

**INSTITUTO DE PARASITOLOGIA "LOPEZ NEYRA".  
BIOQUIMICA. C.S.I.C. GRANADA**

**ANALISIS DE LA ACTIVIDAD AcChE DEL GANADO PORCINO Y  
VACUNO DE LA PROVINCIA DE GRANADA**

Thomas, L.; Hermoso, R.; León.; Monteoliva, M.; López, M.C.\*

Correspondencia: López López, M .C.

**RESUMEN**

En el presente trabajo se ha determinado la actividad acetilcolinesterasa de eritrocitos de ganado porcino y vacuno procedentes de diferentes hábitat de la Provincia de Granada. Hemos detectado que los valores de la actividad enzimática de animales procedentes de zonas de regadío con cultivo agrícola intensivo (Comarcas agrícolas de la Vega y de la Costa) son significativamente inferiores (alrededor del 20-25 %), al hallado para el resto de las comarcas, en las que existe un mayor predominio de cultivo de secano.

Palabras claves: acetilcolinesterasa, eritrocitos, ganado porcino, ganado vacuno.

**SUMMARY**

The acetylcholinesterase activity of pig and cattle erythrocytes from animals of different habitat was quantitatively determined by the pH-stat technique. The acetylcholinesterase activity in animals from irrigated lands with intensive farming is 18-20 % (pig) and 20-25 % (cattle) lower than that from animals grown in non irrigated conditions.

Key words: acetylcholinesterase, erythrocytes, pig, cattle.

**INTRODUCCION**

A partir del descubrimiento y posterior desarrollo de los plaguicidas organoclorados, se palió en gran medida el grave problema sanitario que ocasionaban numerosas parasitosis (malaria, etc.). Sin embargo, como contrapartida comenzaron a surgir graves problemas de contaminación ambiental por acumulación de residuos tóxicos de estos compuestos.

Hacia 1967 se prohíbe en USA la utilización de los organoclorados tipo DDT (En España, 1971, BOE 30-X-1971) por su manifiesta persistencia en el medio y alta toxicidad crónica. Ello dio lugar a un amplio desarrollo y utilización de los plaguicidas organofosforados, compuestos de rápida degradación y por tanto en principio poco persistentes, pero de alta toxicidad (1, 2). La OMS en 1979 (3) informa que a pesar del gran avance habido en la lucha contra los vectores de enfermedades parasitarias por vías alternativas no contaminantes seguía siendo indispensable el uso de los plaguicidas como antiparasitarios.

Estos hechos han dado lugar a una intensa y precisa investigación de los mecanismos tóxicos de estos compuestos y de las vías de prevención de su toxicidad. Dado que el mecanismo de acción de los organofosforados es a través de la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (4, 5, 6), enzima directamente involucrada en la transmisión nerviosa (7, 8), se ha venido postulando que un modo de control de intoxicaciones por dichos plaguicidas, sería a través del análisis de los niveles de este enzima (2, 9).

En el presente trabajo se ha llevado a cabo la determinación y análisis de las cifras de actividad acetilcolinesterasa de eritrocitos de ganado vacuno y porcino procedente de las diferentes comarcas agrícolas de la Provincia de Granada. se concluye que aquellos animales procedentes de zonas de regadío con gran intensidad de cultivo, donde los tratamientos con plaguicidas son mayores y más periódicos, presentan unos niveles de actividad AcChE eritrocítica considerablemente inferiores a la actividad media obtenida para el ganado procedente de zonas con mayor porcentaje de cultivo de secano.

## MATERIAL Y METODOS

Como fuente enzimática utilizamos eritrocitos de ganado porcino y vacuno obtenidos de sangre total incoagulada (heparina,  $10\mu\text{g/ml}$ ), recogida de ganado adulto durante la sangría del animal. Tras determinar el valor hematocrito se centrifugan a 200 g. (10 min.,  $4^\circ\text{C}$ ), lavando el precipitado eritrocítico tres veces con solución salina al 0,9 ‰. Tras la última centrifugación se suspenden en suero fisiológico (concentración final de eritrocitos,  $5 \times 10^6$  eritrocitos por milímetro cúbico). Posteriormente son hemolizados por sonicación siguiendo la metodología descrita por López y col. (10).

