

Science, 55, 141–147.

Grinari, J. M., D. E. Bauman (1999): Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: Yurawec, M. P., Mossoba, M. M., Kramer, J. K. G., Pariza, M. W., Nelson, G. J. (1999): *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. AOCS Press, Champaign, IL, 1: 180–200.

Gruszecki, T., A. Junkuszew, A. Lipiec, C. Lipecka, A. Szymanowska, K. Patkowski, M. Szymanowski (2006): Composition of fatty acids of muscle tissue of lambs fed feedstuff supplemented with flax seeds. *Arch. Tierz., Dummerstorfer* 49, 181–185.

Hansen, R. P., Z. Czochanska (1976): Fatty acid composition of the subcutaneous and perinephric fats of lambs grazed on pasture in New Zealand. *New Zealand Journal of Science*, 19: 413–419.

Hanson, R. W., F. J. Ballard (1967): The relative significance of acetate and glucose as precursors for lipid synthesis in liver and adipose tissue from ruminants. *Biochemical Journal*, 105, 529.

Harwood, J. L., A. V. H. M. Jones, H. Thomas (1982): Leaf senescence is a non-yellowing mutant of *Festuca pratensis*. III. Total acyl lipids of leaf tissue during senescence. *Planta*, 156, 152–157.

Jenkins, T. C. (1992): Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 76, 3851–3863.

Kepler, C. R., K. P. Hiron, J. J. McNeill, S. B. Tove (1966): Intermediates and products of the bihydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Journal of Biological Chemistry*, 241, 1350–1354.

Kliem, K. E., E. R. Deaville, R. Morgan, D. I. Givens (2006): Do biodiverse pastures have the potential to improve the fatty acid profile of ruminant meat. *Proceedings of the British Grassland Society 8th Research Conference*, Cirencester, 87–88.

Kott, R. W., P. G. Hatfield, J. W. Bergman, C. R. Flynn, H. Wagone, J. A. Boles (2003): Feedlot performance, carcass composition, and muscle and fat CLA concentrations of lambs fed diets supplemented with safflower seeds. *Small Ruminant Research*, 49, 11–17.

Kott, R. W., L. M. M. Surber, A. V. Grove, P. G. Hatfield, J. A. Boles, C. R. Flynn, J. W. Bergman (2010): Feedlot performance, carcass characteristics, and muscle CLA concentration of lambs fed diets supplemented with

safflower seeds and vitamin E. *Sheep and Goat Research Journal*, 25, 16–22.

Kramer, J. K. G., R. W. Parodi, R. G. Jensen, M. M. Mossoba, M. P. Yurawec, R. O. Adlof (1998): Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids*, 33, 835.

Kulier, I. (1990): *Prehrambene tablice*. Dina, Poslovna zajednica za dijetetsku i biološku hranu, Zagreb.

Mir, Z., M. L. Rushfeldt, P. S. Mir, L. J. Paterson, and R. J. Weselake (2000): Effect of dietary supplementation with either conjugated linoleic acid (CLA) or linoleic acid rich oil on the CLA content of lamb tissues. *Small Ruminant Research*, 36, 25–31.

Noble, R. C., J. H. Moore, C. G. Harfoot (1974): Observations on the pattern on bihydrogenation of esterified and unesterified linoleic acid in the rumen. *British Journal of Nutrition*, 31, 99–108.

Ponnampalam, E. N., A. J. Sinclair, A. R. Egan, S. J. Blakeley, B. J. Leury (2001): Effect of diets containing n-3 fatty acids on muscle long-chain n-3 fatty acid content in lambs fed low and medium quality roughage diets. *Journal of Animal Science*, 79, 698–706.

Popova, T. (2007): Effect of rearing system on the fatty acid composition and oxidative stability of the *M. longissimus lumborum* and *M. semimembranosus* in lambs. *Small Ruminant Research*, 71, 150–157.

Popova, T., P. Marinova, V. Banskalieva, V. Vasileva (2008): Content and fatty acid composition of different fat depots of lambs receiving fish oil supplemented diet. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 14 (1), 100–107.

Ray, E. E., R. P. Kromann, E. J. Cosma (1975): Relationships between fatty acid composition of lamb fat and dietary ingredients. *Journal of Animal Science*, 41, 1767–1774.

Rhee, K. S. (1992): Fatty acids in meats and meat products. In: C. K. Chow (Ed.), *Fatty acids in foods and their health implications*. New York: Marcel Dekker, 65–93.

Rowe, A., F. A. F. Macedo, J. V. Visentainer, N. E. Souza, M. Matsushita (1999): Muscle composition and fatty acids profile in lambs fattened in drylot or pasture. *Meat Science*, 51, 283–288.

Scerra, M., P. Caparra, F. Fotti, V. Galofaro, M. C. Sinatra, V. Scerra (2007): Influence of ewe feeding systems on the fatty acid com-

position of suckling lambs. *Meat Science*, 76, 390–394.

Solomon, M. B., G. P. Lynch, S. Norton, E. Paroczay (1991): Influence of rapeseed meal, whole rapeseed and soybean meal on fatty acid composition and cholesterol content of muscle and adipose tissue from ram lambs. *Journal of Animal Science*, 69, 4055–4061.

St. John, L. C., C. R. Young, D. A. Knabe, L. D. Thompson, G. T. Schelling, S. M. Grundy, S. B. Smith (1987): Fatty acid profiles and sensory and carcass traits of tissue from steers and swine fed an elevated monounsaturated fat diet. *Journal of Animal Science*, 64, 1441.

Trail, W. B., M. H. P. Arnoult, S. A. Chambers, E. R. Deaville, M. H. Gordon, P. John, P. J. Jones, K. E. Kliem, S. R. Mortimer, J. R. Tiffin (2008): The potential for competitive and healthy food chains of benefit to the countryside. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 248–254.

University of Maryland, Medical Center <http://www.umm.edu/altmed/articles/omega-3-000316.htm>, downloaded 10. 6. 2010.

