencionan que en el ganado bovino y en ratones, está bien establecido que los β agonistas incrementan el porcentaje de fibras tipo IIA a expensas de las fibras tipo I. Mientras que Brandstetter y col., (1998), quienes usaron técnicas enzimáticas para identificar tipos de MHC, encontraron un porcentaje de fibras tipo I, IIA y IIB del 25, 25 y 50% respectivamente en el músculo *longissimus dorsi*. Fritsche y col., (2000), reporta un porcentaje similar con 20 a 30% de fibras clasificadas como oxidativas y aproximadamente 55% del total de las fibras presentes como fibras glucolíticas.

Efectivamente la ractopamina tiene un efecto mucho menor que zilpaterol en bovinos, debido a que este fármaco tiene afinidad por receptores tipo β_1 (Moody y col., 2000) y en el músculo del ganado bovino hay una mayor proporción de receptores β_2 (Winterholler y col., 2007), lo cual permite una mejor acción por parte del zilpaterol.

Por otro lado algunos experimentos indican que, la proporción entre los diferentes tipos de fibras musculares, se ven afectados por la aplicación tanto de ractopamina como de zilpaterol (Wegner y col., 2000). La edad y la raza de los bovinos, tienen un papel importante en la proporción de fibras presentes en cada músculo.

1.b) Morfología.

Densidad de Núcleos, Capilares y Área transversal de la fibra.

En bovinos que han sido evaluados para conocer los cambios morfológicos que suceden en el miocito durante el crecimiento, se encuentran el aumento en el número de núcleos asociados al miocito, principalmente en la etapa de desarrollo, atribuible al efecto de anabólicos esteroidales e IGF-1, se demostró que hay un aumento en el número, debido a la proliferación de células satélite (Pampusch y col, 2003, Kamangra-Sollo y col 2004). En varios estudios se ha demostrado que el área transversal de las fibras, se ve aumentada principalmente en las fibras tipo II (Kim y col., 1987).

1.b.1) Fibras tipo I

En el presente estudio el grupo testigo en las fibras tipo I mostró en la densidad de núcleos un aumento del 18%, además la densidad de capilares incremento 10%, siguiendo esta tendencia el área transversal aumentó un 147% con respecto al grupo control, como se puede observar en la imagen 7. Estos datos son congruentes a los reportados por los autores antes mencionados, excepto el área transversal, esta variable es contraria a valores reportados por Wegner y col, 2000, quien comparó cuatro diferentes razas *Bos taurus*, a diferentes edades, ellos reportan que en todas las edades en las que fue evaluada el área transversal, las fibras tipo I son las que presentan la menor talla, el tipo IIB son las que presentan la talla más grande y las tipo IIA presentaron una talla intermedia.

Con respecto al grupo ractopamina en las fibras tipo I, arrojó una disminución en la densidad de núcleos del 10%, mientras que para la densidad de capilares el aumento fue del 20% y el área transversal se mantuvo sin cambios (imagen 7). La nula presencia de cambios en el área transversal de las fibras tipo I, podrían atribuirse a un menor estímulo, que tiene la ractopamina sobre el músculo esquelético de los bovinos, debido a su afinidad por receptores β_1 y β_3 , (Winterholler y col., 2007). Este grupo de investigadores reporta que en novillos, a los cuales se les administro ractopamina por 28 días, presentaron un aumento en la cantidad de receptores β_2 , lo cual indica que hay un menor estímulo por parte de este fármaco, para inducir una hipertrofia muscular y consecuentemente un aumento en el área transversal de la fibra. Este grupo concuerda con datos publicados por Wegner y col, 2000, que reporto una mayor área en fibras tipo IIB, mientras que las fibras tipo I presentaron la menor área.

En el grupo zilpaterol se observó una reducción en la densidad de núcleos del 21%, pero en la densidad capilar, hubo un aumento del 16%, mientras que en el área transversal mostro una reducción del 28% (imagen 7). Estos resultados muestran que las fibras tipo I, no se ven favorecidas por la administración de zilpaterol, lo cual causa una reducción en el área transversal, esto es debido a que el zilpaterol al igual que el cimaterol, son fármacos en lo que se comprobó que inducen un cambio hacia fibras tipo II, en las que también se observa una hipertrofia marcada y acompañadas de un cambio en su metabolismo (Vestergaard y col., 1998, Beermann, 2001)

1.b.2) Fibras tipo IIA y IIB.

Las fibras tipo IIA y IIB, el grupo testigo mostro un aumento en la densidad de núcleos de 50% para las fibras IIA y del 30% para las fibras IIB, mientras que para el número de capilares las fibras IIA aumentó un 20%, manteniéndose sin cambios las tipo IIB, con respecto al área transversal hubo un aumento del 96% para las fibras tipo IIA y del 74% para las fibras tipo IIB (imagen 7).

En el caso del grupo ractopamina en las fibras IIA la densidad de nucleos se muestra sin cambios y las fibras IIB tuvieron una disminución del 15%; la densidad capilar por el contrario mostro un aumento del 28% y del 15% para las fibras IIA y IIB respectivamente. Sin embargo para el área transversal las fibras IIA mostraron un aumento de 32% y en las fibras IIB fue del 30%. La ractopamina tuvo un efecto contrario al esperado, causando una reducción en el área transversal de las fibras, principalmente en las fibras tipo I y IIA (imagen 7). Estudios realizados por Aalhus y col. 1992, mencionan que en cerdos en crecimiento, a quienes se administró ractopamina, mostraron un aumento en el área del ojo de la chuleta, esta hipertrofia fue debido al incremento del área de fibras tipo IIA y IIB. Mientras que en la población de fibras tipo II, en vacas a las cuales se les administro ractopamina, no presentaron hipertrofia, sin embargo cuando se les administró cimaterol, este indujo hipertrofia en la misma población. (Vestergaard y col, 1994)

En el caso de las fibras tipo IIA y IIB del grupo tratado con zilpaterol, la densidad de núcleos en las fibra tipo IIB redujo en un 25%, sin embargo el área transversal de las fibras tipo IIA mostro un aumento del 22%, pero las fibras tipo IIB mostraron una reducción del 40%. Esta reducción que presenta el área transversal, es parecida a datos publicados por Fiem y col.,

(1993) quien encontro que la conversión de fibras IIA hacia IIB, no presentaron efectos de hipertrofia en las fibras individuales, en un estudio realizado en toretes productores de carne. Datos contrarios a los obtenidos fueron publicados por Vestergaard y col 1994; Gonzalez y col., 2007, Picard y col, 1998) quienes trabajaron en ganado bovino, ovino y cerdos, en los cuales se presento un aumento del área transversal de las fibras tipo IIA y IIB.

La reducción en la densidad de núcleos, se debe a un aumento en el área de las fibras musculares, debido a que se tiene el mismo número de núcleos pero por una mayor cantidad de μm^2 , respaldando este resultado Winterholler y col, 2007, demostraron que el aumento en la síntesis de proteína, es precedida por un aumento en la cantidad de ARNm, mientras que la cantidad de núcleos y capilares se mantiene constante. Datos similares fueron obtenidos por Beermann y col., (1985) quien reporta que en un estudio realizado en corderos, alimentados con cimaterol durante 7 semanas, obtuvo una baja concentración de DNA (25% menos). Kim y col, 1987, reporta que la concentración de ADN entre el grupo control y el grupo al cual se administro cimaterol, se redujo en el grupo tratado en un 50% en el musculo longissimus dorsi y en un 35% en el semitendinoso.

La misma tendencia a la baja, se presentó en la densidad capilar para las fibras tipo IIA y IIB, los resultados anteriores concuerdan con los publicados por Vestergaard y col., (1994) y Terjung y Engbretson, (1988), quienes mencionan que hay una mayor cantidad de capilares asociados a las fibras tipo I (oxidativas) seguido por las fibras tipo IIA (oxido-glucolíticas), mientras que las tipo IIB son las que presentan menor irrigación; estas diferencias en la cantidad de capilares asociado las fibras tipo I, podría ser explicada por el metabolismo que presentan dichas fibras, debido a que tienen una mayor exigencia de oxígeno, necesario para mantener el metabolismo aerobio, mientras que las fibras tipo IIB por la hipertrofia que se induce, necesitan un mayor aporte de energía y nutrientes, necesarios para la síntesis de proteína y mantenimiento del metabolismo anabólico que predomina en esas fibras.

1.c) Características Metabólicas

Actividad de las enzimas mATPasa, α -GDPH, SDH, Acumulación de glucógeno.

La actividad de las enzimas involucradas en el metabolismo de las fibras musculares, son una forma de respaldar el tipo de fibras presentes en el musculo y las funciones que realizan.

1.c.1) Fibras tipo I.

El grupo testigo en las fibras tipo I, se muestra sin cambios en la actividad enzimática de las enzimas mATPasa y α GDPH, mientras que la actividad de SDH aumento un 20% y se disminuyó la acumulación de glucógeno en 16% (imagen 7). La actividad de la enzima mATPasa, nos indica la cantidad y tipo de Miosina de cadena pesada (MHC) que está presente en la fibra muscular, lo cual permite indirectamente conocer el grado de hipertrofia que ha sufrido esta fibra muscular y la capacidad de contracción que tiene la fibra (Young OA., 1984), los cambios nulos en esta enzima, son contrarios a los publicados por Brandstetter y col, (1998) quien menciona que a la edad de 16 meses, la cantidad de MCH1, es mucho más abundante en el longissimus dorsi que en el tríceps brachii, también menciona que hay una reconversión más rápida hacia MHC1 en este músculo. Brandstetter y col, (1998) mencionan que la actividad glucolítica, medida por la acción de la LDH en el músculo longissimus dorsi, a mayor edad presenta una ligera disminución en bovinos, además Schreurs y col. (2008), mencionan que no hay diferencia en la actividad entre las diferentes razas de toretes. La actividad oxidativa que presentan las fibras es medida por la SDH, Brandstetter y col., 1998, quienes midieron la actividad de la ICDH, en bovinos a diferentes edades, obtuvieron que esta enzima a los 16 meses de edad en el musculo longissimus dorsi tuvo una disminución en su actividad, mientras que a los 24 meses no se presentaron diferencias en los niveles de la enzima en el musculo. Schreurs y col., (2008) midieron la actividad de la Isocitrato deshidrogenasa (ICDH) menciona que existen diferencias en su actividad, presentando una menor actividad las razas europeas que sus cruza. También el nivel hormonal de los animales afecta esta actividad, siendo mayor en los toretes que en los novillos, los datos antes mencionados, concuerdan con que se muestran en el grupo testigo.

Los resultados arrojados por el efecto de ractopamina sobre las fibras tipo I, causó una disminución de la mATPas un 10%, siguiendo la misma tendencia, la SDH se redujó un 13%,

además el glucógeno disminuyó 41%. Sin embargo el grupo zilpaterol, aumento la actividad de la mATPasa en 39% y la de SDH en 40%. La reducción de valores que se presentaron en la actividad de la α -GPDH en 24% y en almacenamiento de glucógeno en 39% (imagen 7).

Williams y col, (1984), reportan un coeficiente de correlación del 0.63 entre la capacidad oxidativa definida por la actividad de la enzima SDH y la densidad de receptores β en el músculo estriado. Mientras que Martin y col., (1989) encontró una correlación del (0.99) entre el porcentaje de fibras tipo I y la densidad de receptores β en el músculo esquelético; Holloszy y col., (1984) indica que la capacidad oxidativa de las fibras tipo I es aproximadamente 3 veces mayor que las fibras tipo IIB, mientras que solo es 50% más activa cuando se compara con las fibras tipo IIA.

1.c.2) Fibras tipo IIA y IIB

Las fibras IIA del grupo testigo, tuvieron una reducción en la actividad de la mATPasa del 29% al igual que la SDH mostró un aumento en la actividad del 20%. En el grupo ractopamina, redujo la actividad de la mATPasa en 22%, mientras que la actividad de la SDH disminuyó 12% y la acumulación de glucógeno siguió la misma tendencia a reducir con un 50%. El grupo zilpaterol, mostro una mayor variabilidad en los resultados, debido a que la actividad de la mATPasa aumento en un 76%, mientras que la actividad glucolítica mostro una disminución del 20% y la actividad oxidativa aumento en un 10%, y la capacidad para acumular glucógeno por parte de estas fibras se redujó un 40% (imagen 7). Los resultados en la actividad de ATPasa, muestra que en las fibras tipo IIA hay un aumento en el grupo zilpaterol a diferencia del ractopamina, debido a que está reportado en la literatura, que el zilpaterol induce un cambio bien establecido hacia fibras tipo II (, lo cual explicaria que hay un mayor estímulo para la síntesis de proteínas como la MHCA/B, que causaría aumento en los valores de la actividad de la mATPasa.

