

VALORES REFERENCIALES DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE α -AMILASA Y FOSFATASA ÁCIDA EN CABRAS MULTÍPARAS DE RAZA MURCIANO-GRANADINA

Referential values of the enzymatic activity of α -amylase and acid phosphatase in goats of the Murciano-Granadina breed during third gestation and lactation

Ruiz, S.*; Martínez, E.**; Vázquez, J. M.*; Ramírez, A.*; Cárceles, C.***

* Fisiología Animal. (Departamento de Biología Animal y Ecología.) Facultad de Veterinaria. Espinardo. Murcia.

** Reproducción y Obstetricia. (Departamento de Patología Animal.) Facultad de Veterinaria. Espinardo. Murcia.

*** Farmacología y Terapéutica Veterinarias. (Departamento de Ciencias Socio-Sanitarias.) Facultad de Veterinaria. Espinardo. Murcia.

Recibido: 14 julio
Aceptado: 2 diciembre

RESUMEN

Se ha realizado un estudio para determinar valores de referencia de las actividades enzimáticas de α -amilasa (E.C. 3.2.1.1.) y fosfatasa ácida (E.C. 3.1.3.2.) en hembras caprinas de raza Murciano-Granadina en fases de tercera gestación y tercera lactación.

Las tomas de muestras se realizaron con periodicidad mensual, durante cuatro meses para las hembras en fase de gestación y siete meses para las que estaban en fase de lactación.

Los valores medios de actividad enzimática de α -amilasa en la fase de gestación se sitúan en $35'88 \pm 10'99$ UI/l, y para la fase de lactación en $29'03 \pm 12'15$ UI/l, siendo estas diferencias significativas ($p < 0'05$).

Los niveles medios de actividad enzimática de fosfatasa ácida en hembras gestantes se situaron en $1'39 \pm 0'47$ UI/l y, para las hembras en lactación en $1'25 \pm 0'31$ UI/l, siendo estas diferencias significativas ($p < 0'05$).

Las diferencias de ambas actividades enzimáticas con relación a los estados fisiológicos de gestación y lactación ponen de manifiesto el interés de un estudio más amplio de cara al diagnóstico clínico basado en estos enzimas.

Palabras clave: cabras multíparas, gestación, lactación, α -amilasa, fosfatasa ácida.

SUMMARY

It has been carried out a study in order to determine activities of α -amylase (E.C. 3.2.1.1.) and acid phosphatase (E.C. 3.1.3.2.) in female goats of the Murciano-Granadine breed, during the phase of the third gestation and third lactation.

Samples were taken out monthly during four months for females in the gestation period and during seven months for females in the phase of lactation.

The mean value of α -amylase activity in the gestation period is 35.88 ± 10.99 IU/l, and during the phase of lactation is 29.03 ± 12.15 IU/l. This difference is significant ($p < 0.05$).

The mean value of acid phosphatase activity in females during the gestation period is 1.39 ± 0.47 IU/l and for females in the lactation period is 1.25 ± 0.31 IU/l. This difference is significant ($p < 0.05$).

In the case of both enzymatic activities, differences with regard to physiological conditions merit a more detailed study that may be useful for clinic diagnostic.

Key words: goats, does, gestation, lactation, α -amylase, acid phosphatase.

INTRODUCCIÓN

En contraste con la tendencia regresiva del censo caprino en España durante las últimas décadas, la raza Murciano-Granadina ha incrementado su porcentaje dentro de la cabaña caprina nacional (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1984) debido en gran medida a su adecuada adaptación a los diversos sistemas de explotación y a los distintos medios ambientales.

El objetivo del presente trabajo es contribuir al establecimiento de valores referenciales de la actividad catalítica de diversas enzimas en esta raza, entre las que destacan dos especialmente poco estudiadas, la α -amilasa y la fosfatasa ácida durante la tercera gestación y la tercera lactación.

Con ello se pretende conocer con precisión la actividad enzimática en condiciones normales y estudiar sus posibles variaciones en cuanto a la situación fisiológica del animal. Ello permitiría aplicar estos conocimientos al diagnóstico clínico en una raza de importancia ganadera creciente.