Valvo, M. A., M. Lamza, M. Bella, V. Fasone, M. Scerra, L. Biondi, A. Priolo (2005): Effect of ewe feeding system (grass vs concentrate) on intramuscular fatty acids of lambs raised exclusively on maternal milk. *Animal Science*, 81, 431–436.

Vatanever, L., E. Kurt, M. Enser, N. D. Scollan, R. I. Richardson, G. R. Nute (2000): Shelf life and eating quality of beef from cattle of breeds given diets differing in n-3 polyunsaturated fatty acid composition. *Animal Science*, 71, 471–482.

Velasco, S., V. Cañeque, S. Lauzurica, C. Pérez, F. Huidobro (2004): Effect of different feeds on meat quality and fatty acid composition of lambs fattened at pasture. *Meat Science*, 66, 457–465.

Velasco, S., V. Cañeque, C. Pérez, S. Lauzurica, M. T. Díaz, F. Huidobro, C. Manzanares, J. González (2001): Fatty acid composition of adipose depots of suckling lambs raised under different production systems. *Meat Science*, 59(3), 325–333.

Wood, J. D., M. Enser (1997): Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *British Journal of Nutrition*, 78 (1), 549–560.

Dostavljeno: 12.10.2011.
Prihvaćeno 15.11.2011.

β-adrenergički agonisti: tvari s anaboličkim učinkom kod životinja za proizvodnju mesa

Pleadin, J., A. Vulić, N. Peršić

pregledni rad

Sažetak

U radu je dan pregled literaturnih podataka o β-adrenergičkim agonistima kao grupi tvari koje imaju anabolički učinak kod životinja. Prikazane su kemijske strukture pojedinih spojeva, navedena su njihova osnovna svojstva, mehanizam djelovanja, fiziološki učinci te štetne posljedice u ljudi i životinja uzrokovane izlaganjem anaboličkim dozama ovih tvari. β-agonisti u organizmu ostvaruju učinak vezujući se na specifične β-adrenergičke receptore smještene na membranama stanica ciljnih tkiva. Njihova primjena u anaboličkoj dozi na životinjama rezultira značajnim povećanjem mišićne mase kao i smanjenjem količine masnog tkiva, boljom iskoristivošću hrane, pojačanim rastom životinja te poboljšanim senzorskim svojstvima proizvedenog mesa. U posljednja dva desetljeća, u nekim zemljama Europske unije, β-agonisti su bili zlouporabljani tijekom tova životinja, s ciljem postizanja značajnijih proizvodnih prinosa u proizvodnji mesa odnosno ostvarivanja većeg ekonomskog profita. Zlouporaba najznačajnijeg predstavnika klenbuterola uzrokovala je štetne posljedice po zdravlje ljudi i životinja. U zemljama Europske unije, kao i u Republici Hrvatskoj, primjena ovih tvari u anaboličke svrhe na životinjama za proizvodnju mesa je zabranjena, a nadzor zlouporabe provodi se putem državnih programa monitoringa rezidua.

Ključne riječi: β-adrenergički agonisti, anabolički učinak, životinje za proizvodnju mesa

Uvod

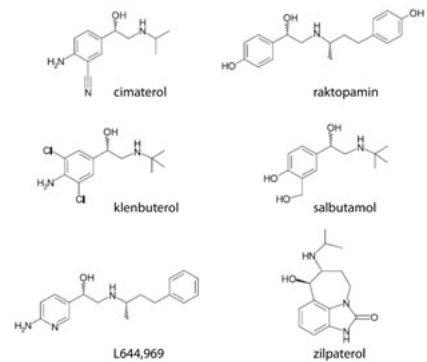
β-adrenergički agonisti (β-agonisti) su kemijske tvari koje se već duže od 30 godina koriste u humanoj i veterinarskoj medicini u liječenju kroničnog bronhitisa, kronične opstruktivne bolesti pluća i astme, te kao tokolitici kod životinja (Anderson i sur., 2005; Barnes, 1999). Ujedno, ove tvari su pospješivači rasta u mnogih vrsta životinja za proizvodnju mesa, a učinak u organizmu ostvaruju vezujući se na specifične β-adrenergičke receptore smještene na membranama stanica ciljnih tkiva (Mersmann, 1989; Mersmann, 1998).

Primjena β-agonista u anaboličkoj dozi na životinjama rezultira značajnim povećanjem mišićne mase kao

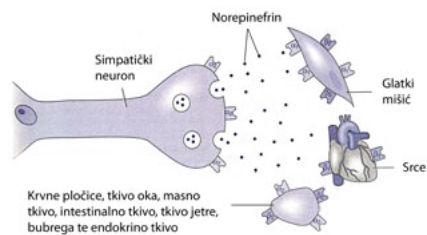
i značajnim smanjenjem količine masnog tkiva, boljom iskoristivošću hrane te pojačanim rastom životinja (Van Der Wal i Berende, 1983; Meyer i Karg, 1989; Meyer, 2001; Anderson i sur., 2005). Primjenom ovih tvari na farmским životinjama dobiva se meso boljih senzoričkih svojstava, s manjim udjelom masnog tkiva odnosno većim udjelom mišićnog tkiva (Bergen i sur., 1987; Crome i sur., 1996; Armstrong i sur., 2004), a koje je stoga prihvatljivije potrošačima. Navedene spoznaje imale su u prošlosti značajne negativne implikacije na ljudsko zdravlje, jer su se ove tvari, iako toksične, zlouporabljale u stočarskoj industriji odnosno bile primjenjivane na životinjama za proizvodnju mesa.