Existe evidencia de cambios en la capacidad metabolica de los musculos de ganado bovino y avinos, que fueron tratados con β agonistas, hacia un metabolismo más glucolítico y menos oxidativo. (McEwan y col, 1985, Eisemann y col, 1988, Zimerli y blum, 1990). Además el tratamiento con β agonistas, pueden influir tanto en las propiedades contráctiles y en el metabolismo general de energis de los musculos (Vestergaard y col. 1994)

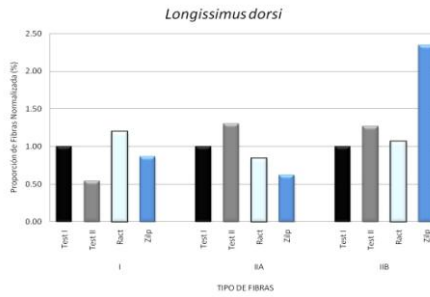
Sin embargo las fibras tipo IIB del grupo testigo, se redujó un 18% en la actividad de la mATPasa, pero aumento en un 8% la actividad glucolítica y en un 15% la oxidativa, mientras que la acumulación de glucógeno se mantuvo sin cambios.

En los grupos tratados se observaron más tendecias hacia la reducción, en el caso del grupo ractopamina, la actividad de la mATPasa disminuyó un 27%, el metabolismo glucolítico de la α -GDPH bajo un 9% al igual que él oxidativo (SDH) con 11% y la acumulación de glucógeno mostro una reducción del 35%. Por su parte el grupo zilpaterol tuvo un aumento del 49% en la mATPasa al igual que la actividad de la SDH con un aumento del 40%, sin embargo la actividad de la α -GDPH redujó su actividad 15% y la acumulación de glucógeno mostró la misma tendecia a la baja con un 40%.

Las reducciones en la cantidad almacenada de glucógeno, concuerdan con datos publicados por Vestergaard y col., (1994) quien en novillos alimentados con cimaterol, encontró una reducción en el contenido de glucógeno en aproximadamente 25%, tanto en el músculo LD y en el ST. Datos similares fueron reportados en otros estudios, realizados en rumiantes (Allen y col., 1985; McEwan y col., 1895; Warriss y col., 1989). Entre los factores que pueden modificar el metabolismo muscular, están aquellos que pueden estar relacionados con el manejo (Shackelford y col. 1999; Gunning y Hardeman, 1991). La cantidad de acumulación de glucógeno intrafibrilar, adquiere una gran importancia, debido a su íntima relación con las características cualitativas y cuantitativas de las canales de bovino (Lefaucheur y col., 2002). Su importancia radica en la reducción del pH que se presenta durante el rigor mortis, esta reducción se debe a que se presentará un metabolismo anaerobio en el cual se utiliza el glucógeno almacenado en los músculos, el producto final de este metabolismo es la presencia de ácido láctico.

Imagen 7. Resumen de resultados del músculo longissimus dorsi.

Proporción de fibras en el músculo *longissimus dorsi*.

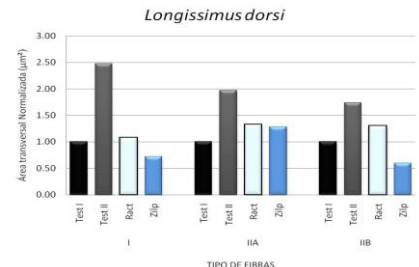
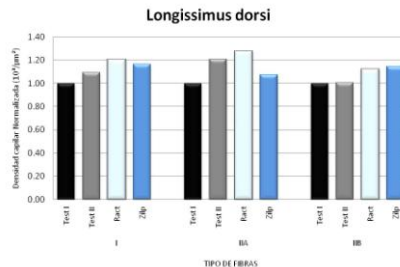
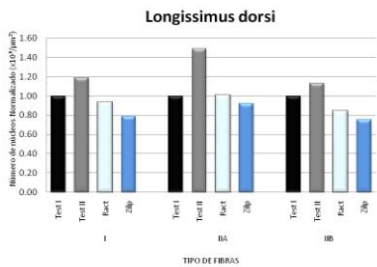


Morfología celular.

a) Densidad de núcleos ($10^3/\mu\text{m}^2$)

b) Densidad capilar ($10^3/\mu\text{m}^2$)

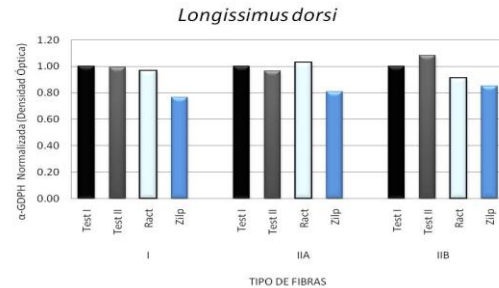
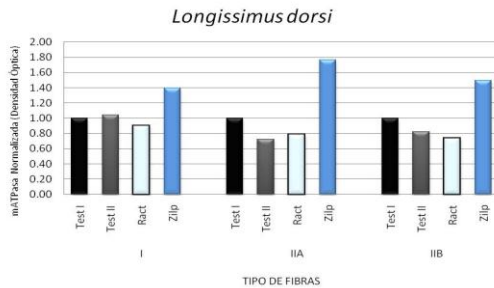
c) Área transversal de las fibras (μm^2).



Características metabólicas.

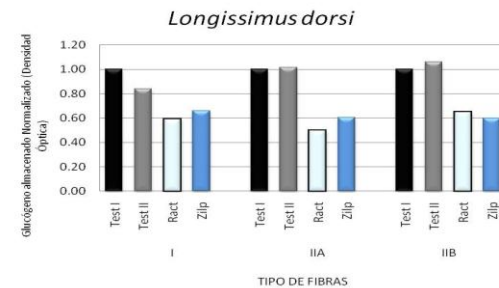
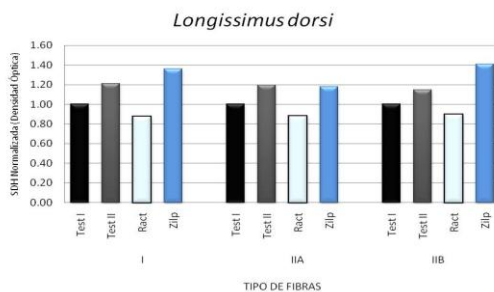
a) Actividad de miosin ATPasa (mATPasa)

b) Actividad de α -GDPH



c) Actividad de la (SDH)

d) Acumulación de glucógeno almacenado.



2. Músculo Semitendinoso

2.a) Proporción de fibras

La proporción de fibras que se presentan en el músculo semitendinoso, tiene un comportamiento parecido al *longissimus dorsi*, estas similitudes se basan en que ambos músculos, son clasificados por Kirchofer y col., (2002) como músculos blancos, este investigador realizó una clasificación, la cual se basa en las proporciones de los tipos de fibras que presenta cada músculo, y refiere en ella, que el músculo *longissimus dorsi* presenta un 35 % (F. tipo I), 21.4% (F. tipo IIA) y 43.2% (F. tipo IIB), mientras que el *semitendinoso* presenta 24% (F. tipo I), 26% (F. tipo IIA) y 49.7% (F. tipo IIB). Las fibras tipo I en el grupo testigo mostraron una decreción en la proporción del 55%, el mismo comportamiento se presentó en los grupos tratados, con una disminución del 47% en el grupo ractopamina y del 25% en el grupo zilpateol. En otros estudios realizados en bovinos y ovinos, en los cuales las fibras fueron clasificadas como tipo I y tipo II, por ticiones de ATPasa y SDH, se reporta que no hay cambios en la proporción de fibras tipo I y II. (Kim y col. 1987; Miller y col, 1988. Sin embargo Beermann y col (1987), en un estudio realizado en corderos, encontró una disminución en la proporción de fibra tipo I en semitendinoso, con respecto al *longissimus* o semimenbranoso.

Las fibras tipo IIA, también mostraron una disminución en los tres grupos, con 15% en el testigo, 26% en el de ractopamina y 32% en el grupo zilpaterol. Con respecto a las fibras tipo IIB, en los tres grupos presentaron aumentos, presentándose un 79% en el grupo testigo, 90% en de ractopamina y un 94% en el grupo zilpaterol. Los resultados obtenidos en este músculo, tienen un comportamiento similar al reportado en la literatura, en la cual marca un aumento en la proporción de fibras tipo II a expensas de las tipo I, tanto en animales con y sin administración de β agonistas. En el caso de los cambios que presentaron los animales del grupo testigo, Wegner y col, (2000), mencionan que el cambio en la proporción de fibras musculares, va a depender de la edad del animal, en el estudio que realizaron en el cual los bovinos de 4 diferentes razas, fueron sacrificados a diferentes edades (0, 2, 4, 6, 12 y 18 meses), se encontró que de los 0 a 2 meses de edad hay un aumento significativo en la frecuencia de fibras tipo IIB y una disminución en las tipo IIA en razas provenientes del *Bos taurus* y de los 6 a los 24 meses, raramente ocurren cambios en la proporción de fibras raramente independientemente de la raza del bovino, un ejemplo de este cambio es la mayor proporción de fibras tipo I y IIB que componen fundamentalmente a el músculo *longissimus*

dorsi, (Wegner y col., 2000; Kirchofer y col., 2002) en comparación al músculo semitendinoso que presentan una mayor variación en su población de fibras, pero mantiene predominantemente un cambio de fibra tipo I a tipo IIA y IIB, lo cual causa que sea considerado como un músculo mayoritariamente glucolítico (Vestergaard y col., 1994). Mientras que Brandstetter y col., (1998), mencionan que a edades de 16 meses de edad, se presentó un descenso del tipo de fibras IIB. Renand y col, (2001) también apoya que la proporción de cada una de los tres diferentes tipos de fibras va a depender de la edad a la cual sea sacrificado el bovino. En el nuestro estudio, encontramos que la proporción de fibras musculares puede ser afectada por la raza, peso y edad al sacrificio (Kirchofer y col., 2002; Winterholler y col., 2007).

2.b) Morfología.

Densidad de Núcleos, Capilares y Área transversal de la fibra.

Las características que presenta el músculo semitendinoso en comparación al longissimus dorsi, es el de ser más variable en su población miofibrilar (heterogéneo) y por lo tanto se encontrarían diferencias metabólicas e histoquímicas, presentando tendencia hacia un tipo más glucolítico, debido al cambio dirigido a fibras tipo II (Vestergaard y col., 1994; Beermann y col (1987)

2.b.1) Fibras tipo I

Las características morfológicas en las fibras tipo I del grupo testigo, arrojó un aumento en los núcleos del 25% y en capilares de 18%, sin embargo el área obtuvo un aumento del 135% en comparación al grupo control. Kim y col, (1987), como ya se refirió anteriormente, reportan que no hay cambio en el metabolismo de fibras tipo I y tipo II.

El grupo donde se administró ractopamina, los nucleos se mantuvieron sin cambios, mientras que los capilares y el área transversal, se vieron incrementadas en un 28% y 15% respectivamente. El grupo zilpaterol mostró variabilidad tenue, debido a que la densidad de nucleos disminuyo un 9%, la densidad capilar aumento 6% y el área transversal se mostró sin cambios, con respecto al grupo testigo. Estos datos concuerdan con los publicados por Wegner y col., 2000, quien comparó cuatro diferentes razas de bovinos productores de carne a diferentes edades y además hizo una comparación entre el tamaño y el tipo de fibra, revelo que las fibras tipo I son las que presentan una menor área, mientras que las fibras tipo IIB

fueron las más grandes y las fibras tipo IIA presentaron un tamaño intermedio. Con respecto a las fibras tipo I, en el mismo sentido Jurie y col., (1999) menciona que el área transversal de las fibras tipo I, tiene un aumento entre los 10 y 16 meses de edad. Williams y col., (1984) encontró una mayor densidad de receptores β -adrenérgicos en las fibras tipo I que en las fibras tipo IIA o IIB, pero esto no parece estar asociado con ninguna conversión en el tipo de fibra o una hipertrofia selectiva en el tipo de fibras. Las fibras tipo I tienen una alta densidad de receptores glucocorticoides (Dubois y Almon, 1984) y receptores a insulina (Lefaucheur y col., 1986) si se comparan con las fibras tipo II. El efecto de los β agonistas puede también ser mediado por la concentración, actividad o metabolismo de hormonas como la tiroxina (Scheidegger y col., 1984), insulina (Webster y col., 1986; Vestergaard, 1991) y glucocorticoides (Dumelow y col., 1991). Gonzalez y col., (2007), reportan que en el experimento realizado en vacas de carne de desecho, a las cuales se les aplicaron tratamientos que consistían en acetato de trembolona, ractopamina y su interacción entre estos dos fármacos. Al evaluar los cortes provenientes del grupo de interacción Ractopamina/ATB presentaron un incremento significativo ($P < 0.05$) en el área transversal y el diámetro de las fibras tipo I, mientras que para las fibras tipo IIA y IIB, no hubo un incremento significativo para estas características.

