

Absorción de gopisol en ratas y cerdos¹

J. EDGAR BRAHAM², ALBA GLORIA CAÑAS³ Y RICARDO BRESSANI⁴
Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
Guatemala, C. A.

RESUMEN

Se estudió en ratas y cerdos el efecto de la administración por vía oral o intraperitoneal de dosis altas de gopisol. En los ensayos con cerdos se usó harina de algodón como fuente de gopisol, y en las ratas, harina y aceite crudo de algodón. Se trató de determinar también la posible relación existente entre el nivel proteínico de la dieta y la toxicidad del gopisol administrado.

En general, los resultados no revelaron relación entre los efectos tóxicos de este compuesto y el valor proteínico de la dieta, ya que se presentaron casos de mortalidad a todos los niveles de proteína utilizados. Otro fenómeno observado en todos los casos fue que la cantidad del gopisol ingerido o inyectado que se recuperó en los órganos y en las heces de los animales fue mayor que la cantidad ingerida en lo que se refiere a gopisol libre, mientras que la recuperación de gopisol total fue de ciento por ciento. La mayor cantidad excretada se obtuvo en las heces de los animales que llegaron al final del período experimental, y en el contenido gastrointestinal en el caso de aquellos que murieron antes de que el período fijado para la prueba llegase a su término.

En base de los resultados obtenidos surge la posibilidad de que ocurra una hidrólisis del gopisol total a gopisol libre en el tracto gastrointestinal,

1 Este trabajo se llevó a cabo con asistencia financiera de la Fundación W. K. Kellogg, con sede en Battle Creek, Michigan, Estados Unidos de América.

2 Jefe Asistente de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

3 Parte de los datos que aquí se presentan fueron recabados por la señorita Cañas durante la elaboración de su trabajo de tesis previo a obtener el título de Doctora en Química y Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de El Salvador. Dicha investigación la llevó a cabo en los laboratorios de la citada División, como becaria del INCAP.

4 Jefe de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.
Publicación INCAP E-480.

Recibido: 10-11-1970

lo que explicaría la mayor cantidad de gósipol libre que en estos estudios se obtuvo en el contenido gastrointestinal y en las heces de los animales investigados. Se llega así a la conclusión de que es muy necesario estudiar más a fondo este campo, si se desea esclarecer el problema que sirvió de base al trabajo aquí descrito.

INTRODUCCION

El gósipol constituye el principal pigmento de la semilla y de la harina de algodón, restringiendo el uso de esta última en la nutrición animal, ya que el pigmento produce efectos tóxicos en los animales monogástricos, particularmente en los cerdos (1-3). A pesar de que la toxicidad aguda del gósipol es relativamente baja, cuando se ingieren cantidades excesivas durante cierto tiempo, éstas pueden ocasionar la muerte del animal. En orden decreciente de sensibilidad, los animales más susceptibles a su toxicidad son: el conejo, el cerdo, el perro y las aves (4).

Varios investigadores han descrito los efectos tóxicos del gósipol en aves (5-7) y cerdos (8), así como la patología de su toxicidad en cerdos (9-11). Sin embargo, se sabe relativamente poco acerca del mecanismo de esa toxicidad.

Clawson y colaboradores (9-12) llevaron a cabo determinaciones de gósipol libre y total, así como de hierro, en hígados de cerdos alimentados con raciones que contenían esos factores, habiendo establecido que el gósipol se encontraba en relación directa, y el hierro en relación inversa al gósipol total ingerido. Smith (10) informó haber aislado gósipol en forma cristalina de hígado de cerdos que consumieron raciones de harina de algodón con altos niveles de gósipol. Por el contrario, Bressani y colaboradores (13) determinaron la absorción de gósipol en perros alimentados con dietas que contenían 38% de harina de algodón, encontrando que el gósipol se excretaba casi cuantitativamente, y que había de 10 a 15 mg menos de gósipol total en las heces que el ingerido. Dichos autores también observaron que en las heces había 3.5 veces más gósipol libre que en la ingesta, hecho sugerente de cierta liberación del gósipol ligado, por hidrólisis.