Od 1984. godine do današnjih dana provedena su brojna istraživanja anaboličkog učinka β-agonista kod životinja od visokog ekonomskog interesa, kao što su perad, svinje, ovce i goveda (Meyer i sur., 1995; Ramos i sur., 2000). Grupu β-adrenergičkih agonista čine deseci spojeva, među kojima su u proteklom razdoblju najviše istraživani β-adrenergički agonisti i to klenbuterol kao dugodjelujuća tvar i glavni predstavnik ove skupine tvari. Podaci govore o pojavljivanju na tržištu i brojnih tvari kratkog djelovanja, kao što su salbutamol, raktapamin, cimaterol, zilpaterol, terbutalin, mabuterol i ostali β-agonisti, te postizanju povećanja proteinskog udjela mesa i smanjenja udjela masti i za oko 40%

¹ doc. dr. sc. Jelka Pleadin, dipl. ing., znanstvena savjetnica; dr. sc. Ana Vulić, dipl. ing., znanstvena novakinja; Nina Peršić, dipl. ing., znanstvena novakinja, Laboratorij za analitičku kemiju, Hrvatski veterinarski institut, Savska 143, Z HR-10 000 Zagreb



Slika 1. Struktura pojedinih fenetanolaminskih β-adrenergičkih agonista



Slika 2. Primarna tkiva α-adrenergičkih i β-adrenergičkih receptora (Brenner, 2000)

(Courtheyn i sur., 2002). Međutim, primjena β-agonista na životinjama rezultira akumulacijom ostataka farmakološki aktivnih tvari u tkivima, koji se postupcima toplinske obrade mesa ne mogu inaktivirati ili ukloniti (Rose i sur., 1995). Ukoliko takve proizvode konzumira čovjek, oni mogu uzrokovati alimentarne intoksikacije i ozbiljne posljedice po zdravlje čovjeka. Ilegalna uporaba clenbuterola je dovela do brojnih slučajeva otrovanja ljudi koji su konzumirali

meso tretiranih životinja (Martinez-Navarro, 1990; Pulce i sur., 1991; Woodward, 2005). Stoga je njegova uporaba, kao i uporaba svih tvari iz skupine β-agonista, zabranjena u zemljama Europske unije i u Republici Hrvatskoj.

Mišljenja znanstvenika, te propisane zakonske regulative u pojedinim državama svijeta, značajno se razlikuju u pogledu opravdanosti primjene pojedinih β-agonista (raktopamin, zilpaterol) na životinjama za proizvodnju mesa s ciljem postizanja bolje iskoristivosti hrane i senzorskih svojstava mesa, kao i mogućim štetnim posljedicama koje mogu nastati uslijed primjene ovih tvari.

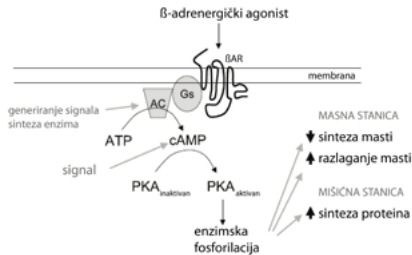
β-adrenergički agonisti su derivati kateholamina, hormona adrenalina i noradrenalina, čiju strukturu karakterizira šesteročlani aromatski prsten, hidroksilna skupina vezana za β-ugljik, pozitivno nabijeni dušik na etilaminskoj strani lanca, te veliki supstituent na alifatskom dušiku koji odgovara specifičnosti pojedinog β-receptora (Smith, 1998). Ovakva struktura zajednička je svim fenetanolaminskim β-adrenergičkim agonistima (Slika 1.), s izuzetkom velikih skupina na alifatskom dušiku, a zajednička je i prirodnim adrenergičkim neurotransmiterima, adrenalinu i noradrenalinu.

Fizikalno-kemijska svojstva

β-agonisti su oralno aktivne tvari koje mogu biti dodane hrani namijenjenoj hranidbi životinja. Među β-adrenergičkim agonistima najznačajnija je skupina β₂-adrenergičkih agonista. Biološka aktivnost β₂-adrenergičkih agonista pripisuje se šesteročlanom aromatskom prstenu, cijano skupinama ili njihovim različitim kombinacijama. Pri tom, kemijske supstitucije (naročito halogeni) vezane na aromatskom prstenu značajno utječu na produljenje poluvremena izlučivanja β₂-adrenergičkih agonista kod sisavaca kao i na njihov afinitet vezivanja na receptore (Smith, 1998).

Komercijano dostupne soli β-agonista su uglavnom netopljive u nepolarnim otapalima kao što su metilen klorid, etil acetat i eter, a topljive su u vodi, metanolu, etanolu i kloroformu (Turberg i sur., 1995).

Standardne tvari su većinom bijele ili lagano žućkaste boje, stabilne u kipućoj vodi (pri 100°C) i ulju (pri 260°C). Istraživanja utjecaja kuhanja, pečenja, prženja i mikrovalne pripreme na npr. ostatke clenbuterola pokazala su da nije bilo značajnih promjena u koncentraciji ostataka ovih tvari, osim pod ekstremnim uvjetima obrade (Chan, 1999). β-agonisti se pojavljuju na tržištu pod različitim trgovačkim nazivima npr. Spiropent/Ventipulmin (klenbuterol), Paylean (raktopamin), Zilpamex (zilpaterol).



Slika 3. Mehanizam pretvaranja signala od β-adrenergičkog receptora (BAR) (Moody i sur., 2000)

receptora različita je u svakom pojedinom tkivu odnosno organu i ovisna je o vrsti životinje, a pojedino tkivo ima primarno zastupljenu jednu podvrstu β-adrenergičkih receptora (Mersmann, 1998; Mersmann, 2002). U svinja su β₁- i β₂-adrenergički receptori prisutni u različitim omjerima u lijevoj klijetci, plućima, jetri, mišićima te potkožnom masnom tkivu, a β₂-adrenergički receptori u lijevoj klijetci, plućima, potkožnom masnom tkivu, ali ne i u mišićima (McNeel i Mersmann, 1999).

β-adrenergički receptori

Postoje dva osnovna tipa adrenergičkih receptora, α- i β-adrenergički receptori. Dijele se nadalje na tri vrste: α₁-adrenergički receptori, α₂-adrenergički receptori i β-adrenergički receptori (Badino i sur., 2005). β-adrenergički receptori sisavaca uključuju tri podvrste receptora (β₁-, β₂- i β₃-adrenergički receptori), koji su prisutni u svim tkivima vezanim za rast, uključujući skeletne mišiće i masno tkivo (McNeel i Mersmann, 1999) (Slika 2.). Novija istraživanja pokazuju moguću prisutnost i β₂-adrenergičkih receptora u nekim djelovima krvotoknog sustava i masnom tkivu (Badino i sur., 2005).

