

1A. COMPROBACION DE LA ACTIVIDAD ANTICOLINESTERASICA DEL CLOSANTEL EN BOVINOS

J.A. Hohenweger¹
J. E. Taroco²
B. Mato³
A. Maserman⁴
J. U. Gilmet⁴

RESUMEN

Se comprueba la actividad anticolinesterásica del closantel en los bovinos.-

Trabajando con dosis terapéuticas de closantel, los descensos de la colinesterasa plasmática y eritrocitaria se corresponden con la disminución que sufre la enzima frente a la actividad de otras drogas colinérgicas indirectas. Se concluye que la actividad anticolinesterásica del closantel es un mecanismo totalmente independiente de la actividad bioquímica hasta ahora descrita.

INTRODUCCION

En 1982 Hohenweger y Taroco (5) describen que en el perro el closantel se comporta como un anticolinesterásico. En virtud que dicha droga tiene un uso más difundido en bovinos, se entendió oportuno confirmar ese hallazgo en esta especie.

Dentro de las estererasas que hidrolizan los ésteres de la colina tenemos dos tipos : A) acetilcolinesterasa, conocida como colinesterasa específica, verdadera, eritrocitaria o del tipo 1, y B) colinesterasa inespecífica, plasmática, pseudocolinesterasa, butirilcolinesterasa o del tipo 2.

La primera se encuentra presente en los eritrocitos y también en el sistema nervioso, corazón, timo, pulmón, bazo y adrenales. Aún no ha sido del todo dilucidado que función llevaría a cabo en los glóbulos rojos, pero a nivel de terminaciones nerviosas y placa mioneural su función es la destrucción de acetilcolina liberada durante la transmisión para que pueda llevarse a cabo el impulso siguiente.

Cátedra de Farmacología y Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria (Montevideo).

República Oriental del Uruguay.-

¹Profesor Agregado de Farmacología.

²Jefe del Laboratorio de Análisis Clínico.

³Asistente de Farmacología.

⁴Ayudante de Farmacología.

La segunda enzima se encuentra principalmente en plasma sanguíneo y en menor concentración en hígado, páncreas, glándulas salivales, tiroides y útero. En el perro la mayor concentración de colinesterasa se encuentra en el plasma, -- en el bovino ocurre exactamente lo inverso. Según datos del CEDIVEF (Centro de Diagnóstico e Investigación Veterinarias de Formosa) (Brem y Roux, 1984) (1) en los vacunos la colinesterasa plasmática tiene valores promediales de 175 ± 43 mU/ml y la eritrocitaria de 2.277 ± 351 mU/ml. Coppo y Acosta (1983) (3) en un ensayo sobre 415 bovinos encuentran valores de -- colinesterasa plasmática de 348 ± 52 mU/ml, destacando que no existen diferencias significativas con relación a la edad, raza, sexo o estado de gestación. La baja concentración de colinesterasa plasmática frente a la eritrocitaria y la mayor actividad fisiológica de ésta en el bovino, decidió a los autores a dosificar la colinesterasa total, para establecer la magnitud de las variaciones de la enzima frente a la acción del closantel.

MATERIALES Y METODOS

Se emplearon para el trabajo, bovinos machos y hembras cuyos pesos oscilaban entre 152 y 244 kg.

Se separaron 3 lotes :

- 1) ofició de testigo; no recibió dosificación de closantel.
- 2) Se inyectó con closantel a razón de 5 mg/kg de peso vivo.
- 3) Se inyectó con closantel a razón de 15 mg/kg de peso vivo.

El closantel es un específico zooterápico con características de endectocida, de uso en bovinos, equinos, ovinos y caninos. Comercialmente se presenta en solución al 5%, siendo las dosis recomendadas por el fabricante: 2,5 mg/kg de peso vivo para *Haemonchus* spp., 5 mg/kg de PV para *Fasciola hepática* y 15 mg/kg de PV para garrapata, piojos, *Dermatobia* spp., etc..