2.b.2) Fibras tipo IIA y IIB

Las fibras tipo IIA mostraron en el grupo testigo aumentos en la densidad de núcleos, densidad capilar y área transversal del 19, 9 y 158% respectivamente.

El grupo al cual se administró ractopamina, en la densidad de núcleos disminuyó un 6%, mientras que la densidad capilar aumentó 14% y el área transversal aumentó 20%. Con respecto al grupo zilpaterol, aumentó 13% la densidad de núcleos y el área transversal un 53%, sin embargo la densidad capilar disminuyó un 8%.

Las fibras tipo IIB, mostraron en el grupo testigo un aumento en las tres variables (densidad de núcleos, densidad de capilares y área transversal) con valores de 33, 8 y 159% respectivamente, como se muestra en la imagen 8.

El grupo ractopamina mostró pequeños aumentos en las tres características, con 13% en densidad de núcleos, 14% en la densidad capilar y 15% en el área transversal. Sin embargo el grupo zilpaterol, mostró una reducción en las tres variables con 19% en el número de núcleos, 20% en la cantidad de capilares y 26% en el área transversal (imagen 8).

La administración de β agonistas, inducen una hipertrofia, mediante dos vías, la primera es disminuyendo la degradación de proteína y la segunda es aumentando en menor grado la síntesis proteica, resultando una mayor cantidad de tejido muscular con una disminución en la concentración de núcleos. (kim y col., 1987, Li y Jefferson, 1977). Por otro lado Winterholler y col., (2007) menciona que el aumento en la síntesis de proteína, se atribuye a un aumento en la síntesis de RNAm, el incremento en esta molécula, se puede deber a la mayor producción de AMPc que estimula la producción de RNAm con el mismo número de núcleos, con lo que se podría estar produciendo una mayor cantidad de proteína con la misma cantidad de núcleos y al mismo tiempo disminuyendo la degradación de la proteína, obteniendo como resultado una hipertrofia muscular mucho más consistente y consecuentemente un aumento de peso en las canales provenientes de animales alimentados con algún β agonistas , con el mismo número de núcleos.

Datos publicados por Fiems y col., (1993) quienes reportna que no hubo un aumento en el área transversal de las fibras IIB, en un estudio realizado con toros productores de carne en finalización. Maltin y col., (1990) encontró que en terneros, el clenbuterol causaba una hipertrofia en las fibras oxido-glucolíticas y glucolíticas, pero no presentaron cambios en la proporción de fibras. Wheeler y Koohmaraie (1992) mostraron que no hubo un cambio en la proporción del tipo de fibras en el músculo *longissimus*, en novillos después de haber sido tratados con el fármaco L-644,969. Sin embargo, el área de las fibras oxidativas disminuyó y el de las fibras oxidoglucolíticas y glucolíticas aumento significativamente. Sin embargo, el incremento de núcleos es un prerrequisito para la síntesis de proteína asociado a un crecimiento normal. (Allen y col, 1979). Estos datos hacen suponer que los animales que conformaron el grupo testigo podrían haber tenido dos principales variables que pudieron afectar directamente el área transversal, estas son: la raza y edad del animal. Wegner y col., (2000), reporta que los toros de la raza Belgian Blue, mostraron un retardo de crecimiento en el peso del músculo *semitendinoso* y el área transversal de las fibras, de los 18 a 24 meses de edad, seguido de una alta tasa de crecimiento. Se tiene la certeza de que el uso de los β agonistas produce un incremento en el área transversal en las fibras tipo I y II de diferentes músculos (Beermann y col., 1985; 1987), pero aún no se tiene completamente detallado hasta donde llega el efecto de estos fármacos a nivel celular y donde empiezan los efectos de otras sustancias que se utilizan en combinación con los β agonistas , como son los productos hormonales, ya que se han realizado investigaciones en las cuales se ha

demostrado que el aumento del área transversal al igual que la distribución de fibras tipo IIA y IIB, pueden estar influida por los niveles de testosterona que presentan los animales (Jurie y col., 1999). Se cree que el modo de acción de la testosterona, por una parte es la estimulación para la secreción de la hormona de crecimiento (HC), y la secreción de IGF-1, que estimulan la síntesis de proteína. (Vigneron y col.1989).

2.c) Características Metabólicas

Actividad de las enzimas mATPasa, α -GPDH, SDH, Acumulación de glucógeno.

La actividad en casa una de las enzimas que nos permiten conocer el tipo de metabolismo de las fibras musculares y conocer indirectamente algunos de los efectos que causa la administración de β agonistas en bovinos, por ejemplo el aumento en la actividad glucolítica y disminución en la actividad oxidativa (González y col, 2007), este cambio en el metabolismo se lleva a cabo de manera natural en los bovinos, pero depende mucho de la edad y raza del animal (Wagner y col. 2000). Este cambio en el metabolismo, trae consigo una serie de cambios inherentes como son el aumento en la actividad de la ATPasa y el acumulo de glucógeno en la fibra muscular. (Young, OA, 1984, Vestergaard y col 1994).

2.c.1) Fibras tipo I

Las características de las fibras tipo I, en el grupo testigo, la actividad de las enzimas ATPasa, α GDPH y SDH, mostraron disminución con 63, 20 y 10% respectivamente, además que la cantidad de glucógeno acumulado se redujo un 20% (imagen 8).

En el grupo ractopamina, arrojó una disminución en la actividad de la α GDPH en 33% y de la SDH en 17%, mientras que el glucógeno disminuyó 43%. La actividad del grupo zilpaterol tuvo un aumento en la actividad de la ATPasa del 9%, mientras que la α GDPH y SDH disminuyeron en un 11 y 18%, además de que la acumulación de glucógeno bajo 50%, como se observa en la imagen 8. Al haber un cambio en estos dos tipos de fibras, la administración de AA- β también modifican el metabolismo, induciendo cambios de un metabolismo oxidoglucolítico (IIA) hacia uno completamente glucolítico (IIB) (Miller y col., 1988; Maltin y col., 1990; Wheeler y Koochmariaie, 1992). Los datos obtenidos en este trabajo concuerdan con los de Jurie y col., (1999), quien reporta que la actividad de las enzimas citrato sintetasa (CS) y L-3-hydroxyacyl-CoAdehydrogenasa (HAD) estuvieron reducidas entre 33 y 38% por el tratamiento con cimaterol. Datos similares son reportados en novillos alimentados con

cimaterol (Vestergaard y col., 1994), terneros (Zimmerli and Blum, 1990) y en cerdos (Oksbjerg y col., 1994), en los cuales coinciden que hay un cambio progresivo hacia un metabolismo glucolítico. Jurie y col., (1999) no encontró diferencia significativa en la actividad de isocitrato deshidrogenasa (ICDH) y se presentó una disminución en la actividad de LDH en musculo *semitendinoso* de terneros de la raza Limousin y Salers, entre los 10 y 16 meses.

2.c.2) Fibras tipo IIA y IIB.

En el grupo testigo para las fibras tipo IIA, la actividad de la mATPasa aumentó 148%, pero los valores de la α GDPH, SDH y la acumulación de glucógeno disminuyeron 18, 10 y 26%.

El grupo ractopamina, mostro el mismo comporamiento que el testigo, aumentando los valores de la mATPasa un 13%, mientras que la α GDPH, SDH y la acumulación de glucógeno, decrecieron 20, 32 y 56% respectivamente.

Por su lado, el grupo zilpaterol mostró una baja en la α GDPH en 6%, al igual que la SDH con un 21% y la acumulación de glucógeno en 51%. Mientras que la mATPasa no presentó cambios (imagen 8).

Con respecto a las fibras tipo IIB, el grupo testigo se comporto como en las fibras tipo IIA, aumentando valores de la mATPasa en 152% y con disminución en los valores de α GDPH con 13%, SDH con 28% y la acumulación del glucógeno en 24%. (imagen 8)

En el caso de la ractopamina se presentó un aumento de solo el 8% en la actividad de la mATPasa, mientras que disminuyeron todos los valores de α GDPH en 17%, SDH en 25% y en la acumulación de glucógeno con un 30%. (Imagen 8)

Sin embargo el grupo zilpaterol, mostro tendencia hacia la baja en todos los valores, empezando con mATPasa en 9%, α GDPH en 11%, SDH con 20% y la acumulación de glucógeno redujo en 46%.

Datos publicados por Jurie y col., (1999), que mencionan que la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), utilizada como un indicador de la capacidad glucolítica, esta comúnmente asociada con el incremento en la proporción de fibras de rápida contracción (IIB), pero en el estudio realizado por este autor, reporta que la actividad de LDH no aumentó en el músculo *semitendinoso*, siendo este músculo, donde se presentaron los efectos menos pronunciados; mientras que para el músculo *longissimus dorsi*, la actividad

fue 22% mayor. McEwan y col., (1985), reportan que en carneros alimentados con cimaterol, se presentó un aumento en la actividad de LDH del músculo *semitendinoso* (anaerobio) y en el diafragma (aerobio), esto se ve reforzado por datos publicados por Zimmerli y Blum., (1990) quienes mencionan que el clenbuterol aumento la actividad de LDH en el músculo *semitendinoso* de terneros.

Sin embargo, las variaciones en la concentración de glucógeno intrafibrilar se han relacionado con el manejo que reciben los animales antes del sacrificio, privación de alimento, transporte, y/o métodos de sacrificio, lo cual se debe muy probablemente a una acción catecolaminérgica y del cortisol, que aumenta debido al manejo (estrés) al que son expuestos los animales, el cual estimula una glucógenolisis en el músculo e hígado (Essén-Gustavsson, B. 1985; Fernández y col, 1995, 2002; Monin, 1992).

Algunas características que se pueden ver alteradas por la cantidad de glucógeno intrafibrilar almacenado en el músculo es el almacenamiento de agua a nivel muscular (Lefaucheur y col. 1991).

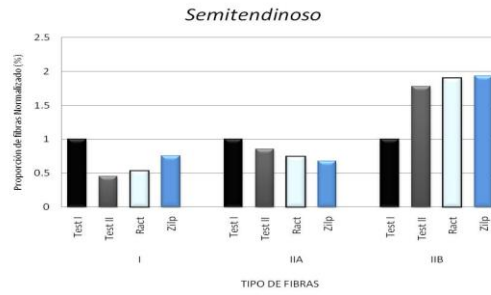
Por otro lado, la respuesta muscular al estrés producido por el transporte y antes del sacrificio en cerdos y ganado bovino induce variaciones en la población fibrilar tipo (I y II) provocando este hecho la depleción de glucógeno afectando de manera secuencial a las fibras I, IIA y IIB (Essén-Gustavsson, 1992; Fernández y col., 1995).

Asimismo, la gran densidad de receptores β , en las fibras tipo I pueden mejorar la disponibilidad carbohidratos en estas fibras durante el trabajo muscular esquelético intenso cuando los niveles de catecolaminas son elevados y las fuentes tradicionales de sustratos utilizados por fibras para el metabolismo aeróbico son insuficientes durante el ejercicio (Essén-Gustavsson, 1992; Fernández y col., 1995).

Ante estos antecedentes, el comportamiento de las diferentes características de las fibras musculares evaluadas en este trabajo, permite asegurar que la administración de β agonistas en toretes implantados, modifican la proporción, metabolismo y morfología, pero estas se ven directamente influidas por variantes como la raza, edad y estrés causado por el manejo que reciben los animales durante su estancia en la engorda. Así mismo es necesario revisar periódicamente la aportación de carbohidratos en la dieta, así como las ganancias diarias de peso que tiene cada raza de animales tratados.