Cada muestra es un "pool" de eritrocitos de cinco animales procedentes de una zona concreta de una Comarca de la Provincia de Granada. Para la elección de cada uno de los puntos de muestreo, se tiene en cuenta su potencial ganadero así como su microhábitat. En cada Comarca se realizan 15 tomas de muestra, llevando a cabo la recogida en tres periodos de tiempo a intervalos de seis meses (otoño, primavera, otoño).

La actividad enzimática del lisado de eritrocitos se determina por triplicado con su correspondiente ensayo en blanco, utilizando como técnica de medida el sistema pH-stat (11), en las condiciones descritas por López y col. (12).

Las determinaciones se realizan en las primeras 48 horas tras la recogida, permaneciendo las muestras durante este periodo almacenadas a 4.°C. Como sustrato para la medida de la actividad enzimática utilizamos el cloruro de acetilcolina (4,2 mM), temperatura de 37.°C y pH de 8,00. La actividad queda expresada en  $\mu\text{moles}$  de sustrato hidrolizados  $\times \text{min.}^{-1} \times \text{ml}^{-1}$  de lisado.

## RESULTADOS

TABLA I.- Niveles de actividad AcChE de eritrocitos de ganado porcino procedentes de diferentes comarcas de la Provincia de Granada.

Comarca	1.º Muestreo	2.º Muestreo	3.º Muestreo
Baza-Huésca	2,15 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	2,25 $\pm$ 0,09	2,24 $\pm$ 0,08
Guadix-El Marquesado	2,07 $\pm$ 0,07	1,96 $\pm$ 0,05	2,12 $\pm$ 0,09
Las Alpujarras	2,30 $\pm$ 0,11	2,19 $\pm$ 0,10	2,24 $\pm$ 0,08
La Vega	1,77 $\pm$ 0,04	1,60 $\pm$ 0,04	1,74 $\pm$ 0,06
Valle de Lecrín	2,23 $\pm$ 0,09	2,27 $\pm$ 0,06	2,19 $\pm$ 0,08
Montes Orientales	2,03 $\pm$ 0,10	2,18 $\pm$ 0,08	2,20 $\pm$ 0,10
La Costa	1,66 $\pm$ 0,06	2,08 $\pm$ 0,09	2,15 $\pm$ 0,10
Montes Occidentales	2,17 $\pm$ 0,06	2,08 $\pm$ 0,09	2,15 $\pm$ 0,10
Tierras de Alhama	2,17 $\pm$ 0,12	2,23 $\pm$ 0,08	2,06 $\pm$ 0,07

(a) Actividad AcChE  $\pm$  SD. Los valores son la media aritmética de 15 ensayos.

Las cifras medias de actividad AcChE para eritrocitos de ganado porcino procedentes de diferentes hábitat dentro de la Provincia de Granada (tabla I), muestran en términos generales una cierta similitud entre sí. Sin embargo hay que señalar el descenso detectado en los niveles de actividad acetilcolinesterasa de los animales procedentes de las comarcas de La Vega y La Costa. en dichas zonas la actividad enzimática media, presenta un valor menor a la media global de los valores hallados en el resto de la Provincia, en un porcentaje del 18 y 20 % respectivamente. Con respecto al ganado vacuno los valores de actividad AcChE de sus eritrocitos muestran una relativa mayor variabilidad que en ganado porcino (Tabla II). Al igual que ocurría para este último tipo de ganado, se detecta un descenso de los valores de actividad de aproximadamente el 20-25 % de la media de actividad global, para los eritrocitos de ganado vacuno procedente de las comarcas de La Vega y La Costa respectivamente.

Por otra parte, no se detecta variación significativa en la actividad enzimática, tanto para ganado vacuno como porcino, al variar la época del muestreo.

TABLA II.- Niveles de actividad AcChE de eritrocitos de ganado vacuno procedentes de diferentes comarcas de la Provincia de Granada.