Closantel se aplica por inyección subcutánea o intramuscular. Existe una presentación oral de closantel, la cual nosotros no hemos empleado en este trabajo, limitándonos en todos los casos a la aplicación sc del producto.

Primeramente se extrajo una muestra de sangre para hacer la determinación anterior al tratamiento; como anticoagulante se utilizó calcio EDTA.

Inmediatamente después, a excepción del grupo testigo se dosificaron los animales con closantel a la posología indicada más arriba. Se obtuvieron nuevas muestras de sangre a la 4 horas de la dosificación, a las 24 horas, a las 120 horas y a las 216 horas.

Para efectuar el dosaje de la colinesterasa en sangre total de bovinos fue necesario modificar el método de Ellman y colaboradores, según Brem y Roux (1) : 1 ml. de sangre c/anticoagulante se adicionó con 9 ml. de agua destilada, pH 6.8 a los efectos de hemolizar la totalidad de los eritrocitos.

En estas condiciones no hay interferencia del color propio de la hemoglobina con la reacción colorimétrica a practicar "a posteriori".

Para medir la acetilcolinesterasa se empleó el Test Combination colinesterasa -- Boehringer con sustrato de acetiltiocolina que por acción de la acetilcolinesterasa se desdobra en acetato y tiocolina en medio tamponado con fosfato en 50 mM, pH 7.2 y a temperatura de 25°C..

La tiocolina liberada reacciona con el ácido ditiiodinitrobenzoico dando ácido tiodinitrobenzoico, cuya intensidad de color a 405 nm es proporcional a la actividad de la enzima.

Las mediciones se efectuaron en un espectrofotómetro (Spectronic 21) a la longitud de onda anteriormente indicada.

RESULTADOS

A las 4 horas de inyectados los animales con closantel a razón de 5 mg/kg de PV, -- la colinesterasa descendió al 78.36% de los valores anteriores a la dosificación. (Gráfico 1).

A las 24 horas la colinesterasa estaba en 92.07% (2.655 mU/ml)
A las 120 horas la colinesterasa estaba en 77.90% (2.520 mU/ml)
A las 216 horas la colinesterasa estaba en 80.71% (2.612 mU/ml)
Aquellos que recibieron 15 mg.Kg.PV la colinesterasa estaba :
A las 4 horas en 70.99% del valor normal.(1.894 mU/ml.)
A las 24 horas en 86.20% del valor normal.(2.300 mU/ml.)
A las 120 horas en 74.63% del valor normal.(1.991 mU/ml.)
A las 216 horas en 81.71% del valor normal. (2.180 mU/ml.)
(Gráfico 2).

DISCUSION

Se observa una clara diferencia en los valores de colinesterasa total entre los lotes de animales tratados con 5 mg/Kg.PV y el grupo tratado con 15 mg por unidad de peso.(Gráfica 3).

Luego de un descenso inmediato de la colinesterasa tras la administración de closantel, en los 2 lotes tratados se puede observar un aumento seguido de un descenso posterior de la enzima.

Ese aumento obedece a un mecanismo de liberación de colinesterasa hepática ya que de acuerdo con Brauer, citado por Coppo y Acosta (3), el hígado actuaría como reservorio de colinesterasa en un 25%.

Los descensos de colinesterasa expresados en valores absolutos coinciden con los encontrados por Brem y Roux (1) en bovinos medicados con metrifonato. (Tabla 1).

CONCLUSIONES

Se comprueba en el bovino la acción anticolinesterásica del closantel empleado en dosis terapéuticas. Los descensos en los valores de la colinesterasa son concordantes por los obtenidos por otros autores : Brem y Roux (1984) (1), Coppo y Acosta (1983) (3), Coppo y col. (1982) (2), Espinasse (1979) (4), empleando otras drogas como agentes anticolinesterásicos.