Zastupljenost pojedine podvrste

receptora različita je u svakom pojedinom tkivu odnosno organu i ovisna je o vrsti životinje, a pojedino tkivo ima primarno zastupljenu jednu podvrstu β-adrenergičkih receptora (Mersmann, 1998; Mersmann, 2002). U svinja su β₁- i β₂-adrenergički receptori prisutni u različitim omjerima u lijevoj klijetci, plućima, jetri, mišićima te potkožnom masnom tkivu, a β₂-adrenergički receptori u lijevoj klijetci, plućima, potkožnom masnom tkivu, ali ne i u mišićima (McNeel i Mersmann, 1999).

Mehanizam djelovanja

β₂-adrenergički agonisti, bilo sintetski (klenbuterol) ili prirodni (adrenalin), u organizmu djeluju putem serije biokemijskih reakcija potaknutih vezivanjem ovih tvari za specifične β₂-adrenergičke receptore smještene na membranama stanica u tkivima sisavaca (Boyd i sur., 1996; Beermann, 2002).

Direktnim vezivanjem β-agonista za β-adrenergičke receptore, smještene na membranama stanica, unutar stanice nastaje biokemijski signal te se pokreće čitav niz reakcija (Slika 3.). Pri tom dolazi do aktivacije G_s proteina i aktivacije adenilat ciklaze (AC). Aktivirana adenilat ciklaza katalizira sintezu cikličkog 3,5-adenozin monofosfata (cAMP) iz adeno-

trifosfata (ATP). cAMP je jedna od glavnih unutarstaničnih signalnih molekula, koja uzrokuje razgradnju glikogena i povećanje koncentracije glukoze u plazmi (Anderson i sur., 2005). cAMP stimulira aktivnost proteina kinaze A, vezujući se za njenu regulacijsku podjedinicu, koja zatim fosforilira različite unutarstanične proteine. Neki od tih proteina su enzimi koji se fosforilacijom aktiviraju npr. glikogen fosforilaze ili hormonsosjetljive lipaze, što rezultira povećanom razgradnjom masti odnosno lipolizom (Moody i sur., 2000; Meyer, 2001), dok fosforilacija nekih enzima uzrokuje inaktivaciju npr. glikogen sintetaze.

CREB (cAMP response element binding protein) je protein fosforiliran protein kinazom A. Taj protein se veže za cAMP u regulatornom dijelu gena i stimulira transkripciju gena. Fosforilacija povećava transkripcijsku aktivnost CREB-a osiguravajući mehanizam za β-adrenergički receptor-agonist posredovanom transkripcijom brojnih gena u stanicama sisavaca (Mersmann, 1998). β-agonisti stimulacijom adenilat ciklaze povisuju koncentraciju cAMP i na taj način djeluju lipolitički. Pod utjecajem cAMP-a aktivirana protein kinaza fosforilacijom prevodi triacil glicerol lipazu u aktivan oblik. Produkt reakcije, diacilglicerol, ostale lipaze cijepaju do kraja u glicerol i masne kiseline, koje ulaze u krvotok (Karlsom, 1993).

Fiziološki učinci u životinji

U veterinarskoj medicini β-agonisti imaju značajna uporabu u terapijske svrhe kao bronhodilatatori i tokolitički agensi. Ipak, dugotrajno korištenje β₂-adrenergičkih agonista može uzrokovati desenzitizaciju uzrokovanu smanjenjem broja receptora (Re i sur., 1997; Stoffel i Meyer, 1993; Luthman i Jacobsson, 1993; Badino i sur., 2005). Zbog svog relaksirajućeg djelovanja na mišiće, β₂-adrenergički agonisti se koriste u

humanoj medicini u liječenju kroničnog bronhitisa, kronične opstruktivne bolesti pluća te kao antiastmatici, pošto opuštaju dišne putove, proširuju ih i olakšavaju disanje (Anderson i sur., 2005; Barnes, 1999).

Stimulacija β₂-adrenergičkih receptora djeluje na ubrzan rad srca, lipolizu i sekreciju renina. Aktivacijom β₂-adrenergičkih receptora dolazi do opuštanja glatkih mišića bronhija, maternice, crijeva i stijenke močravnog mjehura te vazodilatacije, glikogenolize u skeletnim mišićima i termogeneze, dok stimulacijom β₁-adrenergičkih receptora dolazi do termogeneze u smedem masnom tkivu i lipolize (Young i Landsberg, 1998).

Oralni tretman β-agonistima u goveda, svinja i ovaca rezultira povećanjem mišićne mase životinje, kroz povećanje sinteze mišićnih proteina i smanjenje njihove razgradnje, kao i njihovom kombinacijom. Nadalje, stimulacijom degradacije triacilglicerola u adipocitima i inhibiranjem njihove sinteze kao i sinteze masnih kiselina, u organizmu se smanjuje količina masnog tkiva (Miller i sur., 1988; Mersmann, 2002; Anderson i sur., 2005) (Slika 4).

