

DETERMINACIÓN DE NIVELES BASALES DE ACETILCOLINESTERASA Y
BUTIRILCOLINESTERASA PLASMÁTICA EN EQUINOS SILLA ARGENTINA EN LA SABANA DE
BOGOTÁ

CATALINA DEL PILAR ARIZA HERNÁNDEZ

Fundación Universitaria San Martín

Medicina Veterinaria y Zootecnia

MABEL ELIANA FORERO REY

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales

Medicina Veterinaria y Zootecnia

FUNDACIÓN UNIVERSITARIA SAN MARTÍN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

BOGOTÁ

2011

DETERMINACIÓN DE NIVELES BASALES DE ACETILCOLINESTERASA Y
BUTIRILCOLINESTERASA PLASMÁTICA EN EQUINOS SILLA ARGENTINA EN LA SABANA DE
BOGOTÁ

CATALINA DEL PILAR ARIZA HERNÁNDEZ

Fundación Universitaria San Martín

Medicina Veterinaria y Zootecnia

MABEL ELIANA FORERO REY

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales

Medicina Veterinaria y Zootecnia

Proyecto presentado como requisito para optar por el título de Médico Veterinario y Zootecnista

Director: DMV. Esp. Mauricio Pedraza

FUNDACIÓN UNIVERSITARIA SAN MARTÍN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTEENIA

BOGOTÁ

2011

Proyecto aprobado para
Optar al título de Médico Veterinario y Zootecnista

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Bogotá, Septiembre de 2011

Agradecemos a Dios, a nuestros padres y familia quienes con su apoyo incondicional, nos permitieron comenzar y seguir el camino que con satisfacción terminamos. A nuestros maestros quienes nos profesaron a través de sus enseñanzas el amor y respeto por la Medicina Veterinaria, en especial de los equinos, como a todos los que nos formaron como personas y nos dieron las estrategias para ser dignas representantes de nuestra hermosa profesión.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABLAS	
LISTA DE ANEXOS	
GLOSARIO	1
RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
OBJETIVO GENERAL	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
6. DESCRIPCIÓN BIOQUÍMICA Y FISIOLÓGICA DE LAS COLINESTERASAS	8
6.1 CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LA ENZIMA	8
6.2 FISIOLÓGÍA DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA COLINESTERASA	15
7. FISIOLÓGÍA DE LA SINAPSI NEUROMUSCULAR Y NEUROTRANSMISORES	30
7.1 POTENCIAL DE ACCIÓN	30
7.2 SINAPSI NEUROMUSCULAR	31
7.3 TRANSMISIÓN, CONDUCCIÓN Y EXCITACIÓN DEL IMPULSO NERVIOSO	32
7.4 TIPOS DE NEUROTRANSMISORES	33
7.4.1 Aminoácidos	34
7.4.2 Aminas.....	34
7.4.3 Catecolaminas	35
7.4.4. Péptidos	35
7.4.5 Opiáceos	35
8. TOXICOLOGÍA DE LOS INHIBIDORES DE LA COLINESTERASA	36
8.1 COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS	42
8.1.1 Agentes Organofosforados.....	46

8.1.2 Toxicocinética.....	49
8.1.3 Mecanismo de acción	51
8.1.4 Antagonistas	52
8.2 COMPUESTOS CARBAMATOS	60
8.2.1 Agentes carbamatos.....	62
8.2.2 Toxicocinética.....	62
9. PRINCIPALES MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA INHIBICIÓN DE COLINESTERASA	63
10. PRINCIPALES TÉCNICAS PARA MEDICIÓN DE NIVELES DE COLINESTERASA	78
10.1 TÉCNICA DE ELLMAN	79
10.2 TÉCNICA DE JOHNSON Y RUSSELL	84
10.3 TÉCNICA DE MICHEL	85
11. MATERIALES Y MÉTODOS	86
11.1 COLECCIÓN DE MUESTRAS	86
11.2 ANÁLISIS DE COLINESTERASAS	86
11.3 POBLACIÓN.....	87
11.4 MÉTODOS ESTADÍSTICOS	87
12. RESULTADOS	88
13. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	102
14. CONCLUSIONES.....	103
15. RECOMENDACIONES	104
16. BIBLIOGRAFIA.....	105