La acción ectoparasiticida del closantel sería independiente de la actividad anticolinesterásica de la droga, ya que con dosis de 5 mg.Kg PV, la colinesterasa desciende a 78.36% del valor normal y el producto en la práctica no muestra actividad sobre los parásitos externos, por lo que habría que pensar que el mecanismo principal de la acción endo-ectoparasiticida del closantel sería la inhibición de la fosforilación oxidativa. El mecanismo anticolinesterásico entonces funcionaría como un mecanismo sinérgico a la acción principal.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de las siguientes personas en la realización de este trabajo:

Dr. Santiago Geninazza, Asesor de la firma Strauch y Cia. por habernos proporcionado la droga y los reactivos necesarios.

Dra. Alba Salvarrey por su participación en la redacción y mecanografiado del trabajo.

Srta. Susana Campos, por la preparación del resumen en inglés.

Br. Dante Monesiglio, por la confección de cuadros y gráficos.

Sr. Juan C. de los Santos, por su ayuda en los trabajos de campo.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BREM, J.J. y ROUX, J.P.- Actividad colinesterásica en sangre total en bovinos. Valores normales y su comportamiento frente a un organofosforado.

- 5to. Congreso Latinoamericano de Buiatría. 12a. Jornadas Uruguayas de -
Buiatría. Paysandú 1984. c.c. 12, 1-9.
- (2) COPPO, J.A.; Brem, J.J.; Sandoval, C.L.; Pérez, O.A.; Martínez, A.R. y Campo
dónico, J.F.. Alteraciones clínicas, bioquímicas e histopatológicas pro
vocadas por administración de organofosforados en dosis terapéuticas y -
tóxicas en bovinos, ovinos y caninos. Gac. Vet. Bs. Aires 44 (375) -----
1058-1077. 1982.
- (3) COPPO, J.A. y Acosta de Pérez, O.C.. El enzimograma fisiológico del bovino.
Gsc. Vet. Bs. Aires 45 (385): 1126-1148.
- (4) ESPINASSE, J.. Perfiles metabólicos. Conferencia, curso: "Bioquímica y fisio
patología del rumen". Corrientes (Rep. Argentina). 1979.
- (5) HOLENWEGER, J.A. y Taroco, J.E.. Nuevo mecanismo de acción del closantel. --
Gac. Vet. Bs. Aires 44 (370): 420-425. 1982.

**SUMMARY: FIRST COMMUNICATION ABOUT THE ANTICHOLINESTERASE ACTIVITY OF CLOSANTEL
IN CATTLE**

The anticholinesterase activity of closantel is demonstrated in cattle.
Therapeutic doses of closantel caused a significant decrease in plasma and -----
erythrocyte cholinesterase which was correlated with the depression in enzyme --
activity when other indirect cholinergic drugs were used.

It is concluded that the anticholinesterase activity of closantel is a mechanism
non-dependent on the biochemical activity hitherto described.