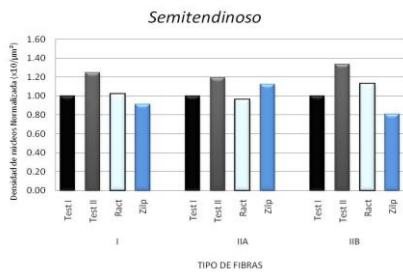
Imagen 8. Resumen de resultados del músculo semitendinoso.

Proporción de fibras en el músculo semitendinoso.

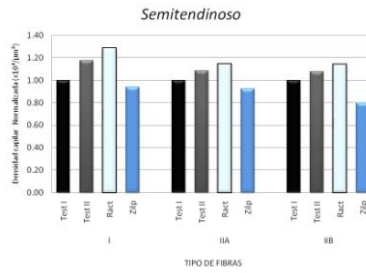


Morfología celular.

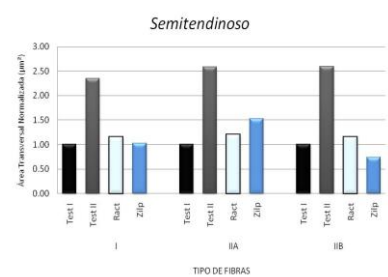
b) Densidad de núcleos ($10^3/\mu\text{m}^2$)



b) Densidad capilar ($10^3/\mu\text{m}^2$)

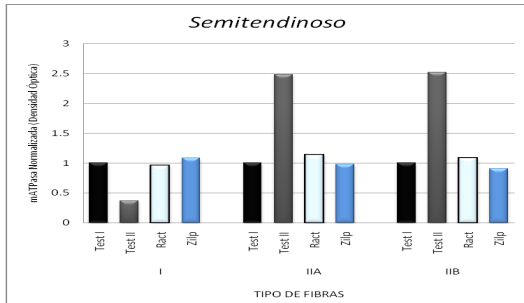


c) Área transversal de las fibras (μm^2)

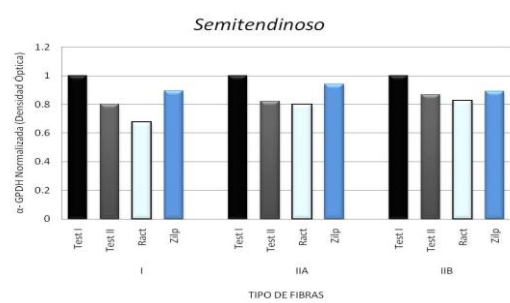


Características metabólicas.

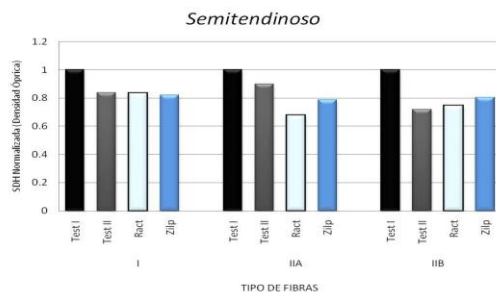
b) Actividad de miosin ATPasa (mATPasa)



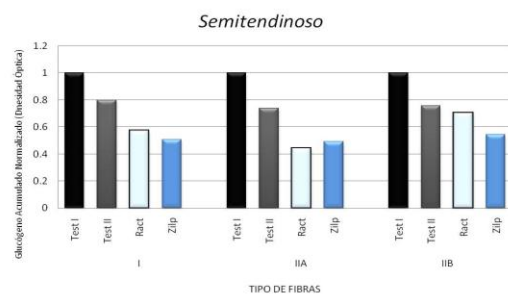
b) Actividad de α -GDPH



c) Actividad de la (SDH)



d) Acumulación de glucógeno almacenado.



8. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, indican que el tipo de β agonista que sea administrado a toretes implantados y su afinidad hacia el tipo de receptores que presentan las fibras musculares en su membrana, inducen cambios en el metabolismo de las fibras (I, IIA, IIB), influyendo directamente en la proporción y morfología.

La densidad de núcleos y capilares asociados a la fibra, no fueron afectadas por la administración de β agonistas, respaldando la teoría de que estos fármacos inducen una mayor producción de ARNm y reducción en la lisis de proteína muscular. Sin embargo no se logró demostrar el aumento reportado en la literatura, del área transversal de las fibras tipo IIA y IIB de los grupos tratados con respecto al grupo testigo, esto puede atribuirse al nulo control sobre la raza, edad y peso al sacrificio de los animales que conformaron los grupos.

La actividad de las enzimas relacionadas con el metabolismo glucolítico (α -GDPH) y oxidativo (SDH), indican que el cambio metabólico de las fibras, está acorde con la modificación de otras características como son el área transversal y proporción de fibras, debido a la afinidad que presentan los β agonistas por ciertos receptores y la redirección de glucosa y triglicéridos hacia la síntesis de proteína.

La disminución de la acumulación de glucógeno en las fibras musculares, se atribuye al aumento en la síntesis de proteína inducida por los β agonistas. Otro factor que contribuye a la reducción del glucógeno almacenado es el estrés provocado por un mal manejo zootécnico de los animales.

Los datos obtenidos en la presente investigación servirán como base para futuros trabajos, en los cuales se correlacionaran las características metabólicas y morfológicas, con el principal objetivo de conocer hasta donde se ve comprometida la calidad de la carne de animales alimentados con β agosnistas y obtener el máximo rendimiento en canal, con un alto grado de excelencia, volviendo redituable la producción de ganado bovino de carne.

9. PROSPECTIVAS.

En el presente trabajo, algunos resultados obtenidos de la evaluación de fibras musculares de bovinos que fueron tratados con beta agonistas, muestran discrepancia con otros previamente reportados en la literatura. De tal manera que se propone establecer controles más rigurosos en variables tales como: raza, edad y manejo zootécnico.

Por otro lado, es necesario modificar los protocolos, tanto de alimentación como en la administración de fármacos (dosis y tiempo de administración).

Una vez que se logren controlar estas variables en lo posible, se obtendrán datos más fehacientes, que ayuden a entender de una mejor manera, el comportamiento de las fibras musculares.

10. ANEXO.

Cuadro 2. Características contráctiles, metabólicas y morfológicas, en el fenotipo fibrilar del músculo *longissimus dorsi*, de bovinos productores de carne del grupo testigo, del primer y segundo muestreo.

Tipo de fibra	I		IIA		IIB	
	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo
Tinción/característica						
Proporción (%)	38.06	20.61	25.56	33.19	36.36	46.20 *
Nucleos (#/10³/μm²)	4.53 ± 0.239	5.38 ± 0.229 *	4 ± 0.294	5.96 ± 0.203 *	4.75 ± 0.297	5.38 ± 0.181
Capilares (#/10³/μm²)	4.5 ± 0.231	4.92 ± 0.192	4.1 ± 0.280	4.95 ± 0.149 *	4.75 ± 0.3	4.77 ± 0.138
Área transversal (μm²)	927.06 ± 71.26	2296.58 ± 139.96 *	1345.11 ± 103.45	2648.87 ± 100.26 *	1778.1 ± 100.62	3091.45 ± 100.48 *
mATPasa (D.O)	0.245 ± 0.0075	0.256 ± 0.0114	0.417 ± 0.0108	0.3 ± 0.0184 *	0.598 ± 0.0193	0.491 ± 0.0260 *
αGPDH (D.O)	0.469 ± 0.0112	0.465 ± 0.0116	0.511 ± 0.0191	0.494 ± 0.0101	0.49 ± 0.0153	0.53 ± 0.0091 *
SDH (D.O)	0.459 ± 0.0072	0.555 ± 0.0102 *	0.501 ± 0.013	0.599 ± 0.0094 *	0.498 ± 0.0124	0.571 ± 0.0058 *
αPAS (D.O)	0.345 ± 0.0086	0.333 ± 0.00436	0.267 ± 0.0117	0.337 ± 0.0036 *	0.297 ± 0.0111	0.326 ± 0.0025 *
PAS (D.O)	0.316 ± 0.0070	0.266 ± 0.0084 *	0.31 ± 0.0111	0.314 ± 0.0055	0.303 ± 0.0081	0.321 ± 0.0055

Valores del segundo muestreo con asterisco, presenta diferencia significativa (P<0.05). n= 450 fibras por tratamiento (D.O) Densidad óptica, a mayor valor, mayor actividad de la enzima o presencia del sustrato.

Cuadro 3. Efectos de la administración de ractopamina, en el fenotipo fibrilar del músculo *longissimus dorsi* de bovinos productores de carne.

Tipo de fibra	I		IIA		IIB	
	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo
Tinción/característica						
Proporción (%)	23.31	27.88	42.60	35.84	34.08	36.28
Nucleos (#/10 ³ /μm ²)	6.05 ± 0.377	5.65 ± 0.239	6.36 ± 0.289	6.4 ± 0.289	6.39 ± 0.352	5.4 ± 0.211 *
Capilares (#/10 ³ /μm ²)	4.44 ± 0.213	5.34 ± 0.231 *	4.69 ± 0.185	5.98 ± 0.209 *	4.81 ± 0.176	5.39 ± 0.172 *
Área transversal (μm ²)	1254.04 ± 128.48	1352.84 ± 66.02	1342.91 ± 100.77	1779.31 ± 77.40 *	1458.44 ± 129.77	1891.73 ± 66.52 *
mATPasa (D.O)	0.271 ± 0.0158	0.244 ± 0.0128	0.519 ± 0.0124	0.408 ± 0.0151 *	0.776 ± 0.0115	0.57 ± 0.0172 *
αGPDH (D.O)	0.515 ± 0.0335	0.497 ± 0.0138	0.575 ± 0.0214	0.592 ± 0.0127	0.599 ± 0.0223	0.546 ± 0.0097 *
SDH (D.O)	0.683 ± 0.0194	0.596 ± 0.0099 *	0.612 ± 0.0183	0.538 ± 0.0087 *	0.617 ± 0.0206	0.552 ± 0.0088 *
αPAS (D.O)	0.43 ± 0.0095	0.353 ± 0.0063 *	0.403 ± 0.0057	0.349 ± 0.0037 *	0.408 ± 0.0073	0.335 ± 0.0049 *
PAS (D.O)	0.453 ± 0.0168	0.268 ± 0.009 *	0.45 ± 0.0107	0.224 ± 0.0083 *	0.435 ± 0.0147	0.282 ± 0.0058 *

Valores del segundo muestreo con asterisco, presenta diferencia significativa (P<0.05). n= 450 fibras por tratamiento (D.O) Densidad óptica, a mayor valor, mayor actividad de la enzima o presencia del sustrato.

Cuadro 4. Efectos de la administración de zilpaterol, en el fenotipo fibrilar del músculo *longissimus dorsi* de bovinos productores de carne.

Tipo de fibra	I		IIA		IIB	
	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo
Tinción/característica						
Proporción (%)	36.00	31.28	47.33	29.57	16.67	39.15
Nucleos (#/10 ³ /μm ²)	5.44 ± 0.424	4.29 ± 0.173 *	4.46 ± 0.233	4.1 ± 0.177	5.12 ± 0.397	3.85 ± 0.13 *
Capilares (#/10 ³ /μm ²)	4.55 ± 0.248	5.3 ± 0.168 *	4.87 ± 0.21	5.22 ± 0.177	4.16 ± 0.176	4.76 ± 0.134
Área transversal (μm ²)	2471.34 ± 234.32	1778.37 ± 81.186 *	2206.11 ± 248.005	2831.53 ± 164.70 *	4477.95 ± 511.65	2673.09 ± 124.04 *
mATPasa (D.O)	0.201 ± 0.0063	0.28 ± 0.0079 *	0.309 ± 0.0082	0.545 ± 0.0079 *	0.457 ± 0.0265	0.682 ± 0.0068 *
αGPDH (D.O)	0.57 ± 0.0171	0.436 ± 0.0119 *	0.632 ± 0.0127	0.511 ± 0.013 *	0.57 ± 0.0108	0.485 ± 0.0107 *
SDH (D.O)	0.424 ± 0.0189	0.576 ± 0.0134 *	0.499 ± 0.0150	0.589 ± 0.0135 *	0.427 ± 0.0186	0.601 ± 0.0128 *
αPAS (D.O)	0.439 ± 0.0157	0.321 ± 0.00684 *	0.432 ± 0.0116	0.324 ± 0.0058 *	0.53 ± 0.0215	0.32 ± 0.0055 *
PAS (D.O)	0.389 ± 0.0114	0.257 ± 0.0053 *	0.419 ± 0.0097	0.253 ± 0.0049 *	0.386 ± 0.0204	0.231 ± 0.0046 *

Valores del segundo muestreo con asterisco, presenta diferencia significativa (P<0.05). n= 450 fibras por tratamiento (D.O) Densidad óptica, a mayor valor, mayor actividad de la enzima o presencia del sustrato.