Primjena β₂-adrenergičkih agonista, kroz poticanje sinteze proteina (inhibicija proteolize) i pospešivanjem razgradnje masnog tkiva (lipoliza), može rezultirati povećanjem količine proteina i smanjenjem količine masnog tkiva za i više od 40% (Courtheyn i sur., 2002). Rezultati istraživanja tretmana janjadi klenbuterolom pokazali su povećanu sintezu proteina za oko 40% kao i smanjenje ugradnje masti za 30% (MacRae i sur., 1988). Literaturni podaci govore o značajnom povećanju lipolize tijekom tretmana životinja za proizvodnju mesa zbog djelovanja β₂-adrenergičkih agonista (Merkel i sur., 1987). Ujedno, β₂-adrenergički agonisti uzrokuju i hipertrofiju mi-



Slika 4. Učinci β-agonista u mišićnom i masnom tkivu životinja za proizvodnju mesa (Anderson i sur., 2005)

Tablica 1. Parametri koji utječu na anaboličku učinkovitost β-adrenergičkih agonista u životinja za proizvodnju mesa (Moody i sur., 2000)

Parametar	Zahtjev	Istraživani spoj	Istraživana vrsta
Protein unesen hranom	veći odgovor s većim udjelom proteina unesenog hranom	klenbuterol BRL47672 raktopamin	svinje brojleri
Trajanje tretmana	veći odgovor tijekom završne faze tova	cimaterol klenbuterol L644,969 raktopamin	svinje goveda ovce
Doza	diferencijalni utjecaj na rast i udio masnog tkiva	raktopamin	svinje
Starost ili težina	veći odgovor u starijih i težih životinja	cimaterol raktopamin	svinje goveda
Genetika	Značajna i kod masnih i kod mesnatih pasmina	cimaterol raktopamin	svinje

šića, i to uglavnom smanjenjem degradacije proteina, više nego li stimuliranje sinteze, te zadržavanje dušika (Beermann i sur., 1987; Anderson i sur., 1989). Parametri koji utječu na rezultat tretmana životinja za proizvodnju mesa navedeni su u Tablici 1.

Ranija istraživanja pokazuju da anabolički tretman pojedinim β-agonistima utječe na promjene u metaboličkom i endokrinom sustavu, uzrokujući značajne promjene u razinama nekih parametara (Zimmerli i Blum, 1990). Njihovom uporabom javlja se porast u protoku periferne krvi, promjene u arteriovenskim koncentracijama supstrata i utjecaj na otpuštanje inzulina, hor-

mona rasta, tiroidnih hormona i kortikosteroida (Yang i McElligott, 1989; Peters, 1989). Pri tretmanu teladi je uočeno da klenbuterol uzrokuje povećanje koncentracije glukoze, inzulina i slobodnih masnih kiselina (Luthman i Jacobsson, 1993; Meyer, 2001). Anaboličkim subkroničnim tretmanom svinja klenbuterolom ustanovljeno je da se aktivnost specifičnih jetrenih enzima alanin aminotransferaze (ALT) i alkalne fosfataze (ALP), kao pokazatelja poremećaja funkcije jetre, značajno povećava (Gojmerac i sur., 2002).

Toksični učinci
Provedena istraživanja, kao i brojni slučajevi intoksikacija u ljudi, govore da korištenje visoko aktivnih

Tablica 2. Slučajevi trovanja ljudi nakon konzumiranja mesa kontaminiranog klenbuterolom (Pleadin i Perš, 2009)

Zemlja, godina	Broj otrovanih	Izvor kontaminacije	Literatura
Španjolska, 1990.	135	goveđa jetra	Martinez-Navarro, 1990.
Francuska, 1990.	22	teleća jetra	Pulce i sur., 1991.
Španjolska, 1992.	232	teleća jetra	Garay i sur., 1997.
Italija, 1996.	62	goveđe meso	Brambilla i sur., 1997.
Portugal, 1996.	-	teleća jetra	Ramos i sur., 2003.
Kina, 2003.	39	svinjsko meso	Woodward, 2005.

β₂-adrenergičkih agonista kao promotora rasta kod stoke predstavlja potencijalnu opasnost za zdravlje ljudi i životinja (Kuiper i sur., 1998). β-agonist klenbuterol, kao najtoksičnija tvar iz grupe β-agonista, je početkom 1990-ih bio predmet brojnih polemika, kada je njegova ilegalna uporaba povezana sa slučajevima akutnih trovanja u Europi.

Kronični tretman životinja klenbuterolom uzrokuje promjene u metaboličkoj aktivnosti (Zimmerli i Blum, 1990), promjene na respiratornom sustavu (dilatacija traheje), depleciju glikogena (Biolatti i sur., 1994), vakuolarnu degeneraciju prostate, smanjeni razvoj i proliferaciju testisa, te promjene u težini i veličini timusa i tiroidne žlijezde (Groot i sur., 1998). Zabilježene su i degenerativne promjene uretralnog i glandularnog epitela prostate, vakuolizacija epitela i nekroza sa piknozom jetre i fragmentacijom, promjene u lučenju estradiola i progesterona (Illera i sur., 2003a; Illera i sur., 2003b), povećanje broja mitohondrija, glatkog endoplazmatskog retikuluma, Golgijevog aparata i lipidnih kapljica te smanjenje veličine jezgre (Blanco i sur., 2002; Blanco i sur., 2003).

U više europskih zemalja zabilježeni su slučajevi akutnih alimentarnih intoksikacija u ljudi koji su konzumirali meso odnosno jetru kontaminiranu ostacima klenbuterola (Tablica 2). Istraživanja su pokazala da klenbuterol u ljudi uzrokuje ubrzan rad srca, drhtanje, nervozu, opću sla-

bost, vrtoglavicu i glavobolju (Martinez-Navarro, 1990; Paige i sur., 1997; Kuiper i sur., 1998).

Klenbuterol je inicijalno razvijen kao dugodjelujući β₂-adrenergički agonist za tretman bolesti dišnih puteva i ostalih bolesti, a kasnije generacije β-agonista su razvijene sa strukturalnim razlikama koje rezultiraju sa kraćim poluvremenom izlučivanja odnosno kraćim djelovanjem i nižim oralnim potencijalom kod životinja za proizvodnju mesa (Anderson i sur., 2005).