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.- Niveles de AChE relativa en RBC de adultos de especies seleccionadas.	17
Tabla 2.- Valores de actividad de colinesterasa en animales domésticos.	17
Tabla 3.- Hidrólisis del Plasma de Esteres de Colina de Especies Seleccionadas de Mamíferos ...	19
Tabla 4.- Niveles Relativos de RBC ACHE de Adultos de Especies Seleccionadas.	22
Tabla 5.- Medición (\pm S.E.M.) de la respuesta neuronal suscitada por esterres de colina	27
Tabla 6.- Tipos de Neurotransmisores	34
Tabla 7.- Usos destinados y concentración de 20% de Inhibición para la forma oxon de nueve pesticidas	45
Tabla 8.- Usos destinados y concentración de 20% de Inhibición para seis pesticidas.	45
Tabla 9.- Lista de compuestos Organofosforados	46
Tabla 10. - Datos de agentes Organofosforados y carbamatos con $DL_{50} < 50$ mg/Kg usados en Colombia.	47
Tabla 11.- Datos de agentes Organofosforados y carbamatos con $DL_{50} < 100$ mg/Kg y > 100 mg/Kg usados en Colombia	48
Tabla 12.- Farmacocinética reportada para las oximas 2-PAM, MMB-4, HI-6 y MINA.	58

Tabla 13.- Lista de compuestos carbamatos	62
Tabla 14.- Severidad de la intoxicación, signos clínicos y disminución de la actividad de la enzima con componentes Organofosforados	63
Tabla 15.- Expresión anormal de genes de colinesterasa y productos de genes en algunos tumores de humanos.....	64
Tabla 16.- Actividad normal (UI/L) de ALT, GGT y ChE en 1154 pacientes con enfermedad biliar y hepática	74
Tabla 17.- Técnicas Comunes Basadas en Tiocolina.	79
Tabla 18.-Población de Equinos de Estudio Para la Determinación de Niveles Basales de Colinesterasas Plasmáticas.	87
Tabla 19.- Acetilcolinesterasa (AChE) y Butirilcolinesterasa (BuChE) plasmática (nmol/ml/min) para una muestra de 60 equinos Silla Argentina.	91
Tabla 20.-Acetilcolinesterasa (AChE) y Butirilcolinesterasa (BuChE) plasmática (nmol/ml/min) para una muestra de 15 equinos Silla Argentina por grupos de edades..	92
Tabla 21.- Diferencia de medias en las enzimas BuChE y AChE (nmol/ml/min) condicionadas por sexo.	92
Tabla 22.- Limite superior e inferior de los intervalos de confianza para los grupos del estudio comparados por sexo para las enzimas BuChE y AChE plasmáticas (nmol/ml/min).	93
Tabla 23. .-Distribución y resumen estadístico para las muestras de valores de dispersión De AChE (nmol/ml/min) para cada grupo de estudio comparado por sexo.	94

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.- Organización de subunidades en las formas moleculares de las Colinesterasas (ChE). ...9	9
Figura 2.- Modelo esquemático del polimorfismo molecular de AChE y BuChE. 11	11
Figura 3.- Ciclo de vida de las Colinesterasas (ChE). 20	20
Figura 4.- Tinción histoquímica para AChE y BuChE del ganglio cardiaco intrínseco canino. 26	26
Figura 5.- Respuesta de las neuronas intrínsecas posterior a la aplicación local de acetilcolina y Butíricolina. 27	27
Figura 6.- Excitación de las fibras musculares para la contracción, que involucra la transmisión neuromuscular y subsecuente liberación de iones de calcio dentro del sarcoplasma. 33	33
Figura 7.- Fórmula general de los compuestos Organofosforados 42	42
Figura 8.- El grado de actividad de colinesterasa de seis grupos de pesticidas. 46	46
Figura 8-1.- Estructura química del Malation. 47	47
Figura 8-2.- Estructura química del Clorpirifos..... 47	47
Figura 8-3.- Estructura química del Cumafos. 47	47
Figura 8-4.- Estructura química del Diazinon. 47	47
Figura 8.5.- Estructura química del Aldicarb. 62	62
Figura 8.6.- Estructura química del Metomil. 62	62
Figura 9.- Esquema hipotético de Soreq. 64	64