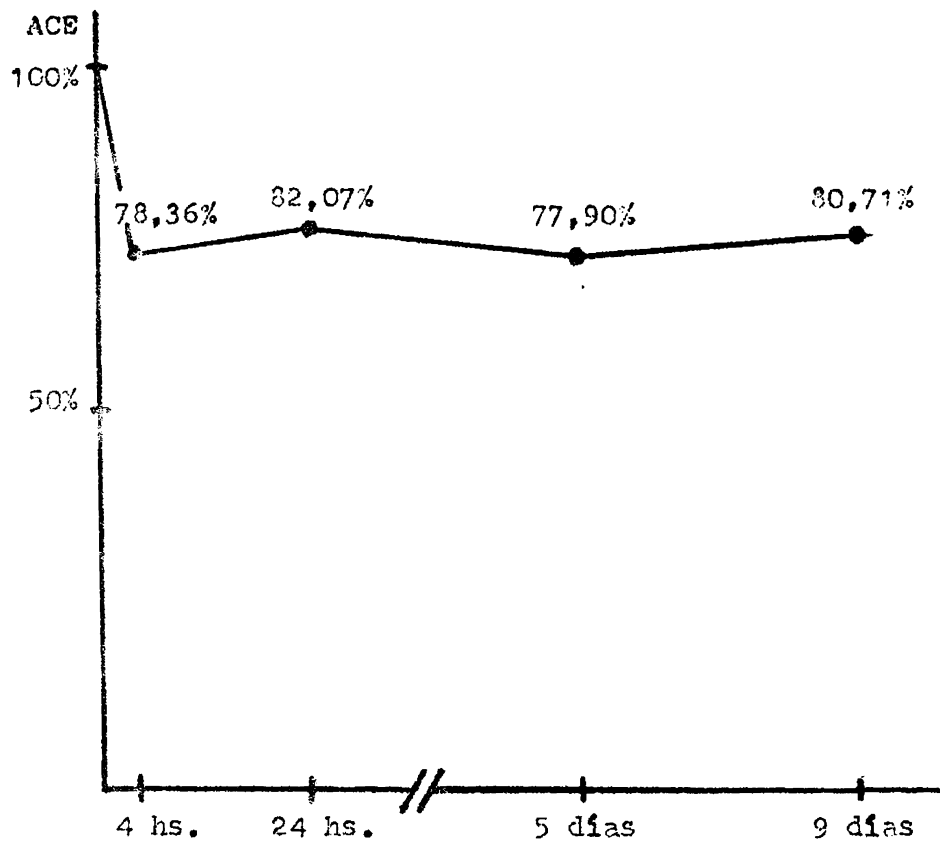


Gráfico 1.- Evolución de la concentración de la colinesterasa total (plasmática y eritrocitaria) en bovinos dosificados con 5 mg/kgPV de clo-santel sc.-

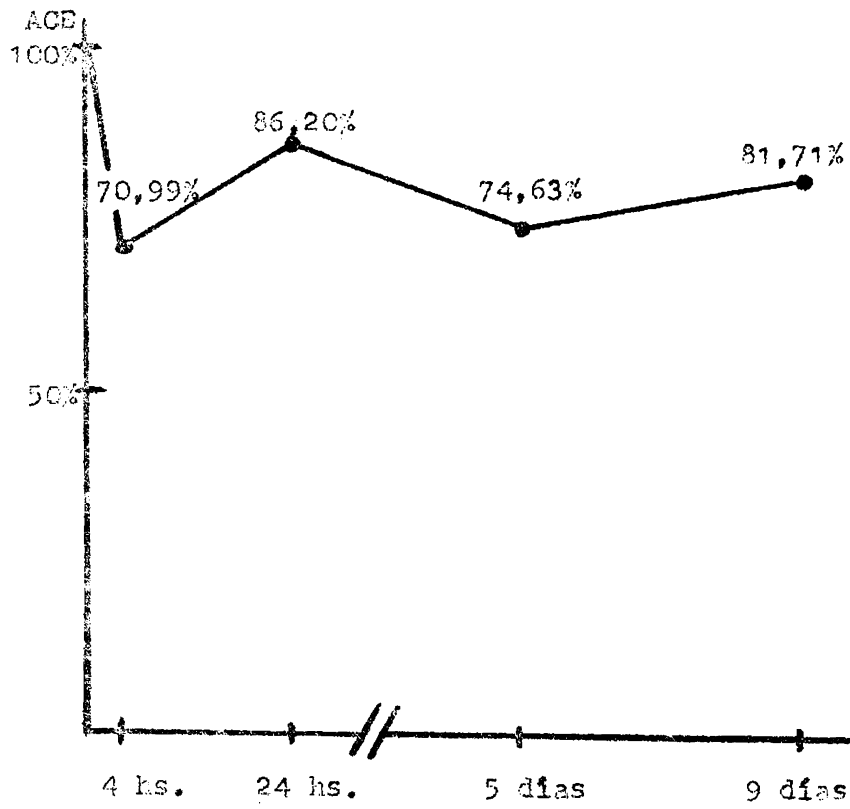


Gráfico 2 .- Evolución de la concentración de la colinesterasa total (plasmática y eritrocitaria) en bovinos dosificados con 15 mg/kg PV de closantel sc.-