MATERIAL Y MÉTODO

Se ha trabajado con 44 hembras caprinas procedentes de la Estación de Mejora Ganadera (EMEGA) de Guadalupe (Murcia), agrupadas en dos lotes de 22 animales cada uno, con edades comprendidas entre 3'5 y 4 años de edad, en fases de tercera gestación y tercera lactación y que no evidenciaron alteraciones patológicas durante el desarrollo de la experiencia. Las condiciones de alimentación y manejo fueron las que normalmente se llevan a cabo en el EMEGA.

Las cubriciones se efectuaron durante los meses de octubre-noviembre, permaneciendo las hembras con los machos en régimen de monta natural. En la fase de gestación sólo se han tenido en cuenta los valores de actividad enzimática en aquellas hembras que parieron como consecuencia de primera o segunda cubrición en el celo siguiente (margen de 20 días, aproximadamente).

Las extracciones se realizaban a primera hora de la mañana (8 a.m.) con los animales en ayunas para no alterar el régimen productivo de la explotación. Las cabras eran introducidas en

la sala de ordeño para su posterior sujeción en los comederos con el fin de facilitar las tomas de sangre.

Las tomas de sangre se practicaron con una periodicidad mensual durante 4 meses para hembras gestantes, intentando interferir lo menos posible en los períodos críticos de esta fase, que son los días siguientes a la cubrición y en el período previo al parto. Para hembras lactantes se realizaron 7 tomas también con periodicidad mensual.

Las extracciones de sangre se llevaron a cabo con sistema vacutainer (tubos venoject) por punción yugular, previa desinfección de la zona. Los tubos posteriormente eran numerados e identificados y llevados al laboratorio para la obtención de los sueros y su posterior procesamiento. El suero problema obtenido por centrifugación era posteriormente dispensado en alícuotas para su análisis. Las muestras de fosfatasa ácida fueron determinadas en el mismo día de la extracción, manteniendo los sueros problema en refrigeración a 4 °C (máximo 12 horas hasta su análisis (STAHR, 1977). La determinación de la actividad enzimática de α -amilasa se realizó siempre dentro de los 7 días consecuentes a la fecha de extracción y obtención de sueros. Durante este tiempo las muestras fueron mantenidas en congelación a -20 °C en ningún caso el tiempo de almacenamiento excedió de 15 días (STAHR, 1977; KANEKO, 1980). Las alícuotas por duplicado y para cada enzima fueron de 100 μ l.

Para la determinación de la actividad enzimática se han utilizado técnicas espectrofotométricas indicadas en el seguimiento de las reacciones enzimáticas debido a la simplicidad del ensayo y a la precisión conseguida (HOLME y PECK, 1983). Además se ha empleado una combinación estabilizada de enzimas y metabolitos en estado liofilizado como sueros control (Key-trol, ITC Diagnostics).

La determinación de α -amilasa (E.C. 3.2.1.1) se ha llevado a cabo mediante reacción cinética U.V., basada en la técnica de NIX et al. (1978) utilizando un substrato sérico y soluble de almidón, mientras que la actividad catalítica de fosfatasa ácida (E.C. 3.1.3.2) se ha analizado por reacción cinética colorimétrica basada en la técnica de HILLMANN (1971) para determinación de fosfatasa ácida total y prostática en suero.

El estudio estadístico se ha fundamentado en

el cálculo de los estadísticos básicos (tamaño de la muestra, media, mediana, moda, media geométrica, varianza, desviación standard, error standard de la media, valores máximo y mínimo, rango y coeficiente de variación). Asimismo, se ha llevado a cabo un análisis de comparación de dos muestras mediante la prueba t de STUDENT para confrontar los valo-

res obtenidos de una misma enzima en diferentes fases.