Comarca	1.º Muestreo	2.º Muestreo	3.º Muestreo
Baza-Huéscar	3,15 ± 0,08 <sup>a</sup>	3,34 ± 0,07	3,22 ± 0,13
Guadix-El Marquesado	3,23 ± 0,11	3,18 ± 0,12	3,13 ± 0,10
Las Alpujarras	3,22 ± 0,11	3,25 ± 0,10	3,32 ± 0,14
La Vega	2,54 ± 0,06	2,58 ± 0,06	2,51 ± 0,10
Valle de Lecrín	3,16 ± 0,10	3,14 ± 0,08	3,19 ± 0,10
Montes Orientales	3,24 ± 0,06	3,21 ± 0,12	3,30 ± 0,07
La Costa	2,47 ± 0,11	2,49 ± 0,07	2,40 ± 0,06
Montes Occidentales	3,11 ± 0,08	3,05 ± 0,11	3,10 ± 0,12
Tierras de Alhama	3,11 ± 0,06	3,09 ± 0,03	3,22 ± 0,08

(a) Actividad AcChE ± SD. Los valores son la media aritmética de 15 ensayos.

## DISCUSION

El estudio comparativo de los niveles medios de actividad acetilcolinesterasa en la ganadería porcina y vacuna de la Provincia de Granada, refleja unas cifras de actividad acetilcolinesterasa menores para los animales procedentes de dos zonas concretas de la misma (La Vega y La Costa). Estas comarcas presentan un cultivo agrícola intensivo de regadío, donde los tratamientos con plaguicidas, en términos generales son mayores y más periodicos que en el resto de las comarcas y donde por ser zonas bajas de regadío, pueden ir a parar en último término, tras lixiviación y posterior transporte por aguas subterráneas y superficiales, parte de los plaguicidas aplicados en otras zonas.

Las cifras de actividad obtenidas para el ganado procedente de las citadas comarcas La Vega y La Costa, podrían representar una mayor exposición de los animales de estos hábitat a compuestos anticolinesterásicos tales como plaguicidas de estructura fosforada.

Un estudio epidemiológico de este tipo, aplicado a otros animales de ganadería o incluso a personal que por su profesión pueda estar en mayor contacto con estos compuestos anticolinesterásicos, podría ser un método adecuado de diagnóstico preventivo de intoxicaciones por plaguicidas organofosforados, compuestos que inhiben de forma específica dicho enzima (5,13). Se sabe que es necesario inhibiciones enzimáticas del orden del 60 % para que se desarrolle una sintomatología, por otra parte poco específica (2,8).

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Delegación Provincial de Agricultura de Granada los datos suministrados sobre niveles de plaguicidas empleados en las diferentes comarcas de dicha Provincia. Al Cuerpo de Veterinarios la ayuda recibida en la recogida de muestras y al Fondo de Investigaciones Sanitarias la subvención concedida para realizar el presente trabajo.

## BIBLIOGRAFIA

1. Casidà, J.E. Toxicology information, 822. National Institutes of Health United States, 259-278 (1973).
2. Fernández, J.J. Rev. Inst. I. Med., 7, 336-365 (1978).
3. OMS. Informes técnicos, 634 (1979).
4. Aldridge, W.M. Bull. Org. Mon. Santé, 44, 25-30 (1971).
5. Corbett, J.R. The Biochemical Mode of Action of Pesticides, Academic Press, London-New York, 107-164 (1974).
6. Hussain, M.A.; Blatherwick, F.J.; Gaunce, A.P. and Mackenzie, C.I.G. J. Environ. Sci. Health., 16, 1-19 (1981).
7. Englehard, N.; Prchal, K. and Nenner, M. Angew. Chem. Int., 6, 615-626 (1967).
8. Goodman, L.S. Bases farmacológicas de la terapéutica, 5.ª ed., Interamericana, México, 374-392 (1978).
9. Widman, F.K. Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio, 2.ª ed. Jims, Barcelona, 325-339 (1981).
10. López, M.C.; Hermoso, R.; Monteoliva, M. Ars. Pharm. 24(4), 317-322 (1983).
11. Nabb, D.P. y Whitfield, F. Arch. Environ. Health, 15, 147-154 (1967).
12. López, M.C.; Hermoso, R.; Monteoliva, M. Rev. Iber. Parasitol., 41(2), 251-257 (1981).
13. Derache, R. organophosphorus pesticides. Pergamon Press., Luxemburgo (1978).