Usando gósipol radiactivo, Lyman *et al* (14) dieron cuenta de que alrededor del 85% de la radiactividad se encontraba en las heces de pollos alimentados con gósipol marcado, y que cerca del 15% estaba distribuida en varios tejidos, siendo el

hígado el órgano que acusaba la mayor parte de esa radiactividad.

En otros estudios, Braham y colaboradores por un lado (15) y Ferguson *et al* por el otro (16), notificaron que ciertas enzimas séricas o hepáticas no presentaban alteraciones en animales que consumían gosipol, a pesar de que Clawson *et al.* (9) encontraron gosipol en los tejidos de los animales bajo estudio.

Los datos disponibles en la literatura relativa a la toxicidad del gosipol, así como la información derivada de los pocos estudios que se han llevado a cabo sobre los mecanismos de su toxicidad, no aportan resultados conclusivos. Asimismo, los hallazgos de los estudios de absorción hasta ahora publicados sugieren que sólo se absorben pequeñas cantidades de gosipol, lo cual pone en duda la capacidad tóxica del gosipol *per se*. La susceptibilidad de varios animales al gosipol y otros hallazgos al respecto sugieren que el gosipol es tóxico sólo cuando simultáneamente existen otras condiciones, entre las cuales la deficiencia de lisina es una de las más probables (17).

En vista de lo expuesto se emprendió el estudio que a continuación se describe, con el propósito de conocer más a fondo la absorción de gosipol y su presencia en órganos y productos metabólicos de ratas y cerdos.

MATERIALES Y METODOS

Absorción de Gosipol en Ratas

Experimento 1. Absorción de gosipol inyectado intraperitonealmente

Para este experimento se usaron 12 ratas macho, distribuidas en dos grupos de 6 animales cada uno, cuyo peso oscilaba entre 220 y 240 g en el caso del primer grupo, y entre 175 y 210 g en el segundo. Todas ellas fueron alimentadas con dietas de dos niveles proteínicos diferentes, 20 y 30% de proteína para el primer grupo y para el segundo, respectivamente, por un período total de 20 días.

El plan de trabajo se desarrolló como sigue. Los animales de experimentación fueron alojados en jaulas metabólicas, recogiendo heces diariamente y mezclando cuando era ne-

cesario las de días consecutivos, hasta obtener un cantidad adecuada para análisis.

Después de 6 días de estar sujetos a las condiciones experimentales descritas, a cada rata se aplicó por vía intraperitoneal una dosis de una solución que contenía 12 mg de gosipol puro en aceite de algodón. En esta forma se les inyectó un total de tres dosis de 1 cc cada una, que contenía 4 mg de gosipol libre. Las inyecciones se hicieron en días alternos hasta completar la cantidad total de 3 cc de solución. A los 20 días se sacrificaron los animales y se llevó a cabo la determinación de gosipol total en el contenido gastrointestinal y en el hígado, por el método colorimétrico de la A.O.C.S. (18).

En el segundo grupo, el cual fue alimentado con la dieta que contenía 30% de proteína, se varió ligeramente la concentración de la solución oleosa de gosipol inyectando 4 mg de gosipol en 0.5 cc de aceite por cada dosis, esto es, un total de 12 mg en 1.5 cc de solución. Esta se administró por la misma vía durante los tres días señalados.

Experimento 2.

En otro experimento, continuación del anterior, se utilizaron 18 ratas albinas adultas, repartidas en tres grupos de 6 cada uno, que fueron alimentadas con niveles proteínicos diferentes: 10, 20 y 30%, respectivamente. El peso de los animales de los grupos I y II fluctuaba entre 315 y 400 g, y el del grupo III entre 306 y 380 gramos.