Cuadro 5. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en la densidad de núcleos ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$), en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
Núcleo ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	IIB	5.38	± 0.181	a	5.4	± 0.211	a	3.85	± 0.13	b
Núcleo ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	IIA	5.96	± 0.203	a	6.4	± 0.289	a	4.1	± 0.177	b
Núcleo ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	I	5.38	± 0.229	a	5.65	± 0.239	a	4.29	± 0.173	b

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 6. Efecto de la administración de ractopamina y zilpaterol en la densidad capilar ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$), en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
Capilares ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	IIB	4.77	± 0.138	a	5.39	± 0.172	b	4.76	± 0.134	a
Capilares ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	IIA	4.95	± 0.149	a	5.98	± 0.209	b	5.22	± 0.177	a
Capilares ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	I	4.92	± 0.192	a	5.34	± 0.231	a	5.3	± 0.168	a

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 7. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en el área transversal de las fibras musculares (μm^2), en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
Área Transversal (μm^2)	IIB	3091.45	± 100.48	a	1891.73	± 66.52	b	2673.09	± 124.04	c
Área Transversal (μm^2)	IIA	2648.87	± 100.26	a	1779.31	± 77.40	b	2831.53	± 164.70	a
Área Transversal (μm^2)	I	2296.58	± 139.96	a	1352.84	± 66.02	b	1778.37	± 81.186	c

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 8. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en la actividad de la ATPasa, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
M ATPasa (D.O)	IIB	0.491	± 0.0260	a	0.57	± 0.0172	b	0.682	± 0.0068	c
M ATPasa (D.O)	IIA	0.3	± 0.0184	a	0.408	± 0.0151	b	0.545	± 0.0079	c
M ATPasa (D.O)	I	0.256	± 0.0114	ab	0.244	± 0.0128	a	0.28	± 0.0079	b

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 9. Efecto de la administración de ractopamina y zilpaterol en la actividad de la enzima α GPD, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
GPDH (D.O.)	IIB	0.53	± 0.0091	a	0.546	± 0.0097	a	0.485	± 0.0107	b
GPDH (D.O.)	IIA	0.494	± 0.0101	a	0.592	± 0.0127	b	0.511	± 0.013	a
GPDH (D.O.)	I	0.465	± 0.0116	ab	0.497	± 0.0138	a	0.436	± 0.0119	b

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 10. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la actividad enzimática de la SDH, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
SDH (D.O.)	IIB	0.571	± 0.0058	ab	0.552	± 0.0088	a	0.601	± 0.0128	b
SDH (D.O.)	IIA	0.599	± 0.0094	a	0.538	± 0.0087	b	0.589	± 0.0135	a
SDH (D.O.)	I	0.555	± 0.0102	a	0.596	± 0.0099	a	0.576	± 0.0134	a

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 11. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la digestión del glucógeno, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
α PAS (D. O.)	IIB	0.326	± 0.0025	a	0.335	± 0.0049	a	0.32	± 0.0055	a
α PAS (D. O.)	IIA	0.337	± 0.0036	ab	0.349	± 0.0037	a	0.324	± 0.0058	b
α PAS (D. O.)	I	0.333	± 0.00436	ab	0.353	± 0.0063	a	0.321	± 0.00684	b

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 12. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la cantidad de glucógeno almacenado por las fibras musculares, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
PAS (D. O.)	IIB	0.321	± 0.0055	a	0.282	± 0.0058	b	0.231	± 0.0046	c
PAS (D. O.)	IIA	0.314	± 0.0055	a	0.224	± 0.0083	b	0.253	± 0.0049	c
PAS (D. O.)	I	0.266	± 0.0084	a	0.268	± 0.009	a	0.257	± 0.0053	a

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 13. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la proporción del tipo de fibras, en el músculo *longissimus dorsi*, del segundo muestreo.

Característica	Fibra	Testigo 2	Ractopamina 2	Zilpaterol 2
% de Fibras	IIB	46.20 a	36.28 b	39.15 b
% de Fibras	IIA	33.19 ab	35.84 b	29.57 a
% de Fibras	I	20.61 a	27.88 b	31.28 b

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 14. Características contráctiles, metabólicas y morfológicas, en el fenotipo fibrilar del músculo *semitendinoso*, de bovinos productores de carne del grupo testigo del primer y segundo muestreo.

Tipo de fibra Tinción/característica	I		IIA		IIB	
	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo
Proporción (%)	37.34	16.85 *	30.66	26.16	32.00	56.98 *
Nucleos (#/10 ³ /μm ²)	5.02 ± 0.305	6.27 ± 0.270 *	5.16 ± 0.472	6.16 ± 0.242	4.16 ± 0.288	5.56 ± 0.178 *
Capilares (#/10 ³ /μm ²)	4.78 ± 0.264	5.63 ± 0.227 *	4.56 ± 0.261	4.95 ± 0.223	4.75 ± 0.374	5.11 ± 0.144
Área transversal (μm ²)	1038.19 ± 110.46	2442.68 ± 154.38 *	1121.82 ± 127.01	2897.74 ± 138.71 *	1370.83 ± 190.99	3555.29 ± 100.12 *
mATPasa (D.O)	0.69 ± 0.0061	0.254 ± 0.0068 *	0.171 ± 0.0045	0.425 ± 0.0131 *	0.281 ± 0.0092	0.709 ± 0.0146 *
αGPDH (D.O)	0.656 ± 0.0119	0.525 ± 0.0115 *	0.64 ± 0.0147	0.525 ± 0.0086 *	0.659 ± 0.0117	0.572 ± 0.0066 *
SDH (D.O)	0.643 ± 0.0079	0.539 ± 0.0117 *	0.637 ± 0.0109	0.572 ± 0.0105 *	0.665 ± 0.0063	0.477 ± 0.0074 *
αPAS (D.O)	0.371 ± 0.0064	0.357 ± 0.0059	0.358 ± 0.0065	0.316 ± 0.0041 *	0.342 ± 0.0033	0.307 ± 0.0035 *
PAS (D.O)	0.4 ± 0.0077	0.319 ± 0.0119 *	0.386 ± 0.0074	0.285 ± 0.0078 *	0.377 ± 0.0048	0.285 ± 0.0068 *

Valores del segundo muestreo con asterisco, presenta diferencia significativa (P<0.05). n= 450 fibras por tratamiento
(D.O) Densidad óptica, a mayor valor, mayor actividad de la enzima o presencia del sustrato.

Cuadro 15. Efectos de la administración de ractopamina, en el fenotipo fibrilar del músculo *semitendinoso* de bovinos productores de carne

Tipo de fibra Tinción/característica	I		IIA		IIB	
	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo
Proporción (%)	32.72	17.36 *	39.09	29.06 *	28.18	53.58 *
Nucleos (#/10 ³ /μm ²)	5.05 ± 0.349	5.16 ± 0.271	5.27 ± 0.334	5.06 ± 0.201	4.35 ± 0.329	4.91 ± 0.145
Capilares (#/10 ³ /μm ²)	3.8 ± 0.224	4.89 ± 0.283 *	4.39 ± 0.185	5.02 ± 0.159 *	4.64 ± 0.319	5.29 ± 0.136
Área transversal (μm ²)	1182.3 ± 92.14	1364.46 ± 81.913	1267.75 ± 141.22	1523.46 ± 68.34	1478.02 ± 112.02	1705.5 ± 49.31
mATPasa (D.O)	0.202 ± 0.0106	0.193 ± 0.0107	0.365 ± 0.012	0.414 ± 0.0074 *	0.553 ± 0.014	0.598 ± 0.0066 *
αGPDH (D.O)	0.727 ± 0.0136	0.49 ± 0.0122 *	0.738 ± 0.0135	0.589 ± 0.0092 *	0.744 ± 0.0076	0.614 ± 0.006 *
SDH (D.O)	0.744 ± 0.0140	0.621 ± 0.0110 *	0.787 ± 0.0134	0.533 ± 0.0116 *	0.702 ± 0.0083	0.523 ± 0.0086 *
αPAS (D.O)	0.499 ± 0.0258	0.344 ± 0.008 *	0.489 ± 0.0163	0.328 ± 0.0049 *	0.389 ± 0.0075	0.324 ± 0.0027 *
PAS (D.O)	0.46 ± 0.03	0.263 ± 0.0111 *	0.557 ± 0.0316	0.246 ± 0.0083 *	0.352 ± 0.0066	0.248 ± 0.0065 *

Valores del segundo muestreo con asterisco, presenta diferencia significativa (P<0.05). n= 450 fibras por tratamiento
(D.O) Densidad optica, a mayor valor, mayor actividad de la enzima o presencia del sustrato.

Cuadro 16. Efectos de la administración de zilpaterol, en el fenotipo fibrilar del músculo *semitendinoso* de bovinos de carne.

Tipo de fibra Tinción/característica	I		IIA		IIB	
	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo	1er. Muestreo	2o. Muestreo
Proporción (%)	24.82	18.65 *	51.03	34.62 *	24.13	46.73 *
Nucleos (#/10 ³ /μm ²)	4.5 ± 0.301	4.11 ± 0.206	3.69 ± 0.168	4.16 ± 0.158 *	5 ± 0.349	4.04 ± 0.122 *
Capilares (#/10 ³ /μm ²)	4.61 ± 0.187	4.34 ± 0.173	4.45 ± 0.129	4.11 ± 0.133	5.2 ± 0.217	4.16 ± 0.121 *
Área transversal (μm ²)	1820.41 ± 210.64	1866.23 ± 109.25	1804.33 ± 102.82	2756.54 ± 128.96 *	3411.03 ± 349.5	2520.62 ± 88.054 *
mATPasa (D.O)	0.26 ± 0.0147	0.283 ± 0.0147	0.464 ± 0.0117	0.456 ± 0.0105	0.646 ± 0.0187	0.587 ± 0.011 *
αGPDH (D.O)	0.659 ± 0.0097	0.589 ± 0.0078 *	0.673 ± 0.0073	0.633 ± 0.0062 *	0.658 ± 0.0119	0.587 ± 0.0062 *
SDH (D.O)	0.674 ± 0.0109	0.554 ± 0.0084 *	0.693 ± 0.0072	0.546 ± 0.0064 *	0.669 ± 0.0122	0.537 ± 0.0066 *
αPAS (D.O)	0.403 ± 0.0081	0.309 ± 0.0036 *	0.374 ± 0.0061	0.32 ± 0.0032 *	0.385 ± 0.0096	0.293 ± 0.0028 *
PAS (D.O)	0.456 ± 0.0122	0.23 ± 0.0057 *	0.447 ± 0.0101	0.22 ± 0.0035 *	0.406 ± 0.0103	0.22 ± 0.0032 *

Valores del segundo muestreo con asterisco, presenta diferencia significativa ($P < 0.05$). n= 450 fibras por tratamiento
(D.O) Densidad optica, a mayor valor, mayor actividad de la enzima o presencia del sustrato.

