

INFLUÊNCIA DA ESPÉCIE E DO ESTADO FISIOLÓGICO SOBRE OS NÍVEIS ERI
TROCITÁRIOS DA ACETILCOLINESTERASE.

Specie and Physiological State Influence on Erythrocyt Levels
of Acetylcholinesterase.

José Carlos Padilha Pinto*, Romeo Ernesto Riegel**, Jorge Brandão
Linhares* e Carlos Nelson Pacheco Pallaoro***

RESUMO

A acetilcolinesterase (AcCo-esterase) do eritrócito foi medida pelo método potenciométrico de Michel em 78 animais adultos, com preendendo bovinos da Raça Holandesa, ovinos Corriedale e equinos Puro Sangue Inglês. Em cada espécie foram examinadas a variável se x o e os estados de lactação e não lactação. As taxas mais elevadas foram encontradas para bovinos em não lactação ($0,993 \pm 0,086$) e as mais baixas para equinos machos ($0,145 \pm 0,043$). Os ruminantes num mesmo estado fisiológico apresentaram níveis semelhantes. De um mo do geral e em função dos dados obtidos, pode-se afirmar que um sim ples valor eritrocitário da colinesterase não tem significado diag nóstico se não houve esclarecimento quanto a espécie animal, o sexo e o estado fisiológico.

SUMMARY

The erythrocyt acetylcholinesterase (AcCo-esterase) was measured (by the potentiometric method of Michel) in adult animals of the following species: Holstein cows, Corriedale sheeps and thorough bread (English blood) horses. Un each specie studied, variables in cluded sex and or lactating or non-lactating. The highest levels w re encountered in non-lactating bovines ($0,993 \pm 0,086$) and the lo west levels were observed with Stallion horses ($0,145 \pm 0,043$). Rumi nants in the same physiological state, presented similar AcCo-este rase levels.

In a general way, and in vew of the data collected, it is only possible to confirm that a single blood value of Acase does have diagnostic significance, if one do have clearly stated specie, as well as sex and the physiological state of that animal.

* Professores Assistentes do Departamento de Clínicas Médica da Universidade Federal de Pelotas.

** Professor Adjunto do Departamento de Química - UFSM.

*** Professor Assistente do Departamento de Química - UFSM.

INTRODUÇÃO

Já foi evidenciado que a acetilcolina é liberada nas terminações dos nervos parassimpáticos e que atua como transmissor sobre órgão afetor a ser, especificamente, usado e que funciona como agente de propagação do impulso nervoso. Antes que outro impulso seja transmitido, a acetilcolina é hidrolizada por uma enzima do grupo das colinesterases (acetilcolinesterase) (17).

A acetilcolinesterase, participa na gradação e modulação da atividade nervosa e tem como substrato, somente, a acetilcolina (3).

As colinesterases são sinterizadas no fígado e se encontram largamente distribuídas nos tecidos, eritrócitos e corrente circulatória da maioria dos animais (1).

Esta enzima tem merecido grande atenção dos pesquisadores, os quais ressaltam a importância biológica de sua determinação.

Levando-se em conta a origem por tecido tem-se observado variações quantitativas na colinesterase sanguínea durante intoxicações (10), afecções orgânicas (4, 12, 18) e situações fisiológicas diversas (2, 5, 6, 13, 14).

Entretanto, no que diz respeito a atividade a nível eritrocitário sabe-se muito pouco. Trabalhos sob o aspecto toxicológico revelam ser esta a mais sensível, tendo experimentado depressões em grau mais acentuado do que as colinesterases do plasma e cérebro (8).

Notadamente tais situações teriam interesse em clínica veterinária, mas o significado das lesões bioquímicas produzidas por processos capazes de inibir a acetilcolinesterase, só podem ser avaliados quando se conhecem valores fisiológicos da atividade enzimática (11), para cada espécie, raça, sexo e idade (5, 6, 15).

Neste sentido, passou-se a executar o presente estudo, visando determinar os níveis fisiológicos da colinesterase no eritrócito, considerando não apenas a espécie animal, mas os estados de lactação (1), não lactação (5) e sexo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras sanguíneas de 78 animais adultos do município de Santa Maria, Rio Grande do Sul, clinicamente sadios, pertencentes às espécies bovina, ovina e equina. Dentro delas considerou-se os estados de lactação, não lactação e sexo.