La dosis total a inyectar se redujo de 12 mg a 9 mg/rata y se aplicaron tres inyecciones de 3 mg en 0.5 cc cada una, siempre en aceite puro de algodón.

Previo a la inyección de la primera dosis, todos los animales incluidos en el ensayo se mantuvieron en proceso de adaptación por un término de seis días, durante los cuales se les recogieron las heces cada dos días, y se llevó un control diario del alimento y del peso de cada rata. A los animales sobrevivientes se les mantuvo en observación durante 20 días, al cabo de los cuales se sacrificaron para análisis del hígado y para determinación del contenido gastrointestinal de gosipol libre y total.

A las ratas que murieron durante el período experimental se les practicó autopsia con el fin de realizar los análisis señalados.

Durante todo el período experimental se contó con un grupo testigo de 6 ratas experimentales, a las que se les inyectó únicamente aceite puro de algodón. Después del período fijado los animales fueron sacrificados y sus órganos y tejidos analizados.

Experimento 3. Absorción del gosispol ingerido

En este estudio se usaron 45 ratas de ambos sexos, cuyo peso oscilaba entre 130 g y 250 g, las cuales fueron distribuidas en nueve grupos de 5 ratas cada uno y alojadas en jaulas individuales a temperatura ambiente. Todos los animales se sometieron a entrenamiento durante varias semanas con el fin de que consumieran una cantidad fija de dieta en una hora, que fue de aproximadamente 15 g. Después de varios días de aplicar este sistema se cambió esta dieta por la ración experimental, que estaba compuesta de harina de algodón (78 mg % de gosispol), 90 g; minerales (19), 4 g; aceite refinado de algodón, 5 g; aceite de hígado de bacalao, 1 g, y solución de vitaminas (20), 5 ml.

El estudio se llevó a cabo en un solo día. En este lapso los animales tuvieron acceso al comedero que contenía 15 gramos de la dieta durante una hora, al cabo de la cual se retiró el alimento. Una hora después se sacrificaron las ratas del grupo I, a las dos horas las del grupo II; a las tres horas las del grupo III; a las cuatro horas, el grupo IV; a las seis horas, el grupo V; a las ocho horas, el grupo VI; a las doce horas, el grupo VII; a las veinticuatro horas el grupo VIII, y a las veintiocho horas, el grupo IX. A cada animal se le extrajo el estómago y se separó el contenido estomacal, el intestino delgado y el contenido del mismo, así como el intestino grueso y su respectivo contenido, según la hora en que fue sacrificada cada rata y de la parte del tracto digestivo en que se encontrara el material ingerido. Así, para el grupo I, la mayor parte del material estaba en el estómago y en el intestino, con sus respectivos contenidos; de la segunda, tercera, cuarta, quinta y sexta muestras se tomó el contenido y tejido respectivo de las tres partes, esto es, estómago, intestino delgado e intestino grueso; de la séptima, octava y novena muestras, únicamente se tomó el intestino grueso y su contenido y el intestino delgado y el estómago, sin sus respectivos contenidos. Las ratas de los grupos VIII y IX ya habían excretado heces, pero, por

ser estas cantidades pequeñas, se adicionaron al contenido del intestino grueso.

Todo el material obtenido fue homogeneizado, liofilizado y pesado individualmente para determinación del gosipol libre y total. También hubo que pesar el sobrante de cada comedero para establecer la cantidad exacta de dieta consumida por cada rata, ya que por el cambio de dieta no todas ingirieron la misma cantidad.

Además se determinó por análisis la cantidad de gosipol de la dieta y, a partir de ese valor, la cantidad en miligramos ingerida por cada rata. Los contenidos del estómago de diferentes muestras fueron analizados individualmente; sin embargo, las muestras de los demás órganos tuvieron que unirse en una sola muestra para cada grupo, con el fin de disponer de una cantidad suficiente para los análisis respectivos.