Algunos de estos estadísticos básicos se muestran gráficamente en las figuras 1 y 2 («Notched box and whisker plot»), en donde la extensión de la caja es proporcional a la raíz cuadrada del número de observaciones realizadas, agrupando al 50% del total de los datos

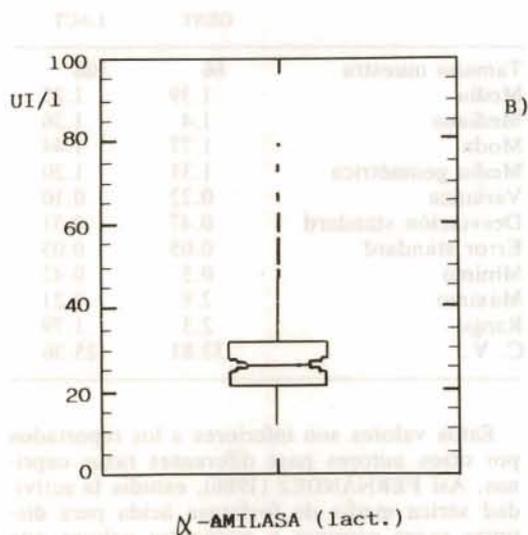
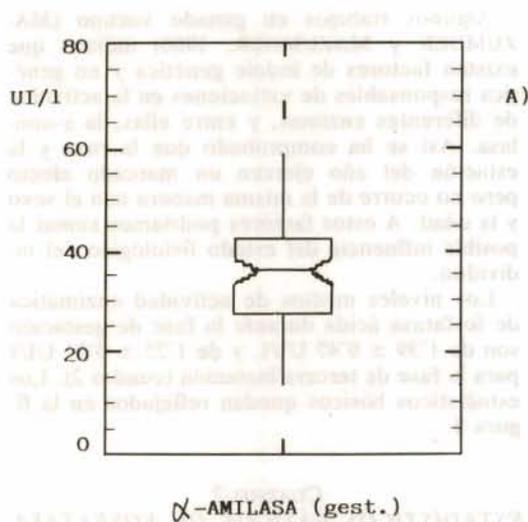


FIGURA 1. «Notched box and whisker plots» para α -AMILASA en fase de tercera gestación (A) y en tercera lactación (B).

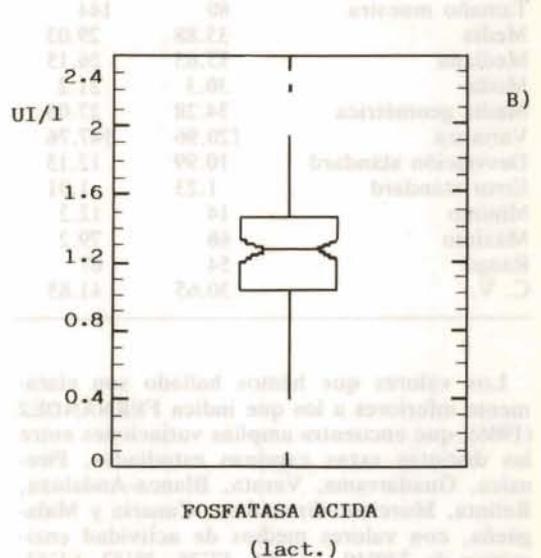
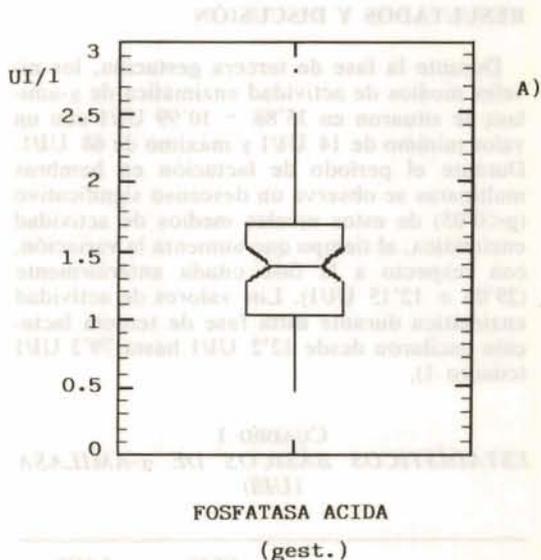


FIGURA 2. «Notched box and whisker plots» para FOSFATASA ÁCIDA. A) fase de tercera gestación. B) fase de lactación.