Na espécie bovina foram usadas 20 fêmeas da Raça Holandesa, estando 10 em lactação e as demais em não lactação. O grupo ovino foi

cou constituído de 20 fêmeas Corriedale (10 em lactação e 10 em não lactação) e 10 machos Hampshire Down. Os equinos eram da raça Puro Sangue Inglês (PSI) e constaram de 8 machos, 10 fêmeas em lactação e 10 em não lactação.

As amostras sanguíneas, por punção da veia jugular, foram recolhidas em frasco de 10 ml contendo anticoagulante EDTA em solução a 10% e acondicionadas em caixas de estiropor, com gelo, sendo transportadas para o laboratório do Instituto de Química da UFSM e efetuado o doseamento.

As determinações de atividade enzimática foram realizadas pelo método eletrométrico de MICHEL (7), utilizando-se potenciômetro (METRONIC pH) e os resultados expressos em $\Delta\text{pH/h}$.

A avaliação estatística foi procedida mediante emprego do Teste de Duncan (16).

RESULTADOS

Os níveis representativos da atividade média da colinesterase eritrocitária, analisados pelo Teste de Duncan, entre grupos de animais da mesma espécie, são mostrados na Tabela 1. Entre grupos de espécies diferentes na Tabela 2 e entre estados fisiológicos na Tabela 3. Tais níveis, pela análise da variância, são significativos a 5% e altamente significativos a 1%.

Tabela 1. Influência de três estados fisiológicos sobre os níveis eritrocitários da acetilcolinesterase. Unidades médias, \pm desvio padrão, expressas em $\Delta\text{pH/h}$. Letras iguais, na horizontal, estão nas médias não significativas entre si.

CATEGORIA DE ANIMAIS	FÊMEAS		MACHOS
	L	S	
Ovinos (30)	0,213 ^a $\pm 0,024$	0,993 ^c $\pm 0,086$	0,830 ^b $\pm 0,081$
Equinos (28)	0,464 ^b $\pm 0,021$	0,603 ^b $\pm 0,167$	0,145 ^a $\pm 0,003$
Bovinos (20)	0,382 ^a $\pm 0,048$	1,319 ^b $\pm 0,096$	-- --

Tabela 2. Variações de acetilcolinesterase em três espécies domésticas diferentes, sujeitas as mesmas condições fisiológicas. Unidades médias, \pm desvio padrão expressas em Δ pH/h. Letras iguais na vertical estão nas médias não significativas entre si.

CATEGORIA DE ANIMAIS	FÊMEAS		MACHOS
	L	S	
Ovinos (30)	0,213 ^a $\pm 0,024$	0,993 ^b $\pm 0,086$	0,830 ^b $\pm 0,081$
Equinos (28)	0,464 ^b $\pm 0,021$	0,603 ^a $\pm 0,167$	0,145 ^a $\pm 0,003$
Bovinos (30)	0,382 ^b $\pm 0,048$	1,319 ^c $\pm 0,096$	-- --

Tabela 3. Influência da espécie e do estado fisiológico nos valores eritrocitários da acetilcolinesterase. Medidas expressas em pH/h. Para todas as médias, letras iguais não apresentam diferença significativa entre si.

CATEGORIA DE ANIMAIS	FÊMEAS		MACHOS
	L	S	
Ovinos (30)	0,213 ^a $\pm 0,024$	0,993 ^e $\pm 0,086$	0,830 ^d $\pm 0,081$
Equinos (28)	0,464 ^b $\pm 0,021$	0,603 ^c $\pm 0,167$	0,145 ^a $\pm 0,003$
Bovinos (30)	0,382 ^b $\pm 0,048$	1,319 ^f $\pm 0,096$	-- --

DISCUSSÃO

Ao exame da Tabela 1 percebe-se que os estados de lactação, não lactação e o sexo influem significativamente na atividade da colinesterase eritrocitária em ovinos e bovinos, ao passo que nos equinos, somente o sexo.