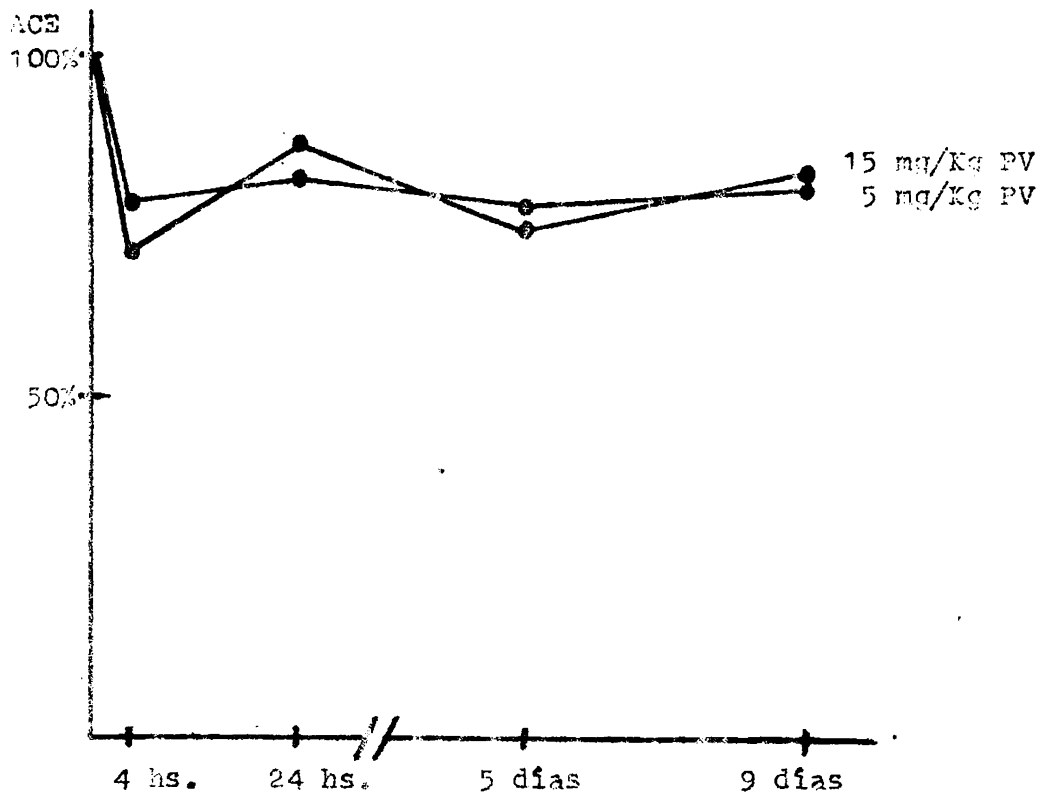


Gráfico 3.- Se comparan las variaciones de la concentración de la colinesterasa total (plasmática y eritrocitaria) en bovinos tratados con 5 y 15 mg/Kg PV respectivamente, de clorsantel sc.-

ACETILCOLINESTERASA PLASMÁTICA Y ERITROCITARIA EN BOVINOS TRATADOS CON METRIFONATO

	ANTES DE METRIFONATO	5 MIN. DESPUES METRIFONATO	1 HORA DESPUES METRIFONATO	24 HS. DESPUES METRIFONATO	1 SEMANA DESPUES METRIFONATO	2 SEMANAS DESPUES METRIFONATO
ACE plasmá tica	248 (± 61)	----	123 (± 21)	127 (± 15)	177 (± 11)	242 (± 15)
ACE ⁴ eritro citaria	2723 (± 516)	2193 (± 430)	1702 (± 271)	2118 (± 475)	1993 (± 225)	2057 (± 371)

metrifonato 15 mg/kg

Fuente: CEDIVER, 1994.-