obtenidos, la muesca de la caja («notched») representa la extensión del intervalo de confianza para la mediana, y las barras verticales («whiskers») se extienden hacia los valores máximo y mínimo, quedando los valores extremos dibujados como puntos separados. (Statgraphics, IBM, 1986.)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la fase de tercera gestación, los niveles medios de actividad enzimática de α -amilasa se situaron en 35.88 ± 10.99 UI/l con un valor mínimo de 14 UI/l y máximo de 68 UI/l. Durante el período de lactación en hembras multíparas se observa un descenso significativo ($p < 0.05$) de estos niveles medios de actividad enzimática, al tiempo que aumenta la variación, con respecto a la fase citada anteriormente (29.03 ± 12.15 UI/l). Los valores de actividad enzimática durante esta fase de tercera lactación oscilaron desde 12.2 UI/l hasta 79.2 UI/l (cuadro 1).

CUADRO 1
ESTADÍSTICOS BÁSICOS DE α -AMILASA (UI/l)

	GEST.	LACT.
Tamaño muestra	80	144
Media	35.88	29.03
Mediana	35.65	26.15
Moda	30.3	21.2
Media geométrica	34.28	27.06
Varianza	120.96	147.76
Desviación estándar	10.99	12.15
Error estándar	1.23	1.01
Mínimo	14	12.2
Máximo	68	79.2
Rango	54	67
C. V.	30.65	41.85

Los valores que hemos hallado son claramente inferiores a los que indica FERNÁNDEZ (1986), que encuentra amplias variaciones entre las distintas razas caprinas estudiadas, Pirenaica, Guadarrama, Verata, Blanca-Andaluza, Retinta, Murciano-Granadina, Canaria y Malagueña, con valores medios de actividad enzimática de 240.19, 113.87, 47.78, 38.32, 61.43, 146.31, 55.38 y 56.64 UI/l, respectivamente.

De nuestros datos ya se deduce que esta enzima presenta actividades muy variables de unos individuos a otros, por lo que no resulta

extraño que se adviertan también variaciones en los datos de FERNÁNDEZ (1986). No obstante aún no hay estudios detallados sobre las fuentes de estas variaciones tan ostensibles.

La α -amilasa es una enzima de actividad variable en otras especies, como así ocurre en el hombre (SCHMIDT y SCHMIDT, 1967), en ovinos (SAINZ et al., 1975), y en cánidos y équidos (KANEKO, 1980).

Algunos trabajos en ganado vacuno (MAZUMDER y MAZUMDER, 1986) indican que existen factores de índole genética y no genética responsables de variaciones en la actividad de diferentes enzimas, y entre ellas, la α -amilasa. Así se ha comprobado que la raza y la estación del año ejercen un marcado efecto pero no ocurre de la misma manera con el sexo y la edad. A estos factores podríamos sumar la posible influencia del estado fisiológico del individuo.

Los niveles medios de actividad enzimática de fosfatasa ácida durante la fase de gestación son de 1.39 ± 0.47 UI/l, y de 1.25 ± 0.31 UI/l para la fase de tercera lactación (cuadro 2). Los estadísticos básicos quedan reflejados en la figura 2.

CUADRO 2
ESTADÍSTICOS BÁSICOS DE FOSFATASA ÁCIDA (UI/l)

	GEST.	LACT.
Tamaño muestra	66	108
Media	1.39	1.25
Mediana	1.4	1.26
Moda	1.77	1.44
Media geométrica	1.31	1.20
Varianza	0.22	0.10
Desviación estándar	0.47	0.31
Error estándar	0.05	0.03
Mínimo	0.5	0.42
Máximo	2.8	2.21
Rango	2.3	1.79
C. V.	33.81	25.36

Estos valores son inferiores a los reportados por otros autores para diferentes razas caprinas. Así FERNÁNDEZ (1986), estudia la actividad sérica media de fosfatasa ácida para distintas razas caprinas y encuentra valores que oscilan entre 3.57 UI/l en cabras Veratas y 5.17 UI/l en animales de raza Retinta. Se podría pensar que la raza es un factor que influye en esta variación, pero CHIOFALO et al. (1982) encontraron en su estudio sobre razas caprinas

Tibetana y Tibetana × Maltesa, que la actividad de la fosfatasa ácida presenta una mayor dispersión a nivel individual que entre grupos raciales.