Figura 10.-Actividad ChE en sangre recolectada de caballos control y almacenadas a diferentes temperaturas .	81
Figura 11.-Actividad ChE en sangre recolectada de caballos tratados con diclorvos y almacenadas a diferentes temperaturas.	81
Figura 12.- Actividad ChE en sangre recolectada de caballos tratados con triclorfon y almacenadas a diferentes temperaturas.....	82
Figura 13.- Efectos <i>in vivo</i> del Equitrol® en la actividad ChE en plasma y eritrocitos.	83
Figura 14.- Histograma de columnas de actividad colinesterasa plasmática en machos y hembras	97
Figura 15.- Histograma de columnas de actividad Acetilcolinesterasa (AChE) (nmol/ml/min) en los grupos etarios del estudio.	98
Figura 16.- Histograma de columnas de actividad Butirilcolinesterasa (BuChE) (nmol/ml/min) en los grupos etarios del estudio.	98
Figura 17.-Histograma lineal de actividad Acetilcolinesterasa (AChE) (nmol/ml/min) en el grupo 1 (0.5-5 años) discriminado por sexo	99
Figura 18.-Histograma lineal de actividad Acetilcolinesterasa (AChE)(nmol/ml/min) en el grupo 2 (6-10 años) discriminado por sexo.....	99
Figura 19.-Histograma lineal de actividad Acetilcolinesterasa (AChE)(nmol/ml/min) en el grupo 3 (11-15 años) discriminado por sexo.	100
Figura 20.-Histograma lineal de actividad Acetilcolinesterasa (AChE)(nmol/ml/min) en el grupo 4 (Mayores de 15 años) discriminado por sexo.	100
Figura 21.- Histograma lineal de actividad Butirilcolinesterasa (BuChE) (nmol/ml/min) en el grupo 1 (0.5- 5 años) discriminado por sexo.	101
Figura 22.- Histograma lineal de actividad Butirilcolinesterasa (BuChE) (nmol/ml/min) en el grupo 2 (6-10 años) discriminado por sexo.	101

Figura 23.- Histograma lineal de actividad Butirilcolinesterasa (BuChE) (nmol/ml/min) en el grupo 3 (11-15 años) discriminado por sexo.	102
Figura 24.- Histograma lineal de actividad Butirilcolinesterasa (BuChE) (nmol/ml/min) en el grupo 4 (Mayores de 15 años) discriminado por sexo.	102
Figura 25.- Diagrama de dispersión de actividad Acetilcolinesterasa (AChE) (nmol/ml/min) en el procesamiento preliminar, mediciones hechas cada 24 horas	103
Figura 26.- Diagrama de dispersión de actividad Butirilcolinesterasa (BuChE) (nmol/ml/min) en el procesamiento preliminar, mediciones hechas cada 24 horas.	103

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.- Lista de Semovientes de la Escuela de Equitación y Criadero San Jorge	109
Anexo 2.- Lista de Semovientes de la Escuela Militar de Cadetes José María Córdova	114
Anexo 3. Preliminares de Artículo Científico para Publicación Nacional.....	117

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

2-PAM: Pralidoxima
2-PDS: 2,2'-diotidipirina
ACh: Acetilcolina
AChE: Acetilcolinesterasa
ADI: Ingesta diaria admisible
ATCl: Acetilcolina yodada
BTCl: Butirilcolina yodada
BuChE: Butirilcolinesterasa
BzCh: Benzoylcolina
CBC: Conteo de sangre completa
CFS: Síndrome de fatiga crónica
ChE: Colinesterasa
CMAPs: Compuestos de potenciales de acción muscular
DAM: Diacetilmonooxima
DEET: N,N-Dietil-meta-toluamida
DL₅₀: Dosis letal 50
DTNB: Ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico
ECG: Electrocardiograma
EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético
GABA: Ácido Gamaaminobutirico
GCI: Ganglio cardiaco intrínseco
HI-6: [1-(((4-(aminocarbonyl)-pyridino)methoxy)methyl)-2(hydroxyimino)methyl)-pyridinium dichloride]
IC₂₀: 20% de inhibición
ICA: Instituto Colombiano Agropecuario
mAChR: Receptores muscarínicos de acetilcolina
MeCh: Metilcolina
MINA: Monoisonitrosoacetona
MMB-4: Metoxima
OP: Organofosforado
OPIDN: Polineuropatía retardada Inducida por organofosforadas
PCE: Actividad plasmática de colinesterasa
P2s: Sal de metanosulfonato
pH: Potencial de Hidrógeno
PO: Por oral
PON1: Paraoxonasa sérica
PrCh: Propionilcolina
PRiMA: Proteína transmembrana
RBC: Recuento de glóbulos rojos