Absorción de Gosipol en Cerdos

En este ensayo se emplearon 14 cerdos de la raza Duroc-Jersey cuya edad fluctuaba entre 10 y 12 semanas, los que se alojaron en pocilgas individuales provistas de comederos firmemente colocados para evitar que la ración fuese derramada. Al principio del estudio se les entrenó durante una semana a que ingirieran diariamente en un período de 30 minutos 300 g de una ración apropiada para satisfacer sus requerimientos, comenzando por períodos mayores de tiempo y acortando éstos progresivamente, hasta alcanzar ese límite. Al cabo de la semana, es decir, estando ya entrenados los animales, se les sometió a ayuno por 24 horas, y 12 horas antes del día señalado para el estudio se les aplicó un enema de agua tibia para que desalojaran del intestino grueso todo el material sin digerir que habían consumido en días anteriores. A las 7:30 a.m. del siguiente día se colocó en los comederos la ración experimental que contenía harina de algodón (80 mg de gosipol por 100 gramos de muestra), 92 g; cloruro de sodio, 2 g; y aceite de algodón, 6 g. A cada 200 gramos de esta ración se les agregó 100 gramos de maíz molido.

Después de 30 minutos se retiró el alimento de los comederos y se pesó el sobrante. Se les dejó media hora más para que consumieran la mayor cantidad posible de la ración y 30 minutos después de haber retirado el comedero por segunda vez, se sacrificaron los dos cerdos integrantes de la primera

muestra, extrayéndoles el material ingerido que estaba totalmente aún en el estómago. Dos horas más tarde se sacrificaron los dos animales correspondientes a la segunda muestra, extrayendo el material del estómago y del intestino delgado; se procedió en la misma forma con los animales de las otras muestras a las 3, 4, 5, 7 y 9 horas, respectivamente. En el grupo sacrificado a las 9 horas ya no se encontró material en el estómago, sino únicamente en el intestino delgado y en el grueso.

Todo este material fue recogido en frascos debidamente rotulados, luego se homogeneizó con una cantidad adecuada de agua para obtener una muestra representativa, la cual fue liofilizada para determinación de gosipol libre y total. También se estableció el contenido de humedad del mismo con el fin de conocer el peso total del material seco. Además, el sobrante de cada comedero fue pesado para establecer la cantidad exacta del material ingerido.

RESULTADOS

Ensayos Efectuados en Ratas

En el Cuadro N° 1 se presenta la composición de las tres dietas con diferente contenido proteínico que se utilizaron en los estudios de absorción de gosipol inyectado a ratas. Los resultados obtenidos en cuanto al efecto del nivel proteínico sobre la absorción del gosipol se expresan en los Cuadros Nos. 2 y 3 en el caso del experimento N° 1, y en el Cuadro N° 4 para el experimento N° 2.

Como se aprecia en los grupos alimentados con 20 y 30% de proteína, la recuperación del gosipol inyectado fue principalmente a través de su excreción por las heces en los animales sobrevivientes, ya que dos del grupo alimentado con la dieta que contenía 20% de proteína murieron durante el período experimental. En estas ratas la mayoría del gosipol recuperado se localizó en el contenido gastrointestinal, hallazgo que fue general para todos los experimentos en que se usaron ratas como animales de prueba. En lo referente a los órganos, la distribución y el porcentaje de recuperación del gosipol inyectado se dan a conocer particularmente en el Cuadro N° 2.

CUADRO Nº 1

COMPOSICION DE LAS RACIONES UTILIZADAS EN LOS EXPERIMENTOS CON RATAS

Ingredientes	Raciones		
	1	2	3
Caseína, g	11.20	22.40	33.60
Minerales ¹ , g	4.00	4.00	4.00
Aceite de algodón, g	5.00	5.00	5.00
Aceite de hígado de bacalao, g	1.00	1.00	1.00
Alphacel ² , g	7.00	7.00	7.00
Almidón de maíz, g	71.80	60.60	49.40
Solución de vitaminas ³ , ml	5	5	5

¹ Mezcla de minerales Hegsted (19).