Primjena u terapeutske svrhe i nadzor zlouporabe

Činjenica da tretman β₂-adrenergičkih agonistima kod životinja koje se uzgajaju za proizvodnju mesa rezultira poboljšanjem iskoristivosti hrane, pojačanim rastom životinja te boljom preraspodjelom odnosa mišićnog i masnog tkiva, dovela je do brojnih zlouporaba ovih tvari u stočarskoj proizvodnji (Smith i Paulson 1997; Brambilla i sur., 2000; Dunshea i sur., 2005). Ujedno, s obzirom da toksikološke studije o pojedinim β-agonistima kratkog djelovanja (raktopamin, zilpaterol) nisu dale značajne rezultate o štetnim posljedicama po zdravlje ljudi i životinja, kada su primjenjivani u propisanoj anaboličkoj dozi, njihova uporaba u nekim zemljama je dozvoljena. U anaboličke svrhe može se koristiti zilpaterol kod goveda u Sjevernoj Africi i Meksiku, a uporaba raktopamina je dozvoljena tijekom tova svinja u 21 državi (Mitchell i Dunna-

van, 1998; Anderson i sur., 2005). Za navedene tvari pri tom je propisana najveća dopuštena količina ostataka (NDK) koja smije biti prisutna u određenim životinjskim tkivima (Heitzman, 1993; Qiang i sur., 2007).

Međutim, u Europskoj uniji je još od 1988. godine zabranjena uporaba svih tvari koje imaju hormonski učinak kod životinja za proizvodnju mesa (Council Directive 88/146/EC). U Republici Hrvatskoj uporaba anabolika je također zabranjena, a nakon niza zakonskih akata danas su na snazi Pravilnik o farmakološki djelatnim tvarima i njihovoj klasifikaciji u odnosu na najveće dopuštene količine rezidua u hrani životinjskog podrijetla (Narodne novine 21/2011) te Naredba kojom se zabranjuje primjena na farmakološki djelatnim tvarima određenih tvari hormonskog i tirostatskog učinka i beta-agonista (Narodne novine 82/2010). Klenbuterol se može koristiti isključivo u terapeutske svrhe kod goveda i kopitara u dozi od 10 do 20 µg dva puta dnevno (EMA, 2000), koja je 5-10 puta manja od anaboličke, zbog ostvarivanja bronholitičkog i tokolitičkog djelovanja (Pleadin i sur., 2011). Zbog mogućeg korištenja klenbuterola u terapeutske svrhe, a s ciljem kontrole moguće zlouporabe kao anabolika, u europskom zakonodavstvu je definirana NDK za klenbuterol u jetri goveda i kopitara od 0,5 µg/kg (Smith, 2000).

Ilegalna uporaba ovih farmakološki aktivnih tvari ukazala je na nužnost razvoja specifičnih i selektivnih analitičkih metoda u njihovom određivanju, kao i uspostavu kontrolnih sustava (Van Ginkel i sur., 1993). U cilju nadzora nad uporabom odnosno zlouporabom ovih tvari kod životinja za proizvodnju mesa, analiziraju se na prisutnost β-adrenergičkih agonista uzorci biološkog materijala (urina, jetra, krv, mišić) uzeti tijekom tova životinja i na klaonici. U Republici Hrvatskoj uzorkovanje se provodi

od strane ovlaštenih veterinarskih inspektora u svim županijama, a prema propisanim godišnjim programima monitoringa rezidua Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja Republike Hrvatske.