DETERMINACIÓN DE NIVELES BASALES DE ACETILCOLINESTERASA Y BUTIRILCOLINESTERASA PLASMÁTICA EN EQUINOS SILLA ARGENTINA EN LA SABANA DE BOGOTÁ¹

Mauricio Pedraza ²
Alejandra Araque Marín ³
Carlos Andrés Gonzales Avella ⁴

Catalina del Pilar Ariza Hernández⁵
Mabel Eliana Forero Rey ⁶
2011

RESUMEN

La determinación de niveles basales de colinesterasas plasmáticas en equinos y el efecto sobre ellas de variables como el sexo y la edad, permiten la identificación de los ejemplares con riesgo o sospecha de intoxicación por compuestos anticolinesterasa, pues permite el reconocimiento rápido de la inhibición y el diagnóstico de su causa, así como el aumento de la misma en ciertas situaciones clínicas. Con la presente investigación se determinaron los niveles basales de Acetilcolinesterasa (AChE) y Butirilcolinesterasa (BuChE) plasmáticas en equinos Silla Argentina en la Sabana de Bogotá, clínicamente sanos y no expuestos a agentes anticolinesterasa, arrojando resultados (nmol/ml/min) de AChE para machos de 1566 ± 30 y para hembras de 1323 ± 432 ; para el caso de BuChE (nmol/ml/min) para machos fue de 3304 ± 822 y para hembras de 3097 ± 432 . El nivel de significancia estadístico elegido fue 0.05 con el cual se contrastaron todas las pruebas estadísticas realizadas. Se realizó el análisis con respecto a las varianzas que pueden existir entre grupos etarios y sexo. Se encontró una diferencia significativa en los valores plasmáticos basales de AChE entre machos y hembras ($P=0.02$). A su vez se observó evidencia de una diferencia significativa en los valores plasmáticos basales de AChE por grupos etarios ($P=0.0003$). En el caso de la BuChE no hubo evidencia de diferencia en los valores plasmáticos basales entre machos y hembras ($P=0.27$). El valor ($P=0.39$) evidencia que no hubo una diferencia significativa en los valores plasmáticos basales de BuChE por grupos etarios. En la evaluación de la estabilidad de AChE y BuChE a través del tiempo al mantener las muestras refrigeradas, se observó que no hubo una diferencia significativa en los valores de éstas enzimas ($P=0.66$) y ($P=0.27$) respectivamente, en cada uno de los tiempos de procesamiento evaluado.

Palabras Clave: Acetilcolina, colinesterasa, equinos, acetilcolinesterasa, butirilcolinesterasa, Ellman.

¹ Trabajo de grado en modalidad de investigación

² Director. Médico Veterinario Esp Escuela de Equitación del Ejército Nacional de Colombia.

³ Codirector. Docente programa Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A

⁴ Codirector. Docente carrera Medicina Veterinaria y Zootecnia. Fundación Universitaria San Martín.

⁵ Estudiante último semestre carrera Medicina Veterinaria y Zootecnia. Fundación Universitaria San Martín

⁶ Estudiante último semestre programa Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A

SANMARTÍN
Fundación Universitaria

CRAI
Centro de Recursos para el
Aprendizaje y la Investigación

Nota

Este trabajo se encuentra disponible únicamente en **formato físico**, ya que no cuenta con versión digital. Por tal motivo, en este repositorio solo serán visibles las páginas preliminares con fines informativos. Para su consulta completa, el usuario deberá verificar la ubicación o sede donde se encuentra el ejemplar físico, o bien solicitar información adicional escribiendo al correo institucional:

repositoriofusm@sanmartin.edu.co