Otro de los factores que parece influir en estas variaciones es la edad de los individuos (aunque éste no es nuestro caso). Así BOGUIN et al. (1981) observan la existencia de diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) en los niveles de fosfatasa ácida entre cabras jóvenes y adultas de raza israelita (5.6 ± 1.7 mU/ml y 3.4 ± 1.1 mU/ml, respectivamente). Esta disminución de la actividad de fosfatasa ácida con la edad ya ha sido detectada desde hace tiempo en la especie humana (RICHTERICH et al., 1969) y en ovinos, tanto en machos como en hembras (SAINZ et al., 1976).

Como conclusión, los resultados obtenidos en este trabajo intentan ofrecer una información básica de los niveles de actividad enzimática de α -amilasa y fosfatasa ácida en el suero de hembras caprinas de la raza Murciano-Granadina y muestra la necesidad de un adecuado conocimiento del estado sexual en que se halle el animal a estudiar, ya que los valores de actividad catalítica de ambas enzimas varían significativamente durante las fases de gestación y lactación en hembras múltiparas.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro mayor reconocimiento a los directores técnicos del EMEGA don Francisco Marqués López y don Ángel Poto Remacha por su apoyo y colaboración desinteresada.

BIBLIOGRAFÍA

ANUARIO DE ESTADÍSTICA AGRARIA. 1984. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

- BOGUIN, E.; SHIMSHONY, A.; AVIDAR, Y.; ISRAELI, B. 1981. Enzymes, metabolites and electrolytes levels in the blood of local Israeli goats. *Zbl. Vet. Med. A* 28: 135-140.
- CHIOFALO, L.; MAGISTRI, C.; PUGLIESE, A.; DOMINA, F.; CATARSINI, O. 1982. Profilo metabolico dei caprini. Nota III: Comportamento di alcuni enzimi (GDH, LDH, MDH, FAl, FAc, GPT, GOT, Che). *Sci. Vet.* 3: 221-229.
- FERNÁNDEZ, J. M. 1986. Hematología clínica, perfil metabólico, minerales y oligoelementos séricos de las razas caprinas autóctonas españolas. *An. Vet. (Murcia)* 2: 121-133.
- HILLMANN, G. 1971. Fortlaufende photometrische Messung der Sauren Prostataphosphatase-Aktivität. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 9: 273-274.
- HOLME, D. J.; PECK, H. 1983. Analytical biochemistry. Longman, London.
- KANEKO, J. J. 1980. Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press, New York.
- MAZUMDER, A.; MAZUMDER, N. K. 1986. Serum amylase (EC. 3.2.1.1) activity and some factor influence the enzyme in crossbred cattle. *Ind. J. Anim. Sci.* 56: 34-38.
- NIX, P. T.; GOLDFARB, R. D.; STONG, L. J.; MORGENSTERN, S.; TRIVEDI, R. C. 1978. A new method for determination of α -amylase. *Clin. chem.* 24: 1.000.
- RICHTERICH, R. 1969. Clinical chemistry. Theory and practice. Academic Press, New York.
- SAINZ, J.; CASTEJÓN, F.; RAMÍREZ, A.; ASENSIO, J.; CASTEJÓN, F.; GARCÍA, A.; CABANAS, J.; CONTRERAS, P.; PARDO, J. A. 1975. Determinación de los valores normales de la actividad de diversos enzimas del plasma sanguíneo. II. Amilasa sérica. *An. Fac. Vet. Zaragoza*, 10: 153-166.
- 1976. Determinación de los valores normales de la actividad de diversos enzimas del plasma sanguíneo. III. Fosfatasas. *An. Fac. Vet. Zaragoza* 11: 81-100.
- SCHMIDT, E.; SCHMIDT, F. W. 1967. Release of enzymes from the liver. *Nature* 213: 1.125-1.126.
- STHAR, H. M. (1977). Analytical toxicology methods manual. Iowa State Univ. Press, Ames.