Literatura

- Anderson, D.B., E.L. Veenhuizen, J.F. Wagner, M.I. Wray, D.H. Mowrey (1989): The effect of ractopamine hydrochloride on nitrogen retention, growth performance, and carcass composition of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 67, 222.
- Anderson, D.B., D.E. Moody, D.L. Hancock (2005): Beta Adrenergic Agonists. U: *Encyclopedia of Animal Science*. W. Pond, A. Bell, Eds., Marcel Dekker, USA.
- Anonimno (2010): Naredba kojom se zabranjuje primjena u farmakološki određeni tvari hormonskog i tireostatskog učinka i beta-agonista (NN 82/2010)
- Anonimno (2011): Pravilnik o farmakološki djelatnim tvarima i njihovoj klasifikaciji u odnosu na najveće dopuštene količine rezidua u hrani životinjskog podrijetla (NN 21/2011)
- Armstrong, T.A., D.J. Ivers, J.R. Wagner, D.B. Anderson, W.C. Weldon, E.P. Berg (2004): The effect of dietary ractopamine concentration and duration of feeding on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 82, 3245-3253.
- Badino, P., R. Odore, G. Re (2005): Are so many adrenergic receptor subtypes really present in domestic animal tissues? A pharmacological perspective. *Vet. J.* 170, 163-174.
- Barnes, P.J. (1999): Effect of β agonists on inflammatory cells. *J. Aller. Clin. Immunol.* 104(2), 510-517.
- Beermann, D.H., W.R. Butler, D.E. Hogue, V.K. Fishell, R.H. Dalrymple, C.A. Ricks, C.G. Scanes (1987): Cimaterol-induced muscle hypertrophy and altered endocrine status in lambs. *J. Anim. Sci.* 65, 1514-1524.
- Bergen, W.G., S.E. Johnson, D.M. Skjaerlund, R.A. Merkel, D.B. Anderson (1987): The effect of ractopamine on skeletal muscle metabolism in pigs. *Fed. Proc.* 46, 1021.
- Biolatti, B., E. Bollo, G. Re, S. Appino, E. Tartari, G. Benatti, C.T. Elliott, W.J. McCaughey (1994): Pathology and residues in veal calves treated experimentally with clenbuterol. *Res. Vet. Sci.* 57, 365-371.
- Blanco, A., F. Flores-Acuna, R. Roldan-Villelobos, G. Monterde (2002): Testicular damage from anabolic treatments with the β₂-adrenergic agonist clenbuterol in pigs: a light and electron microscope study. *Vet. J.* 163, 292-298.
- Blanco, A., E. Artacho-Perula, R. Flores-Acuna, R. Moyano, J.G. Monterde (2003): Quantitative changes in the normal and apoptotic thymocytes of pigs treated with anabolic doses of the β₂ adrenergic agonist clenbuterol. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 96, 111-115.
- Boyd, D., M. O'Keeffe, M.R. Smith (1996): Methods for the determination of β-agonists in biological matrices. *Analyst* 121, 1R-10R.
- Brambilla, G., A. Loizzo, L. Fontana, M. Strozzi, A. Guarino, V. Soprano (1997): Food poisoning following consumption of clenbuterol-treated veal in Italy. *J. Am. Med. Ass.* 278, 635-640.
- Brambilla, G., T. Cenci, F. Franconi, R. Galarini, A. Macri, F. Rondoni, M. Strozzi, A. Loizzo (2000): Clinical and pharmacological profile in a clenbuterol epidemic poisoning of contaminated beef meat in Italy. *Toxicol. Lett.* 114, 47-53.
- Brenner, G.M. (2000): *Pharmacology*. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, 2000.
- Chan, T.Y.K. (1999): Health hazards due to clenbuterol residues in food. *Clin. Toxicol.* 37(4), 517-519.
- Commission of the European Communities (1988) Council Directive 88/146/EEC on the prohibition of the use of certain substances having a hormonal action in animal rearing. *Off. J. Eur. Commun. Legis.* L 70.
- Courtheyn, D., B. Le Blazec, G. Brambilla, H.F. De Brabander, E. Cobbaert, M. Van De Wiele, J. Vercaemmen, K. De Wasch (2002): Recent developments in the use and abuse of growth promoters. *Anal. Chim. Acta.* 473, 71-82.
- Crome, P.K., F.K. McKeith, T.R. Carr, D.J. Jones, D.H. Mowrey, J.E. Cannon (1996): Effect of ractopamine on growth performance, carcass composition, and cutting yields of pigs slaughtered at 107 and 125 kilograms. *J. Anim. Sci.* 74, 709-716.
- Dunshea, F.R., D.N. D'Souza, D.W. Petrick, G.S. Harper, R.D. Warner (2005): Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Sci.* 71, 8-38.
- European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) (2000): *Clenbuterol - summary report*, 1-6.
- Garay, J.B., J.E.H. Jimenez, M.L. Jimenez, M.V. Sebastian, J.P. Matesanz, P.M. Moreno, J.R. Gallana (1997): Clenbuterol poisoning - clinical manifestations and analytical findings in an epidemic outbreak in Mostoles, Madrid. *Rev. Clin. Esp.* 197, 92-95.
- Gojmerac, T., J. Pleadin, M. Žurić, M. Lojkić, S. Čurić (2002): Effects of repeated growth-promoting doses of clenbuterol on the hepatic function of female pigs. *Vet. Hum. Toxicol.* 44, 269-271.
- Groot, M.J., R. Schilt, J.S. Ossenkoppele, P.L.M. Berende, W. Haasnoot (1998): Combinations of growth promoters in veal calves: Consequence for screening and confirmation methods. *J. Vet. Med. A.* 45, 425-440.
- Heitzman, R.J. (1993): Coordination of information on residues of veterinary drugs in the European Community. *Anal. Chim. Acta.* 275, 17-22.
- Illera, J.C., G. Silván, M.M. Martinez, A. Blass, P.L. Lorenzo, M. Illera (2003a): Effect of long-term exposure of growth promoters in Long Evans rats Part 1. Endocrine ovarian function. *Anal. Chim. Acta.* 483, 225-232.
- Illera, J.C., G. Silván, M.M. Martinez, A.J. Conley, J. Corbin, A. Blass, P.L. Lorenzo, M. Illera (2003b): Effect of long-term exposure of growth promoters in Long Evans rats Part 2. Ovarian morphology. *Anal. Chim. Acta.* 483, 233-240.
- Karlsen, P. (1993): *Biokemija*. Školska knjiga, Zagreb, 1993.
- Kuiper, H.A., M.Y. Noordam, M.M.H. Dooren-Flipsen, R. Schilt, A.H. Roos (1998): Illegal use of β-adrenergic agonists: European Community. *J. Anim. Sci.* 76, 195-207.
- Luthman, J., S.O. Jacobsson (1993): Acute metabolic effects of clenbuterol in calves. *Acta Vet. Scand.* 34, 169-174.
- MacRae, J.C., P.A. Skene, A. Connell, V. Buchan, G.E. Lobley (1988): The action of β-agonist clenbuterol on protein and energy metabolism in fattening wether lambs. *Brit. J. Nutr.* 59, 457-465.
- Merkel, R.A., P.S. Dickerson, S.E. Johnson, A.L. Burnett, A.L. Schroeder, W.G. Bergen, D.B. Anderson (1987): The effect of ractopamine on lipid metabolism in pigs. *Fed. Proc.* 46, 1177.
- Martinez-Navarro, J.F. (1990): Food poisoning related to consumption of illicit beta-agonist in liver. *Lancet*. 336, 1311.
