

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLÓGICA

Diretor: Prof. Dr. Euclides Onofre Martins

NÍVEIS NORMAIS DE COLINESTERASE EM EQUÍNOS "PSI"
VALORIZAÇÃO TOXICOLÓGICA(NORMAL LEVELS OF CHOLINESTERASE IN THROUGH-BRED
HORSES. TOXICOLOGICAL APPRECIATION)EUCLYDES ONOFRE MARTINS
Prof. Catedrático

JOSÉ ALVES DE SOUZA *

ADAYR MAFUZ SALIBA
Prof. Assistente Docente

ULRICH RALPH REINER **

INTRODUÇÃO

O emprêgo diário de compostos orgânico-fosforados em agro-pecuária tem alcançado níveis altos. O consumo de inseticidas no Brasil, desde 1958 até 1964, foi de 409.385 toneladas, cabendo ao Estado de São Paulo, 286.047 toneladas (dados fornecidos pelo Instituto Biológico). Como conseqüência dêste alto consumo, a incidência de intoxicações, acidentais ou intencionais, cresce paralelamente em clínica humana e veterinária.

Dentre os defensivos agro-pecuários incluem-se os compostos representados por hidrocarbonetos clorados, orgânico-fosforados, carbamatos, orgânicos de síntese, orgânicos naturais e os compostos inorgânicos. Os compostos *orgânico-fosforados* e os *carbamatos* são inibidores da colinesterase e, suas toxicidades são decorrentes do aumento da acetilcolina no organismo do animal vitimado (3,12).

A acetilcolina, por sua vez é sintetizada a partir de um precursor, *acetilcoenzima A*, que sob a ação enzimática da *colinacetilase*, reage com a colina, fornecendo ao organismo a *acetilcolina*.

Esta substância, de potente atividade biológica armazenada em forma de pequenas vesículas telodêndricas (neurovesículas), é inativada ou por difusão ou por hidrólise enzimática da *colinesterase*.

* Do Laboratório de Toxicologia Veterinária do Instituto Biológico de São Paulo, Campinas.

** Do Posto de Fomento Agro-Pecuário do Jockey Club de São Paulo —

Os compostos orgânico-fosforados, inibidores da colinesterase, podem ser classificados do ponto de vista toxicológico em: *muito tóxicos*, quando inibem fortemente a colinesterase de modo irreversível, *pouco tóxicos*, quando inibem fracamente a colinesterase de maneira reversível (5). A inibição colinesterásica pelos fosforados é o resultado da hidrólise sofrida pelos ésteres fosfóricos, que colocam em liberdade o íon fosfórico, que por sua vez combina-se com a colinesterase, formando um complexo estável, inativando-a (4).

Nestas condições, a enzima colinesterase, permanecendo ligada a um agente inibidor, não promove o desdobramento da acetilcolina. Este processo, WHITTAKER¹² chamou pitorescamente de “autohomicídio”. A intoxicação por inseticidas considerados como muito tóxicos, como por exemplo o Parathion, Fosdrin, EPN, Gusation, TEPP, Mipefox, etc. produz paralisias, acompanhadas de quedas brutais dos níveis séricos e eritrocitários de colinesterase (1 e 13). A determinação dos níveis séricos de colinesterase constitui um valioso recurso prático para a indicação precoce dos efeitos tóxicos desses pesticidas, antes mesmo do aparecimento dos sintomas e sinais que evidenciam maiores comprometimentos ao animal vitimado (13).

DAVIS, citado por ALMEIDA², adverte para o fato de que os exames clínicos realizados sem a participação do laboratório de química-toxicológica, podem conduzir a avaliações falsas, como por exemplo: encefalite, lesão cerebral, encefalopatia hipertensiva, gastro-enterites, asma e insuficiência cardíaca hipertensiva; quando exames toxicólogos especializados foram praticados, tratava-se de *intoxicações por fosforados*.