Na coluna dos ovinos, as fêmeas em lactação apresentam a menor

atividade de AcCo-esterase em relação as não lactantes e aos machos. Por outro lado, a maior atividade foi desenvolvida pelas fêmeas não lactantes.

Com relação aos equinos, os machos mostraram a menor atividade enzimática e foram estatisticamente diferentes das fêmeas lactantes as quais, entre si, não demonstraram diferença.

Em se tratando de bovinos, as fêmeas não em lactação apresentaram significativa diferença das em lactação e forneceram níveis de maior atividade de AcCo-esterase, entre os animais do grupo estudado.

Na literatura consultada não foi encontrada nenhuma informação relacionando valores quantitativos de acetilcolinesterase eritrocitária e os estados de lactação e não lactação.

Entretanto, as diferenças entre machos e fêmeas aqui estudados foram também assinaladas, à nível de eritrócito por MELLO & PUGA (6), à nível de plasma por SOUZA et alii (13, 14) e negadas por PUGA et alii (9). Outrossim, deve-se salientar que os machos examinados por este último, eram castrados.

Trabalhos com bovinos (13, 14) citam que a raça teria influência nos níveis plasmáticos de AcCo-esterase. Nestas circunstâncias, ainda que a nível de eritrócito, poderia-se pensar na ação deste fator nos níveis enzimáticos da espécie ovina, medidos neste trabalho, pois os machos pertenciam a outra raça.

Entretanto, o mesmo autor (15), um ano após, trabalhando com Zebrinos concluiu pela não influência da raça nos níveis plasmáticos de Acase.

Avaliando a Tabela 2, observa-se que dos animais em lactação, ofereceram menor nível de acetilcolinesterase os integrantes da espécie ovina, sendo estatisticamente diferentes das espécies equina e bovina, as quais, entre si, não foram diferentes.

No que diz respeito aos outros dois aspectos, vê-se que a atividade da colinesterase difere significativamente em relação a espécie. Assim, entre as fêmeas não lactantes, a média maior foi detectada na espécie bovina e a menor na equina. Relativamente ao sexo, os ovinos mostraram possuir uma concentração de acetilcolinesterase superior a dos equinos.

Ainda que não havendo diferença entre as espécies equina e bovina em lactação, os demais resultados coincidem com as constatações da variabilidade enzimática quantitativa entre espécies diferentes por KRUCKNERBERG & VESTWEBER (5), MELLO & PUGA (6) no eritrócito e por RIEGEL (11), SOUZA et alii (13, 14), no plasma.

Na Tabela 3, examinando a atividade eritrocitária da colinesterase entre animais, verifica-se que a maior parte delas apresenta

ram diferenças significativas quando comparados. No entanto, não acompanham o quadro geral, apresentando média sem diferença estatística; os equínos e os bovinos em lactação, o mesmo acontecendo entre ovinos em lactação e equínos machos.

Percebe-se, também, que os animais em lactação, comparados aos não lactantes, demonstraram maior atividade colinesterásica eritrocitária.

Por outro lado, verifica-se a semelhança de níveis entre ovinos e bovinos tanto em lactação como em não lactação.

Ainda em relação a Tabela 3, cujas significâncias não estão em paralelo integram com as anteriores por causa da mudança nos graus de liberdade, pode-se observar que equínos em lactação e não lactantes, quando analisados no total de amostras, apresentaram diferença entre si.

Outrossim, diante da comprovação de influência de estados toxicológicos, MELLO & PUGA (6), MUACEVIC (8), QUINONES et alii (10), patológicos GORINA (4), SCOTT et alii (12), WILLIAMS et alii (18) e fisiológicos BLOY et alii (2), KRUCKNERBERB & VESTWEBER (5), SOUZA et alii (13, 14), nos níveis de colinesterase, verificou-se a importância da dosagem com fins diagnósticos.

CONCLUSÕES

Em função dos dados expressos nas Tabelas 1, 2 e 3 e posteriormente discutidos, foi possível chegar as seguintes conclusões:

1. O valor colinesterásico eritrocitário de bovinos em não lactação é maior do que os outros estados que foram investigados neste trabalho.