- McNeel, R.L., H.J. Mersmann (1999): Distribution and quantification of beta1-, beta2-, and beta3-adrenergic receptor subtype transcripts in porcine tissues. *J. Anim. Sci.* 77, 611-621.
- Mersmann, H.J. (1989): Potential mechanisms for repartitioning of growth by β-adrenergic agonists. U: *Campion D.R., G.J. Hausman, R.J. Martin (ured.) Animal Growth Regulation*. Plenum Press, New York, 337-357.
- Mersmann, H.J. (1998): Overview of the effects of β-adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. *J. Anim. Sci.* 76, 160-172.
- Mersmann, H.J. (2002): Beta-Adrenergic receptor modulation of adipocyte metabolism and growth. *J. Anim. Sci.* 80(E. Suppl. 1), E24-E29.
- Meyer, H.H.D. (2001): Biochemistry and physiology of anabolic hormones used for improvement of meat production. *APMIS* 109, 1-8.
- Meyer, H.H.D., H. Karg (1989): Growth stimulators for farm animals: mode of action, effects on meat quality and potential risks originating from residues. U: *Proceedings of FAO/CAAS Workshop on Biotechnology in Animal Production and Health in Asia and Latin America*, Beijing, 49-58.
- Meyer, H.H.D., B. Stoffel, K. Hagen-Mann (1995): β-Agonists, anabolic steroids and their receptors: New aspects in growth regulation. U: *Ruminant Physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction*, von Engelhardt, W., Leonhard-Marek, S., Breves, G., Giesecke, R. (ured.) *Proceeding of the Eight International Symposium on Ruminant Physiology*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 475-482.
- Miller, M.F., D.K. Garcia, M.E. Coleman, P.A. Ekeren, D.K. Lunt, K.A. Wagner, M. Procknor, Jr.T.H. Welsh, S.B. Smith (1988): Adipose tissue, longissimus muscle and anterior pituitary growth and function in clenbuterol-fed heifers. *J. Anim. Sci.* 66, 12-20.
- Mitchell, G.A., G. Dunnavan (1998): Illegal use of β-agonists in the United States. *J. Anim. Sci.* 76, 208-211.
- Moody, D.E., D.L. Hancock, D.B. Anderson (2000): Phenthanolamine Repartitioning Agents. U: *Farm Animal Metabolism and Nutrition: Critical Reviews*, D'Mello, J.F.F. (ured.), CAB International: Wallingford/Oxon, UK, 65-96.
- Paige, J.C., L. Tollefson, M. Miller (1997): Public health impact on drug residues in animal tissues. *Vet. Human. Toxicol.* 39(3), 162-169.
- Peters, A.R. (1989): β-agonists as repartitioning agents. *A review. Vet. Rec.* 124, 417-420.
- Pleadin, J., N. Peršić (2009): Clenbuterol kao tvar s anaboličkim učinkom - uporaba, zlouporaba i nadzor. *Vet. stanica*, 40, 199-207.
- Pleadin, J., N. Peršić, B. Antolović, B. Šimić, I. Kmetić (2011): Toksikološki aspekti anabolika u hrani životinjskog podrijetla. *Croat. J. Food Sci. Technol.* 3(1), 48-56.
- Pulce, C., D. Lamaison, G. Keck, C. Bostvinnonnois, J. Nicolas, J. Descotes (1991): Collective and human food poisonings by clenbuterol residues in veal liver. *Vet. Human Toxicol.* 33, 480-481.
- Qiang, Z., F. Shentu, B. Wang, J. Wang, J. Chang, J. Shen (2007): Residue depletion of ractopamine and its metabolites in swine tissues, urine, and serum. *J. Agric. Food. Chem.* 55, 4319-4326.
- Ramos, F., P. Gonzáles, A. Oliveira, A.A. Imeida, C. Fente, B. Vázquez, C. Franco, A. Cepeda, M.J.N. Silveira (2000): Optimization of diphasic dialysis procedure for clenbuterol residues extraction in retina and hair of bovines. U: *Proceedings of the Euroresidue IV conference*, Veldhoven, The Netherlands, str. 885-890.
- Ramos, F., A. Cristino, P. Carrola, T. Eloy, J. Manuel Silva, A.C. Castilho, M.J.N. Silveira (2003): Clenbuterol food poisoning diagnosis by gas chromatography-mass spectrometric serum analysis. *Anal. Chim. Acta.* 483, 207-213.
- Re, G., P. Badino, A. Novelli, C. Girardi (1997): Effects of clenbuterol as a repartitioning agent on β-adrenoreceptor concentrations in heart, bronchi and brain of veal calves. *Vet. J.* 153, 63-70.
- Rose, M.D., G. Shearer, W.H.H. Farrington (1995): The effect of cooking on veterinary drug residues in food: clenbuterol. *Food Addit. Contain.* 12, 67-76.
- Smith, D.J. (1998): The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of β-adrenergic agonists in livestock. *J. Anim. Sci.* 76, 173-194.
- Smith, D.J. (2000): Total radioactive residues and clenbuterol residues in swine after dietary administration of [14C]clenbuterol for seven days and preslaughter withdrawal periods of zero, three, or seven days. *J. Anim. Sci.* 78, 2903-2912.
- Smith, D.J., G.D. Paulson (1997): Distribution, elimination, and residues of [14C] clenbuterol HCl in holstein calves. *J. Anim. Sci.* 75, 454-461.
- Stoffel, B., H.H.D. Meyer (1993): Effects of the β-adrenergic agonist clenbuterol in cows: lipid metabolism, milk production, pharmacokinetics, and residues. *J. Anim. Sci.* 71, 1875-1881.
- Turberg, M.P., T.D. Macy, J.J. Lewis, M.R. Coleman (1995): Determination of ractopamine hydrochloride in swine and turkey tissues by liquid chromatography with coulometric detection. *J. AOAC Int.* 78, 1394-1402.
- Van Der Wal, P., P.L.M. Berende (1983): Effects of anabolic agents on food-producing animals. U: *Anabolics in animal production*, Meissonnier, E., J. Mitchell-Vigneron (ured.). Office International des Epizooties, Paris, 73-115.
- Van Ginkel, L.A., R.W. Stephany, H.J. Van Rossum, M. Bos (1993): Residue analysis for β-agonists: Results of an EC cooperative study and future perspectives. U: *Proceedings of the Euroresidue II conference*, Veldhoven, The Netherlands, 308-312.
- Woodward, K.N. (2005): Veterinary pharmacovigilance. Part 2. Veterinary pharmacovigilance in practice - the operation of a spontaneous reporting scheme in a European Union country - the UK and schemes in other countries. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 28, 149-170.
- Yang, Y.T., M.A. McElligott (1989): Multiple actions of β-adrenergic agonists on skeletal muscle and adipose tissue. *Biochem. J.* 261, 1-10.
- Young, J.B., L. Landsberg (1998): Catecholamines and the adrenal medulla. U: *Williams Textbook of Endocrinology*, Wilson, J.D. i sur. (ured.). W.B. Saunders Company, Philadelphia, 665-728.
- Zimmerli, U.V., J.W. Blum (1990): Acute and long term metabolic, endocrine, respiratory, cardiac and skeletal muscle activity changes in response to perorally administered β-adrenoreceptor agonist in calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 63, 157-172.

Dostavljeno: 24.8.2011.
Prihvaćeno: 28.11.2011.