A valorização toxicológica nos envenenamentos por inseticidas inibidores da colinesterase, pode ser executada através de métodos diretos ou indiretos. Os métodos considerados como diretos, são praticados em amostras de sangue circulante, conteúdo gástrico, tecido adiposo ou fígado. A determinação do grau de abaixamento do teor de colinesterase sérica ou dos eritrócitos ou ainda, o doseamento de metabólitos e produtos de degradação de praguicidas no sangue, urina e nos tecidos, constituem métodos indiretos de avaliação do grau de intoxicação (11, 7 e 8). O controle sistemático das alterações do teor de colinesterase sérica nos rebanhos, tem largo emprêgo em toxicologia profilática nos envenenamentos acidentais ou intencionais, por inseticidas inibidores dessa enzima. Ao lado dos envenenamentos por pesticidas, outros envenenamentos capazes de provocarem lesões hepáticas, poderão ser diagnosticados como exemplo, por fitotóxicos (10).

São vários os recursos laboratoriais de que dispomos para a realização desse controle, dos quais destacamos: o titimétrico, manométrico, colorimétrico e o eletrométrico (6).

Os equinos PSI, pelo regime de criação a que são submetidos, são susceptíveis a envenenamento alimentar por cereais tratados com inseticidas ou a quimioterapia profilática aos endo ou ectoparasitas com compostos órgão-fosforados, nessas circunstâncias oferecem condições ideais para o controle toxicológico profilático de envenenamento por agentes inibidores da colinesterase.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos 26 equinos PSI, fêmeas, com idades compreendidas de 2 a 20 anos; mantidos em ótimas condições clínicas, localizados em haras do interior do Estado. Este lote de animais foi dividido em dois grupos, respectivamente, "A" e "B".

O primeiro incluía animais com idades de 2 a 10 anos, e o segundo grupo de 11 a 20 anos. As amostras de sangue foram obtidas por venoclise da jugular e, transferidas para tubos de centrifuga, onde permaneceram até a obtenção do soro que era separado do coágulo e colocado imediatamente em geladeira. Desprezamos todos os sôros que apresentaram o menor vestígio de hemólise. As amostras séricas antes do doseamento enzimático foram submetidas à provas bioquímicas de função hepática rotineira (12), visando-se eliminar animais portadores de comprometimento hepático.

Foram desprezadas as amostras que apresentaram resultados positivos diante das provas funcionais do fígado. Os doseamentos enzimáticos dos sôros de equinos, seguiram a orientação imprimeada por MICHEL⁹. As leituras das diferenças dos pHs das amostras estudadas, foram praticadas com potenciômetro METROHN, modelo E-396. Todas as drogas utilizadas na execução do método eram "pró-análise".

RESULTADOS

A análise estatística dos resultados, pela aplicação do teste "t", demonstrou que os dados obtidos são francamente significativos ao nível de 2%. Verificou-se que nos animais submetidos a esta observação, o teor de colinesterase determinado pelo método eletrométrico de Michel, guardou uma relação distinta entre os dois grupos etários "A" e "B".

Os valores médios de colinesterase sérica nas diferentes idades dos animais relacionados nos dois grupos etários, estão representados nos gráficos 1 e 2.