2. Machos equínos e fêmeas ovinas em lactação apresentaram os menores índices.

3. É notável a semelhança entre os ruminantes no mesmo estado fisiológico.

LITERATURA CITADA

1. BACILA, M., VILLELA, G. G. & TASTALDI, H. - *Técnicas Atualizadas de Bioquímica Clínica*. Curitiba, Universidade do Paraná, 1962, 47 p.
2. BLOY, B.; MORENO, R. D. & FARIAS, R. N. - Effect of Essential Fatty Acid Deficiency on the Arrhenius Plot of Acetylcholinesterase from Rat Erythrocytes. *J. Nutr.*, 104 (10):1265-1272, 1974.
3. CANONG, W. F. - *Fisiologia Médica*. 3ª ed., São Paulo, Atheneu Editora, 1969, 668 p.

4. GORINA, B. A. - *La Clínica y el Laboratorio*. 5^a Ed., Barcelona, Editora Marin, 1964, 437 p.
5. KRUCKNERBERB, S. M. & VESTWEBER, J. G. E. - Whole Blood Cholinesterase Activity of Laboratory and Domestic Animals: Contribution of Erythrocyte and Serum Enzymes. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, 68(1):54-55, 1973.
6. MELLO, D. & PUGA, F. R. - Atividade de Colinesterase Sanguínea em Bovinos. *Atualidades Veterinárias*, 4(23):24-28, 1975.
7. MICHEL, H. O. - An Electrometric Method for the Determination of Red Blood Cell and Plasma Cholinesterase Activity. *The J. of Lab. and Clinical Med.*, 34(11):1664-1668, 1949.
8. MUACEVIC, G. - Acute Toxicity and Cholinesterase Inhibition in Vivo of Chlorthippos. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.*, 27(1):3-14, 1976.
9. PUGA, F. R.; GAETA, R. & MELLO, D. - Atividade da Colinesterase em Bovinos Zebus. *Rev. O Biológico*, 37(6):154-156, 1971.
10. QUINONES, M. A.; BOGDEN, J. D. & LOUZIA, D. - Depressed cholinesterase Activities Among Workers in New Jersey. *Sci. Total Environ.*, 6(2):155-159, 1976.
11. RIEGEL, R. E. - Níveis Fisiológicos das Colinesterases Séricas e Plasmáticas de Vacas Leiteiras da Raça Holandesa. *Rev. Centro Ciências Rurais*, 1(2):23-30, 1971.
12. SCOTT, G. L.; DORNHORST, A. & RASBRIDGE, M. R. - Relation Between Red Cell Acetylcholinesterase Activity and Idiogenicity in Leukemia. *Scand. J. Haematol.*, 11(3):230-234, 1973.
13. SOUZA, J. A.; BARRETO, H. E.; OLIVEIRA, M. A. & MUELLER, S. B. K. - Variações de Colinesterasemia e Proteinemia Total Durante a Evolução Etária em Bovinos da Raça Jersey. *Arq. Inst. Biol.*, 38(1):1-6, 1971.
14. SOUZA, J. A.; MUELLER, S. B. K. & PENHA, A. M. - Valores Séricos da Colinesterase em Bovinos Recém Nascidos da Raça Jersey. *Arq. Inst. Biol.*, 38(1):15-17, 1971.
15. SOUZA, J. A.; MUELLER, S. B. K.; NETTO, L. Z. & MARTINS, E. O. - Influência da Raça e Idades na Colinesterase Bovina. In: CONG. BRAS. DE MED. VET., XIII, Brasília, 1972, *Anais...* Brasília, S.B.M.V., 1972, p. 367.
16. STEEL, R. G. D. - *Principles and Procedures of Statistics*. New York. Mac. Grow-Hill Book Company. 1968, 481 p.
17. WHITE, A.; HANDLER, D. & SMITH, E. L. - *Principles of Biochemistry*, 5^a Ed1, Tóquio, Mac. Grow-Hill Kogakusha Ltda. 1973, 1117 p.
18. WILLIAMS, H. M.; LAMOTTA, R. V. & WESTSTONE, H. J. - Serum Cholinesterase in Obstructive Jaundice. *J. Clin. Pathol.*, 12:583, 1957.