Cuadro 17. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en la densidad de núcleos ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$), en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento							
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2	
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar
Nucleo ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	IIB	5.56 \pm 0.178	a	4.91 \pm 0.145	b	4.04 \pm 0.122	c
Nucleo ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	IIA	6.16 \pm 0.242	a	5.06 \pm 0.201	b	4.16 \pm 0.158	c
Nucleo ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	I	6.27 \pm 0.270	a	5.16 \pm 0.271	b	4.11 \pm 0.206	c

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 18. Efecto de la administración de ractopamina y zilpaterol en la densidad capilar ($\times 10^3/\mu\text{m}^2$), en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento							
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2	
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar
Capilares ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	IIB	5.11 \pm 0.144	a	5.29 \pm 0.136	a	4.16 \pm 0.121	b
Capilares ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	IIA	4.95 \pm 0.223	a	5.02 \pm 0.159	a	4.11 \pm 0.133	b
Capilares ($\#/10^3/\mu\text{m}^2$)	I	5.63 \pm 0.227	a	4.89 \pm 0.283	ab	4.34 \pm 0.173	b

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 19. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en el área transversal de las fibras musculares (μm^2), en el músculo *semitendinoso* del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento							
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2	
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar
Área Transversal (μm^2)	IIB	3555.29 \pm 100.12	a	1705.5 \pm 49.31	b	2520.62 \pm 88.054	c
Área Transversal (μm^2)	IIA	2897.74 \pm 138.71	a	1523.46 \pm 68.34	b	2756.54 \pm 128.96	a
Área Transversal (μm^2)	I	2442.68 \pm 154.38	a	1364.46 \pm 81.913	b	1866.23 \pm 109.25	c

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 20. Efecto de la aplicación de ractopamina y zilpaterol en la actividad de la ATPasa, en el músculo *semitendinoso* del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento							
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2	
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar
M ATPasa (D.O)	IIB	0.709 \pm 0.0146	a	0.598 \pm 0.0066	b	0.587 \pm 0.011	b
M ATPasa (D.O)	IIA	0.425 \pm 0.0131	ab	0.414 \pm 0.0074	a	0.456 \pm 0.0105	b
M ATPasa (D.O)	I	0.254 \pm 0.0068	a	0.193 \pm 0.0107	b	0.283 \pm 0.0147	a

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 21. Efecto de la administración de ractopamina y zilpaterol en la actividad de la enzima α GPD, en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
GPDH (D.O.)	IIB	0.572	± 0.0066	a	0.614	± 0.006	b	0.587	± 0.0062	a
GPDH (D.O.)	IIA	0.525	± 0.0086	a	0.589	± 0.0092	b	0.633	± 0.0062	c
GPDH (D.O.)	I	0.525	± 0.0115	a	0.49	± 0.0122	a	0.589	± 0.0078	b

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 22. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la actividad enzimática de la SDH, en el músculo *semitendinoso* del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
SDH (D.O.)	IIB	0.477	± 0.0074	a	0.523	± 0.0086	b	0.537	± 0.0066	b
SDH (D.O.)	IIA	0.572	± 0.0105	a	0.533	± 0.0116	b	0.546	± 0.0064	ab
SDH (D.O.)	I	0.539	± 0.0117	a	0.621	± 0.0110	b	0.554	± 0.0084	a

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 23. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la digestión del glucógeno, en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
α PAS (D. O.)	IIB	0.307	± 0.0035	a	0.324	± 0.0027	b	0.293	± 0.0028	c
α PAS (D. O.)	IIA	0.316	± 0.0041	a	0.328	± 0.0049	a	0.32	± 0.0032	a
α PAS (D. O.)	I	0.357	± 0.0059	a	0.344	± 0.008	a	0.309	± 0.0036	b

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 24. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la cantidad de glucógeno almacenado por las fibras musculares, en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

n=450/Tratamiento										
Característica	Fibra	Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2				
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar			
PAS (D. O.)	IIB	0.285	± 0.0068	a	0.248	± 0.0065	b	0.22	± 0.0032	c
PAS (D. O.)	IIA	0.285	± 0.0078	a	0.246	± 0.0083	b	0.22	± 0.0035	c
PAS (D. O.)	I	0.319	± 0.0119	a	0.263	± 0.0111	b	0.23	± 0.0057	c

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 25. Efecto de la administración de zilpaterol y ractopamina, en la proporción del tipo de fibras, en el músculo *semitendinoso*, del segundo muestreo.

		Testigo 2		Ractopamina 2		Zilpaterol 2	
% de Fibras	IIB	56.98	a	53.58	a	46.73	b
% de Fibras	IIA	26.16	a	29.06	a	34.62	b
% de Fibras	I	16.85	a	17.36	a	18.65	a

A letras diferentes entre columnas, presentan diferencia significativa ($P < 0.05$).

11. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.

1. Aalhus, JI., Schaefer AL., Murray AC., Jones DM. The effect of ractopamina on myofibre distribution and morphology and their relation to meat quality in swine. *Meat Sci.* 31: 397-409. 1992.
2. Abney CS. Effects of Optaflexx (ractopamine hydrochloride) on performance, rate and variation of intake, and acid-base balance in feedlot cattle. Tesis de Doctorado. Texas Tech University. 2006.
3. Adeola O, McBride BW, Young LG. Metabolic responses induced by isoproterenol in ractopamine-fed pigs. *J Nutr* 1992;122:1280-1286.
4. Agüera EI, A Muñoz, FM Castejón, B Essén-Gustavsson. Skeletal muscle fibre characteristics in young and old bulls and metabolic response after a bullfight. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 48, 313-319. 2001.
5. Alexander SPH, Mathie A, Peters JA. Guide to Receptors and Channels (GRAC), 2nd edition (2007 revision). *Br J Pharmacol* 150 (Suppl. 1): S1–S168, 2007.
6. Allen, R.E. and Rankin, L.L. Regulation of satellite cells during skeletal muscle growth and development. *P.S.E.B.M.* 94:81. 1990.
7. Andersen P, Henriksson J. Capillary supply of the quadriceps muscle of man: adaptive response to exercise. *J Physiol* 270: 677-690, 1977.
8. Anvedaño-Reyes L, Torres-Rodríguez V, Meraza-Murillo FJ, Pérez-Linares C, Figueroa-Saavedra F, Robinson PH. Effect of two β -adrenergic agonists on finishing performance, carcass characteristics, and meat quality of feedlot steers. *J Anim Sci* 84: 3259-3265, 2006.
9. Barany. MJ. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle fibre types in domestic animals. 1967. *J. Anim. Sci.* 34 (1), 37-41.
10. Beermann, D. H., Champion D.R., Dalrymple R.H. Mechanisms responsible for partitioning tissue growth in meat animals. *Proc. Recip. Meat Conf.* 38:105. 1985.
11. Beermann, D. H., Butler W. R., Hogue D. E., Fishell V. K., Dalrymple R. H., Ricks C. A., Scanes C. G. Cimaterolinduced muscle hypertrophy and altered endocrine status in lambs. *J. Anim. Sci.* 65:1514. 1987.
12. Beermann, DH., Beta-adrenergic receptor agonist modulation of skeletal muscle growth. *J. Anim Sci.* 80(E. Suppl. 1) E18-E23. 2001

-
13. Bergen, W. G., Johnson S. E., Skjaerlund D. M., Babiker A. S., Ames N. K., Merkel R. A., Anderson D. B. Muscle protein metabolism in finishing pigs fed ractopamine. *J. Anim. Sci.* 67:2255-2262. 1989.
 14. Blanco CE, Sieck GC, Edgerton VR. Quantitative histochemistry determination of succinic dehydrogenase activity in skeletal muscle fibers. *Histochem J* 24: 431-444, 1988.
 15. Bohorov, O.; Buttery, P.J.; Correia, J.H.R.D.; Soar, J.B. The effect of the β -2-adrenergic agonist clenbuterol or implantation with oestradiol plus trenbolone acetate on protein metabolism in wether lambs. *Br. J. Nutr.* Vol. 57:99-107. 1987.
 16. Brandstetter AM, Picard B., Geay Y. Muscle fibre characteristics in four muscles of growing bulls I. Postnatal differentiation. *Livestock Prod Sci.* 53 (1998) 15-23.
 17. Brandstetter AM, Picard B, Geay I. Regional variations of muscle fibre characteristics in m. semitendinosus of growing cattle. *J Muscle Res Cell Motil* 18: 57-62, 1997.
 18. Bridge, KY., Smith II CK., and Young RB.. β -Adrenergic receptor gene expression in bovine skeletal muscle cells in culture. *J. Anim. Sci.* 1998. 76:2382–2391.
 19. Brooke MH, Kaiser KK. Muscle fibre types: how many and what kind? *Arch Neurol* 23: 369-379, 1970.
 20. Byrem TM, Beermann DH, Robinson TF. The beta-agonist cimaterol directly enhances chronic protein accretion in skeletal muscle. *J Anim Sci* 76: 988-998, 1998.
 21. Castellanos-Ruelas AF, Rosado-Rubio JG, Chel-Guerrero LA, Betancur-Ancona DA. Empleo del zilpaterol en novillos con alimentación intensiva en Yucatán, México. *Arch Latinoam Prod Anim* 14: 56-59, 2006.
 22. Cornforth, D. P., Hecker A. L., Cramer D. A., Spindler A. A., Mathias M. M.. Maturity and its relationship to muscle characteristics of cattle. *J. Anim. Sci.* 50:75–80. 1980.
 23. Dalidowicz JE, Thomson TD, Babbitt GE, Hutson DH. Ractopamine hydrochloride, a phenethanolamine repartitioning agent: metabolism and tissue residues. *Xenobiotics Food Producing Ann*;503:234-243. 1992
 24. Delp, MD. Duan C., composition and size of type I, IIA, IID/X and IIB Fibres and citrate synthetase activity of rat muscle. 1996. *J. Appl. Physiol.* 80 (1), 261-270.
 25. Dubois D.C., Almon R.R. Glucocorticoid sites in skeletal muscle: Adrenalectomy, maturation, fiber types and sex. *Am J Physiol.* 247:E118. 1984.
-

-
26. Dumelow N.W., Dawson J.M., Sweet E.T., Withers R.M., Parrinder R., Essex C.P., Soar J.B., Buttery P.J. Muscle β -receptor and glucocorticoid receptor characteristics in cattle and sheep, and the influence of the β -agonist, cimaterol. In: Eggum B.O., Boisen S., Borsting C., Danfear A., Hvelplund T. Protein Metabolism and Nutrition . Vol 2. pp 198. Natl. Inst. Of Anim. Sci, Denmark. 1991
 27. Dunshea FR., King RH., Campbell RG. Interrelationship between dietary protein and ractopamine on protein and lipid deposition in finishing gilts. *J. anim.Sci.* 71:2931-2941. 1993a
 28. Eisemann JH, Bristol DG. Change in insulin sensitivity or responsiveness is not a major component of the mechanism of action of ractopamine in beef steers. *J Nutr* 128: 505-511, 1998.
 29. Eisemann, J. H., Huntington G.B., Ferrell C.L. Effects of dietary clenbuterol on metabolism of the hindquarters in steers. *J. Anim. Sci.* 66:342. 1988.
 30. Eisemann, J. H., G. B. Huntington, and C. L. Ferrell. 1988. Effects of dietary clenbuterol on metabolism of the hindquarters in steers. *J. Anim. Sci.* 66:342.
 31. Emery PW, Rothwell NJ, Stock MJ, Winter PD. Chronic effects of β_2 -adrenergic agonists on body composition and protein synthesis in the rat. *Biosci Rep* 4: 83-91, 1984.
 32. Escalante R., H. Catalán y L. Galindo (2005), "Evolución del producto de sector agropecuario mexicano, 1960-2002: algunas regularidades empíricas", *Cuadernos Desarrollo Rural*, núm. 54, pp. 87-112.
 33. Escalante R., H. Catalán, L. Galindo y Orlando Reyes (2007), "Desagrarización en México: tendencias actuales y retos hacia el futuro", Documento de trabajo, México.
 34. Essen-Gustavsson B. Skeletal Muscle Characteristics in Different Breeds of pigs in Relation to Sensory Properties of Meat. *Meat Science*, 13:37:47. 1985.
 35. Essen-Gustavsson B., Karlström K., Lundström K. Muscle fibre characteristics and metabolic response at slaughter in pigs of different halothane genotypes and their relation to meat quality. *Meat Science*, 31 : 1-11. 1992.
 36. Ferguson, S. Evolving concepts in G protein coupled receptor endocytosis: the role in receptor desensitization and signaling, *Pharmacological reviews.* 53. 2001.
 37. Fernandez X., L. Lefaucheur L, Čandek M. Comparative study of two classifications of muscle fibres: Consequences for the photometric determination of glycogen according to fibre type in red and white muscle of the pig *Meat Science*, 41:225-235. 1995.
-

-
38. Fiems L.O., Batjoens P., Uytterhaegen L., Moermans R.J., Van Hoff J., Boucque Ch. V. The effects of cimaterol on myofiber and metabolic aspects in different strains of Belgian White- Blue bulls. In: Proc. 39th Int. Congr. On Meat Sci and Tech. p 23 (abstr)
 39. Fritsche, S., Solomon M. B., Paroczay E. W., Rumsey T. S. Effects of growth-promoting implants on morphology of Longissimus and Semitendinosus muscles in finishing steers. *Meat Sci.* 56:229–237. 2000.
 40. Goldspink, G., Scutt, A., Loughna, P.T., Wells D.J., Jaenicke, T., Gerlach F. Gene expression in skeletal muscle in response to stretch and force generation. *Am. J. Physiol.* 262, R356-R363.
 41. Gonzalez J.M., Carter J.N., Johnson D.D., Ouellette S.E., Johnson S.E. Effect of ractopamina-hydrochloride and trenbolone acetate on longissimus muscle fiber area, diameter, and satellite cell numbers in cull beef cows. *J Anim Sci.* 85:1893-1901. 2007.
 42. Greife, HA., Klotz G., and Berschauer F. Effects of the phenethanolamine clenbuterol on protein and lipid metabolism in growing rats. *J. Appl. Physiol.* 1989. 61:19–27.
 43. Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, and Vesterby A. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1988; 96(5):379-394.
 44. Gunning, P., Hardeman, E. Multiple mechanisms regulate muscle fiber diversity. *Faseb Journal*, 5, 3064–3070. 1991.
 45. Guth L, Samaha FJ. Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. *Exp Neurol* 25: 138-152.
 46. Hämmäläinen N., Pette D. Patterns of myosin isoforms in mammalian skeletal muscle fibres. *Microsc Res and Tech* 30: 381-389. 1995.
 47. Hanrahan LP. Beta agonists and their effects on animal growth and carcass quality. *Am Chem Soc* 1992;503: 234-243.
 48. Hansen JA, Yen JT, Klindt J, Nelssen JL, Goodband RD. Effects of somatotropin and salbutamol in three genotypes of finishing barrows: blood hormones and metabolites and muscle characteristics. *J Anim Sci* 1997;75:1810-1821.
 49. Higgins JA, Lasslett YV, Bardsley RG, BATTERY PJ. The relation between dietary restriction or clenbuterol treatment on muscle growth and calpain proteinase (EC 3.4.22.17) and calpastatin activities in lambs. *Br J Nutr* 1988;60:645-652.