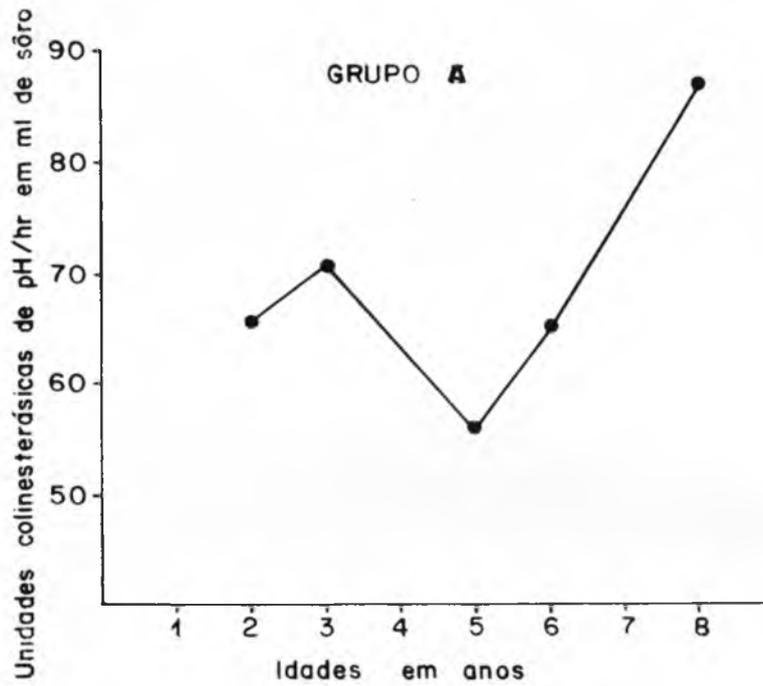


GRAFICO I — Representação gráfica dos valores de colinesterase dos animais relacionados no Grupo "A"

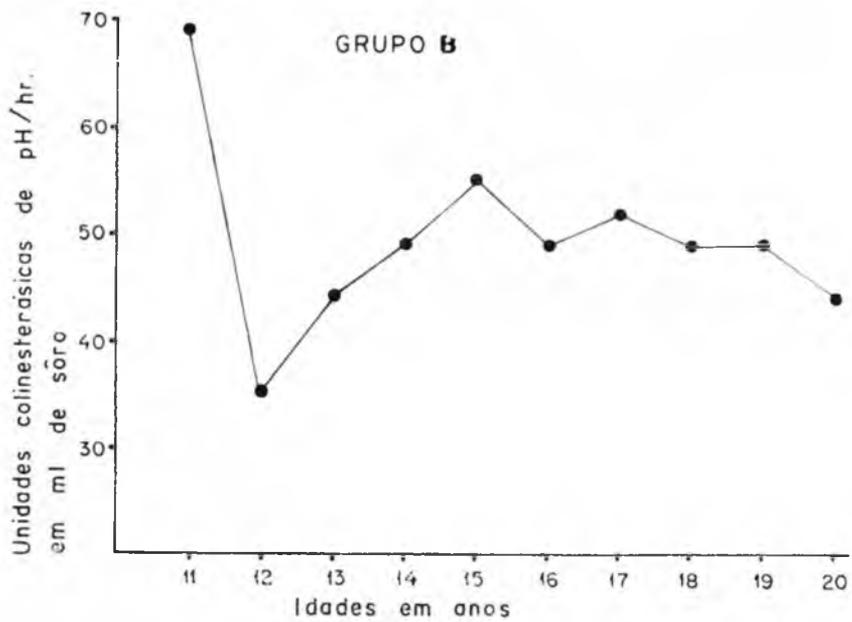


GRAFICO II — Representação gráfica dos valores de colinesterase dos animais relacionados no Grupo "B"

COMENTÁRIOS

Pelo exame dos resultados constata-se facilmente a existência nestes animais em estudo, de uma diferença significativa entre os dois grupos etários (Quadros 1 e 2).

A relação dessa diferença é inversamente proporcional a idade do animal.

Extrapolando-se esta observação para os objetivos da toxicologia e clínica veterinária, devemos considerar que os animais jovens são menos susceptíveis a intoxicação por agentes inibidores da colinesterase do que animais idosos, quando submetidos a uma mesma dose do agente tóxico.

RESUMO

Estudamos no presente trabalho os níveis normais de colinesterase em equinos PSI. Utilizamos animais do sexo feminino, com idades compreendidas de 2 a 20 anos, mantidos em ótimas condições clínicas, divididos em 2 grupos etários; o primeiro de 2 a 10 anos e o segundo de 11 a 20 anos.

A análise estatística dos resultados, pela aplicação do teste "t" demonstrou que os dados obtidos são francamente significativos ao nível de 2%.

Verificamos que nos animais submetidos a esta observação, o teor de colinesterase, determinado pelo método eletrométrico de Michel, guarda uma relação distinta entre os dois grupos etários.

Pelos resultados obtidos, devemos considerar que os animais jovens são menos susceptíveis a intoxicação por agentes inibidores da colinesterase do que animais mais idosos, quando submetidos à mesma dose de agente tóxico.

SUMMARY

The normal levels of cholinesterase in thorough-bred horses are studied in this paper. Twenty-six mares were utilized, with ages varying from 2 to 20 years, and they were kept in very good clinical conditions. These animals were distributed in two groups, according to their ages: the first group from 2 to 10 years old, the second one, from 11 to 20 years.