-
50. Hintz C.S; Coyl E.F; Kayser K.K; Chi M.H; y Lowry O.H. Comparison of muscle fiber typing by quantitative enzyme assays and by myosin ATPase staining. *J. Histochem. Cytochem.* 32, 655-666. 1984.
 51. Holloszy JO., Coyle EF. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J. Appl Physiol* 56:831-838. 1984.
 52. Hunt, M. C., Hedrick H. B. Profile of fiber types and related properties of five bovine muscles. *J. Food Sci.* 42:513–517. 1977.
 53. Johnson, B J. β -adrenergic agonists: Efficacy and potential mode of action in cattle. Pages 51–61 in *Proc. 2004 Plains Nutr. Council. Spring Conf. Pub. no. AREC 04-14. Texas A&M Res. Extension Cent., Amarillo.* 2004.
 54. Johnston, D. M., Moody W. G., Boling J. A., Bradley N. W. Influence of breed type, sex, feeding systems, and muscle bundle size on bovine fiber type characteristics. *J. Food Sci.* 46:1760–1765. 1981.
 55. Johnston, D. M., Stewart D. F, Moody W. G., Boling J., Kemp J. D. Effect of breed and time on feed on the size and distribution of beef muscle fiber types. *J. Anim. Sci.* 40:613– 620. 1975.
 56. Jurie C., Picard B., Geay Y. Changes in the metabolic and contractile characteristics of muscle in male cattle between 10 and 16 months of age. *Histochemical Journal* 31: 117-122, 1999.
 57. Jurie C, Robelin J, Picard B, Renand G, GeayY Postnatal changes in the biological characteristics of *Semitendinosus* muscle in male Limousin cattle. *Meat Sc* 41: 125–135. 1995.
 58. Killeffer J, Koochmaraie M. Bovine skeletal muscle calpastatin: cloning, sequence, analysis, and steady-state mRNA expression. *J Anim Sci* 72: 606-614, 1994.
 59. Kim YS., Lee YB., Dalrymple RH. Effect of the Repartitioning Agent Cimaterol on Growth, Carcass and Skeletal Muscle Characteristics in Lambs. *J Anim Sci* 1987. 65:1392-1399
 60. Kirchofer K.S., Calkins C.R., Gwartney B.L., Fiber-type composition of muscle of the beef chuck and round. *Anim Sci.* 80: 2872-2878. 2002.
 61. Koochmaraie, M. Biochemcial factors regulating the toughening and tenderisation process of meat. *Meat Sci.* 43:193–201. 1996.
 62. Lefaucheur L, D Gerrard. Muscle fiber plasticity in farm mammals. *Proceedings of the American Society of Animal Science.* Denver, Colorado, USA, Pp 1-19. 1998.
-

-
63. Lefaucheur L, Ecolan P, Plantard L, Gueguen N. New insights into muscle fiber types in the pig. *J Histochem Cytochem* 50:719- 730. 2002.
64. Lefaucheur L., le Peuch C., Barenton B., Vigneron P. Characterization of insulin binding to slices of slow and fast twitch skeletal muscles in the rabbit. *Horm. Metab. Res.* 18:725. 1986.
65. Li, J. B., Jefferson L.S. Effect of isoproterenol on amino acid levels and protein turnover in skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 232(2):E243. 1977.
66. Liu, C. Y., Grant A. L., Kim K. H., Ji S. Q., Hancock D. L., Anderson D. B., Mills S. E. Limitations of ractopamine to affect adipose tissue metabolism in swine. *J. Anim. Sci.* 72:62-67. 1994.
67. Loe, E.R., J.S. Drouillard, T.J. Klopfenstein, G.E. Erickson, and E. Dicke. Effects of Optaflexx™ on finishing steer performance and USDA quality and yield grades. Report of progress. *Agric. Exp. Stat. and Coop. Ext. Serv. Kansas State University*, p7-14. 2005.
68. López Rivero J. Patrones morfométricos e histoquímicos de la población fibrilar del músculo glúteo medio del caballo en razas de diferentes aptitudes. Tesis de Doctorado. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba España. 1988.
69. Maltin CA., Delday MI., Hay SM., Innes GM., William P.V.E. Effects of bovine pituitary growth hormone alone or in combination with the β -agonist clenbuterol on muscle growth and composition in veal calves. *Br. Nutr.* 63:535. 1990.
70. Manabe, N., Ishii T., Ishibashi T.. Histochemical fiber type composition and fiber size in skeletal muscles of the growing cattle, sheep and swine. *Mem. Coll. Agric., Kyoto Univ.* 1988. 131:27–36.
71. Martin, WH, Murphree SS., Saffitz JE. Beta-adrenergic receptor distribution among muscle fiber types and resistance arterioles of white, red and intermediate skeletal muscle. *Circ. Res.* 64; 1096-1105 1989.
72. McEwan, J. C., Hanrahan J.P., Fitzsimons J.M., Tarrant P.V., Allen P. Effects of the α -agonist cimaterol on growth, carcass composition and blood metabolites in ram lambs of three breeds. In: *An Foras Taluntais, Research Rep.* 1985, Animal Production. p 7. Dublin, Ireland. 1985.
73. Mersmann HJ. Acute changes in blood flow in pigs infused with β -adrenergic agonists. *J Anim Sci* 1989a;67:2913-2920.
74. Mersmann HJ. Acute metabolic effects of adrenergic agents in swine. *Am J Physiol* 1987;252:85-95.
-

-
75. Mersmann HJ. Evidence of classic β_3 -adrenergic receptors in porcine adipocytes. *J Anim Sci* 1996;74:984-992.
 76. Mersmann HJ. Influence of infused β -adrenergic agonists on porcine blood metabolites and catecholamines. *J Anim Sci* 1989b;67:2633-2645.
 77. Mersmann HJ. Overview of the effects of β -adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. *J Anim Sci* 76: 160-172, 1998.
 78. Mersmann HJ. Species variation in mechanisms for modulation of growth by β -adrenergic receptors. *J Nutr* 125 (Suppl. 6): 1777S-1782S, 1995.
 79. Miller MF., Garcia DK, Coleman ME., Ekeren PA., Lunt DK., Wagner KA., Procknor M., Welsh TH., Smith Jr y SB. Adipose tissue, longissimus muscle and anterior pituitary growth and function in clenbuterol-feed heifers. *J Anim. Sci.* 66:12. 1988.
 80. Mills, SE. Implications of feedback regulation of beta-adrenergic signaling. *J. Anim. Sci.* 2002. 80(Suppl. 1):E30–E35.
 81. Moloney AP, Allen P, Joseph RL, Tarrant PV, Convey EM. Carcass and meat quality of finishing Friesian steers fed the β -adrenergic agonist L-644,969. *Meat Sci* 38: 419-432, 1994.
 82. Monin, G., and A. Ouali. Muscle differentiation and meat quality. Pages 89–157 in *Developments in Meat Science*. 5th ed. R. Lawrie, ed. Elsevier Applied Science, London. 1992.
 83. Montes GS. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. *Cell Biology International*. 1996, 20, 15-27.
 84. Moody DE, Hanock DL, Anderson DB. Phenethanolamine repartitioning agents. Pages 65-96 in *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. J.P.F. D’Mello, Ed. Cab Int., Wallingford, Oxon, UK. 2000
 85. National Research Council (NRC). Nutrient Requirements of Beef Cattle. *National Academy of Sciences*. Seventh edition. Washington, D.C., 1996.
 86. Ocampo L, Cortez U, Sumano H, Avila E. Use of low doses of clenbuterol to reduce incidence of ascites syndrome in broilers. *Poultry Sci* 1998;77:1297-1299.
 87. Oksbjerg, N., Henckel P, Rolph T., Erlandsen E. Effects of salbutamol, a β -adrenergic agonist, on muscles of growing pigs fed different levels of dietary protein. 11. Aerobic and glycolytic capacities and glycogen metabolism of the *longissimus dorsi* muscle. *Acta Agric. Scand., Sect. A, Anim. Sci.* 44:20. 1994.

-
88. Oneida E., Fuenmayor M., Zamorano GL., Ysunza F., Gonzalez MN. Efecto del clorhidrato de zilpaterol y la vitamina D3 sobre la calidad de la carne en novillas comerciales. *Revista científica, FCV-LUZ/ vol XII, 6: 725-729, 2002*
 89. Ornelas GJJ. Evaluación del isoproterenol sobre el comportamiento productivo y calidad de la canal de cerdos en finalización (tesis de maestría) México (DF): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1992.
 90. Ouali, A. Meat tenderization: Possible causes and mechanisms. A Review. *J. Muscle Foods 1:129–165. 1990.*
 91. Pampusch, M.S. Johnson BJ., White, ME., Hathaway MR., Dunn JD., Waylan AT., Dayton WR. Time course of changes in growth factor mRNA levels in muscle of steroid implanted and nonimplanted steers. *J Anim. Sci. 81:2733-2740. 2003.*
 92. Pearse AGE. In: Churchill, JA. (ED), *Histochemistry Theoretical and Applied, Vol 2.* London. 1968. Pp. 948-950.
 93. Penny RH, Guise HJ, Rolph TP, Tait JA, Johnston AM, Kempson SA, Gettinby G. Influence of the beta-agonist salbutamol on claw horn lesions and walking soundness in finishing pigs. *Vet Rec 1994;35:374-381.*
 94. Peter JB, Barnard RJ, Edgerton VR, Gillespie CA, Stempel KE. Metabolic profiles of three fibre types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry 11: 2627-2633, 1972.*
 95. Peters AR. β -agonists as repartitioning agents: a review. *Vet Rec 1989;124:417-420.*
 96. Pette D. Metabolic heterogeneity of muscle fibers. *J. Exp. Biol. 115, 179-189. 1985.*
 97. Pette D. *Plasticity of the muscle.* Walter de Gruyter and Co. Berlin .1980.
 98. Pette D., Spamer C. Metabolic properties of muscle fibres. *Fed Proc 45:2910-2914. 1986.*
 99. Picard, B, Gagniere H., Geay, Y., Robelin J. Influence of aging and weaning on the contractile and metabolic characteristics of bovine muscle. *Reprod. Nutr. Dev. 35, 71-84. 1995.*
 100. Picard B, Duris MP, Jurie C. Classification of bovine muscle fibres by different histochemical techniques. *Histochem J 30: 473-479, 1998.*
 101. Preitner F, Muzzin P, Revelli JP, Seydoux J, Galitzky J, Berlan M, y col. Metabolic response to various betaadrenoceptor agonists in beta 3-adrenoceptor