The statistical analysis of the results, by applying the "t" test, demonstrated that the data obtained are significant at a level of 2%.

It was verified that in the animals under observation, the cholinesterase contents determined by the electrometrical method of Michel keeps a distinct relationship between the two age groups.

IDADE EM ANOS	Nº DE ANIMAIS	MÉDIA ARITMÉTICA DAS UNIDADES COLINESTERÁSICAS
2	6	66,24
3	1	70,90
4	-	-
5	4	56,62
6	1	65,14
7	-	-
8	1	87,88
9	-	-
10	-	-
11	2	69,28
12	2	35,75
13	1	44,50
14	1	49,50
15	2	55,20
16	1	49,50
17	1	52,00
18	1	49,50
19	1	49,50
20	1	44,50

QUADRO 1

Distribuição do número de animais por grupos etários
e a média aritmética das unidades colinesterásicas

By the results obtained, one should consider that the animals are less susceptible to an intoxication by inhibitory agents of cholinesterase than older animals, when submitted to the same amount of the toxic agent.

GRUPO 'A'			GRUPO 'B'		
ANIMAL Nº	IDADE EM ANOS	UNIDADES COLINESTERÁSICAS	ANIMAL Nº	IDADE EM ANOS	UNIDADES COLINESTERÁSICAS
15	2	65,14	13	11	70,90
16	2	70,89	26	11	67,67
17	2	70,89	8	12	34,50
18	2	67,67	10	12	37,00
19	2	52,00	2	13	44,50
20	2	70,89	12	14	49,50
21	3	70,90	6	15	39,50
3	5	52,00	7	15	70,90
5	5	57,60	25	16	49,50
9	5	29,00	24	17	52,00
14	5	87,88	4	18	49,50
22	6	65,14	23	19	49,50
11	8	87,88	1	20	44,50

QUADRO 2
Distribuição dos valores individuais de unidades colinesterásicas nos animais estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — ALDRIDGE, W. N. & DAVISON, A. N. — 1953 — The mechanism of inhibition of cholinesterases by organophosphorus compounds. *Biochem. J.*, 55: 763-766.
- 2 — ALMEIDA, W. F. — 1966 — V Congresso Nacional de Prevenção de Acidentes, São Paulo.
- 3 — AMMON, R. — 1934 — Die fermentative spaltung des acetulcholins. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 233: 486-491.
- 4 — COELHO, L. LOURENÇO — 1962 — 'Técnicas de Laboratório Clínico, Rio de Janeiro, Atheneo.
- 5 — GLICK, D. — 1937 — LXXII Properties of choline esterase in human serum. *Biochem. J.*, 31: 521-525.
- 6 — HARGEABES, A. B. — 1954 — Contribuição ao Estudo Biofísico de Acetilcolinesterase do *E. electricus*. Tese, Rio de Janeiro.

- 7 — HESTRIN, S. — 1949 — The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine, and its analytical application. *J. biol. Chem.*, 180 (1): 249-261.
- 8 — MATTSON, A. M. & SEDLAK, V. A. — 1960 — Ether extractable urinary phosphate in man and rats derived from malathion and similar compounds. *J. Agric. Foo-Chem.*, 8: 107-110.
- 9 — MICHEL, H. O. — 1949 — An electrometric method for the determination of red cell and plasma cholinesterase activity. *J. Lab. clin. Med.*, 34: 1564-1568.
- 10 — MORAES, E. C. F. — 1951 — Contribuição ao Estudo Químico-Toxicológico do *Senesio brasiliensis* Lesstere. Tese. Faculdade de Farmácia e Odontologia, São Paulo.
- 11 — O'BRIEN, R. D. — 1960 — Toxic Phosphorus Esthers., New York. Academic Press.
- 12 — WHITTAKER, V. P. — 1951 — Specificity, mode of action and distribution of cholinesterases. *Physiol. Rev.*, 31: 312-343.
- 13 — WILKISON, J. H. — 1965 — Introduccion Al Diagnostico Enzimatico. Barcelona, Ediciones Toray.