-
- knockout mice: evidence for a new beta-adrenergic receptor in brown adipose tissue. *Br J Pharm* 1998;124:1684-1688.
102. Quiroz-Rothe E, Rivero JLL. Coordinated expression of myosin heavy chains, metabolic enzymes, and morphologic features of porcine skeletal muscle fiber types. *Microsc Res Tech* 65: 43-61, 2004.
103. Rajab P., Fox, J., Riaz S., Tomlinson D., Ball D., Greenhaff PL. Skeletal muscle myosin chain isoforms and energy metabolism after clenbuterol treatment in the rat. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 279: R1076-R1081. 2000.
104. Reichmann H., Pette D. A comparative microphotometric study of succinate dehydrogenase activity levels in type I, IIA and IIB fibers of mammalian and human muscle. *Histochem.* 74,27-41. 1982.
105. Renand G., Picard B., Touraille C., Berge P., Lepetit J. Relationships between muscle characteristics and meat quality traits of young Charolais bulls. *Meat Sci.* 50; 49-60, 2001.
106. Ricke, E. A., Smith D. J., Feil V. J., Larsen G. L., Caton J. S. Effects of Ractopamine HCl stereoisomers on growth, nitrogen retention, and carcass composition in rats. *J. Anim. Sci.* 77:701-707. 1999.
107. Ricks CA, Baker PK, Dalrymple RH. Use of repartitioning agents to improve performance and body composition of meat animals. *Reciprocal Meat*;37:5-11. 1984
108. Romano C, Yang WL, O'Malley KL. Metabotropic glutamate receptor 5 is a disulfide-linked dimer. *J Biol Chem.* 1996, 271:28612-28616
109. Ruffolo RE. Chirality in α and β -adrenoceptor agonists and antagonists. *Tetrahedron* 1991;47:9953-9980.
110. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) 2002. Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-015-ZOO-2002. Especificaciones técnicas para el control del uso de beta-agonistas en los animales. Diario Oficial de la Federación. 01 de marzo del 2002.
111. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación. 22 de agosto del 2001.
112. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995. Sacrificio humanitario
-

-
- de los animales domésticos y silvestres. Diario Oficial de la Federación. 16 de junio del 1996.
113. Salem M, Levesque H, Moon TW, Rexroad CE, Yao JB. Anabolic effects of feeding beta 2-adrenergic agonists on rainbow trout muscle proteases and proteins. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 144: 145-154, 2006.
114. Scheidegger K., O'Connell M., Robbins D.C., Danforth E. Jr., Effect of chronic β -receptor stimulation on sympathetic nervous system activity, energy expenditure, and thyroid hormones. *J. Clin. Endocrinol. And Metab* 58:895. 1984.
115. Schiaffino, S.L., Gorza S., Ausoni S., Bottinelli R., Reggiani, C., Larsson, L., Edstrom, L., Gundersen, K., Lomo, T., Muscle fibre types expressing different myosin heavy chain isoforms. Their functional properties and adaptative capacity. In: Pette, D. (Ed). *The dynamic State of Muscle Fibres*. Walter de Gryter, Berlin, pp, 329.341.1990.
116. Schiaffino, S., Gorza S., Saggin, L., Ausoni, S., Vianello, M., Gundersen, K., Lomo, T. Three myosin heavy chain isoforms in type II skeletal muscle fibres. *J Muscle Res. Cell Motil.* 10, 197-205. 1989
117. Schiavetta, A M., Miller MF., Lunt DK., Davis SK., and Smith SB. Adipose tissue cellularity and muscle growth in young steers fed the β -adrenergic agonist clenbuterol for 50 days and after 78 days of withdrawal. *J. Anim. Sci.* 1990. 68:3614–3623.
118. Seideman SC., Crouse JD., Cross HR., The effect of sex condition and growth implants on bovine muscle fibre characteristics. *Meat Sci*, 17, 79-95. 1986a.
119. Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M Tenderness classification of beef: II. Design and analysis of a system to measure beef longissimus shear force under commercial processing conditions. *J Anim Sci.* Jun;77(6):1474-81. 1999.
120. Sigel P, Pette D. Intracellular localization of glycogenolytic and glycolytic enzymes in white and red rabbit skeletal muscle: a gel film method for coupled enzyme reactions in histochemistry. *J Histochem Cytochem.* 1969, 17(4):225-37.
121. Sillence MN, Mathews ML, Badran TW, Pegg GG. Effects of clenbuterol on growth in underfed cattle. *Austr J Agric Res* 2000;51:401-406.
122. Sillence, MN., and Matthews ML. Classical and atypical binding sites for β -adrenoceptor ligands and activation of adenylyl cyclase in bovine skeletal muscle and adipose tissue membranes. *Br. J. Pharmacol.* 1994. 111:866–872.
123. Smith DJ, Feil VJ, Huwe JK, Paulson GD. Metabolism and disposition of ractopamine hydrochloride by turkey poults. *Drug Metabol Disposit* 1993;21:624-633.
-

-
124. Smith DJ. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of beta-adrenergic agonists in livestock. *J Anim Sci* 1998;76:173-194.
 125. Smith DJ., Paulson GD. Growth characteristics of rats receiving ractopamine hydrochloride and the metabolic disposition of ractopamine hydrochloride after oral or intraperitoneal administration. *J. Anim Sci.* 72:404-414. 1994.
 126. Smith SB, Davis SK, Wilson JJ, Stone RT, Wu FY, Garcia DK, Lunt DK, Schiavetta AM. Bovine fast-twitch myosin light chain 1: cloning and mRNA amount in muscle of cattle treated with clenbuterol. *Am J Physiol* 268 (*Endocrinol Metab* 31): E858-E865, 1995.
 127. Smith SB, Gracia DK, Anderson DB. Elevation of a specific mRNA in longissimus muscle of steers fed ractopamine. *J Anim Sci*;67:3495-3520. 1989a
 128. Smith, CK., Affinity of phenethanolamines for skeletal muscle β -adrenoceptors and influence on receptor downregulation. *J. Anim. Sci.*. 67(Suppl. 1):190. (Abstr.) 1989b
 129. Smith, SB. Effects of B-adrenergic agonists on cellular metabolism. *Proc. Rec. Meat Conf.* 40:65-72.1987.
 130. Solomon MB., West RI., Hentges JF., Growth and muscle development characteristics of pure-bred Angus and Brahman bulls. *Growth* 50, 51-67. 1986
 131. Spamer C., Pette D. Metabolic subpopulation of rabbit skeletal muscle fibers. In *plasticity of muscle*. D. Pette (ed). Walter de Gruyter and Co.Berlin, New York.pp 19-30. 1980 .
 132. Spindler, AA., Mathias, MM., Cramer, DA. Growth changes in bovine muscle fibre types as influenced by breed and sex. *J. Food Sci.* 45, 29-31. 1980.
 133. Sumano H, Ocampo L, Gutiérrez L. Clenbuterol y otros β -agonistas, ¿una opción para la producción pecuario o un riesgo para la salud pública? *Vet Méx* 33: 137-159, 2002.
 134. Superiores, Cuautitlán/Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 1996:56-64.
 135. Suzuki, A., Tamate H., Okada M.The effect of a high plane of nutrition during a given period of growth on size and proportion of skeletal muscle fiber types in the cattle. *Tohuko J. Agric. Res.* 27:20–25. 1976.
 136. Swanek, S.S.; Morgan, J.B.; Owens, F.N.; Gill, D.R.; Strasia, C.A.; Dolezal, H.G.; Ray, F.K. Vitamin D3 Supplementation of beef steers increases longissimus tenderness. *J. Anim. Sci.* Vol. 77: 874-881. 1999.
-

-
137. Tanabe R, Muroya S, Chikuni K. Sequencing of the 2a, 2x and slow isoforms of the bovine myosin heavy chain and the different expression among muscles. *Mamm Genome* 9: 1056-1058, 1998.
 138. Terjung, R.L., Engbretson, B.M. Blood flow to different rat skeletal muscle fiber type sections during isometric contractions in situ. *Med. Sci. Sport Exerc.* 20:124. 1988.
 139. Toniolo L, Maccatrozzo L, Patruno M, Caliaro F, Mascarello F, Reggiani C. Expression of eight distinct MyHC isoforms in bovine striated muscles: evidence for MyHC-2B presence only in extraocular muscles. *J Exp Biol* 208: 4243-4253, 2005.
 140. Tuma H J., Venable PR., Wuthier PR., Henrickson RL. Relationship of fiber diameter to tenderness and meatiness as influenced by bovine age. *J Anim Sci.* 21: 33-36. 1962.
 141. Userpater J, FerderMD, Inserta P, Stella I Y, Ferder LF, Inserta F. Aplicación del análisis de imágenes computarizado en la histopatología renal. *Rev. Nefrol. Diál. y Transpl.* 2003, 23(4): 139-144
 142. Vanbelle M, Teller E. The use of beta-agonists for meat production: considerations, results and reflections [clenbuterol, cimaterol, salbutamol, ractopamine]. *Louvainla-Neuve* 1991;56:37.
 143. Vestergaard M, Henckelt P, Oksbjerg N, Sejrsen K. The effect of cimaterol on muscle fiber characteristics, capillary supply, and metabolic potentials of longissimus and semitendinosus muscles from young Friesian bulls. *J Anim Sci* 72: 2298-2306, 1994a.
 144. Vestergaard M, Sejrsen K, Klastrup S. Growth, composition and eating quality of *longissimus dorsi* from young bulls fed the β -agonist cimaterol at consecutive developmental stages. *Meat Sci.*, 38, 55-66, 1994b.
 145. Vigneron P., Dainat J., Bacou F., Proprietes des fibres musculaires aquelettiques. II. Influences hormonales. *Reprod Nutr Develop.* 29:27-53. 1989.
 146. Virgen OA, Muñiz M.J. Efecto del entrenamiento de velocidad sobre las propiedades contráctiles del músculo esquelético de rata sometido a contracciones excéntricas. *U.Colima. Fac. Med. CUIBiomedicas.* Junio 2002.
 147. Walker DK, Titgemeyer EC, Drouillard JS, Loe ER, Dejenbush BE, Webb AS. Effects of ractopamine and protein source on growth performance and carcass characteristics of feedlot heifers. *J Anim Sci* 84: 2795-2800, 2006.
 148. Warriss PD., Kestin SC., Brown SN. The effect of the beta- adrenergic agonist on carcass and meat quality in sheep. *Anim. Prod.* 48:385. 1989.
-

-
149. Watkins, LE. The effect of various levels of ractopamine hydrochloride on the performance and carcass characteristics of finishing swine. *J. Anim Sci.* 68:3588-3595. 1990.
 150. Webster B., Vigna S.R., Paquette T., Koerker D.J. β -adrenergic modulation of insulin binding in skeletal muscle. *Am. J Physiol.* 250:E198. 1986.
 151. Wegner J., Albrecht E., Fiedler I., Teuscher F., Papstein H J., Ender K., Growth- and breed –related changes of muscle fiber characteristics in cattle. *J. Anim. Sci.*, 1485-1496. 2000.
 152. Wells WA, Rainer RO, Memoli VA. Equipment, standardization, and application of image processing. *Am. J. Clin. Pathol.* 1993, 99: 4856.
 153. Wheeler TL, Koohmaraie M. Effect of the β -agonist L644,969 on muscle protein turnover, endogenous proteinase activities, and meat tenderness in steer. *J. Anim Sci.* 70:3035. 1992.
 154. Williams R.S., Caron., M.G., Daniel K. Skeletal muscle β -adrenergic receptor: variations due to fiber type and training. *Am J. Physiol.* 246: E160 1984.
 155. Winterholler SJ, Parsons GL, Reinhardt CD, Hitchenson JP, Nichols WT, Yates DA, Swingle RS, Jonson BJ. Response to ractopamine-hydrogen chloride is similar in yearling steers across days on feed. *J Anim Sci* 85: 413-419, 2007.
 156. Xiao R.J., Xu Z.R., Chen H.L. Effects of ractopamine at different dietary protein levels on growth performance and carcass characteristics in finishing pigs. *Anim. Feed sci, and Tech.* 79:119-127. 1999.
 157. Yang YT, McElligott MA. Multiple actions of β -adrenergic agonists on skeletal muscle and adipose tissue. *Biochemistry* 1989;261:1-10.
 158. Young OA. The biochemical basis of fibre types in bovine muscle. *Meat Sci*, 11:123-137. 1984.
 159. Zimmerli, U. V., Blum J.W. Acute and longterm metabolic, endocrine, respiratory, cardiac and skeletal muscle activity changes in response to perorally administered (β -adrenoceptor agonists in calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 63:157. 1990.