² Celulosa purificada, Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, E.U.A.

³ Manna, L. & S. M. Hauge (20).

CUADRO N° 2

RECUPERACION DEL GOSIPOL LIBRE INYECTADO A RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA DE 20% DE PROTEINA

Rata No.	Aumento ponderal g	Gosipol libre inyectado ¹ mg	Gosipol libre recuperado							
			Heces	C.G.I. ² (Expresado en mg)	Hígado	Total	Heces	C.G.I. (Expresado en %)	Hígado	Total
1	-18	12	6.28	1.37	2.42	10.07	52.33	11.39	20.20	83.92
2	-14	12	3.53	3.79	2.92	10.24	29.42	31.53	24.33	85.28
3*	-48	12	-	10.03	2.38	12.41	-	83.58	19.83	103.41
4	- 3	12	3.79	6.65	3.40	13.84	31.58	55.42	28.33	115.33

¹ Dosis inyectada = 12 mg de gosipol.

² C. G. I. = Contenido gastrointestinal.

* La rata N° 3 murió después de recibir la primera dosis que contenía solamente 8 mg de gosipol.
La rata N° 5 recibió las tres dosis y murió 6 días después de administrársele la última de ellas.
Rindió 52% de recuperación.

CUADRO N° 3

RECUPERACION DEL GOSIPOL LIBRE INYECTADO A RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA DE 30%
DE PROTEINA

Rata No.	Gosipol inyectado mg	Gosipol total recuperado							
		Heces	C.G.I. ¹ (Expresado en mg)	Hígado	Total	Heces	C.G.I. (Expresado en %)	Hígado	Total
1	12	-	5.00	1.24	6.24	-	41.67	10.33	52.00
2	12	2.64	7.03	1.05	10.72	22.00	58.58	8.75	89.33
3	12	-	2.85	0.88	3.73	-	23.75	7.33	31.08
4	12	10.20	1.89	2.19	14.28	85.00	15.85	18.25	119.00
5	12	-	5.74	0.44	6.18	-	47.83	3.67	51.50
6	12	-	6.00	1.24	7.24	-	50.00	10.33	60.33

¹ C. G. I. = Contenido gastrointestinal.

Como ya se indicó, en el Cuadro N° 3 se presentan los resultados obtenidos en el grupo de animales que consumieron la dieta con 30% de proteína. Los hallazgos concernientes a la recuperación del gosipol inyectado son semejantes a los que acusó el experimento anterior. Es evidente que la mayor recuperación de este elemento se encontró en el contenido gastrointestinal, ya que en este caso no hubo excreción de heces debido al escaso alimento que consumieron diariamente, excepto en el caso del animal sobreviviente, en el que la mayor recuperación se obtuvo en las heces.

Desde el primer día de la inyección se observó un descenso en el peso de los animales, puesto que éstos casi no consumían alimento; también se pudo notar cierto estado depresivo en algunas ratas, así como señales de hemorragia en los ojos, la nariz y la boca. Además, el consumo de agua decreció considerablemente. En el lugar de inyección de la solución oleosa se formó en algunas ratas un quiste de consistencia dura, que fue aumentando de tamaño a medida que transcurrieron los días.

Las ratas sobrevivientes llegaron al décimo día del plan experimental y empezaron a mostrar signos de retorno del apetito y a pasar heces, aunque en poca cantidad. Luego fueron sacrificadas y se pudo observar que los intestinos presentaban un aspecto anormal, ya que estaban totalmente hemorrágicos; el hígado también era de color oscuro, casi negro, con pequeñas manchas blanquecinas, y los pulmones y el corazón estaban congestionados.

Las ratas que contenían quistes revelaron necrosis local en el sitio de inyección, y parte del aceite inyectado estaba retenido en el quiste, es decir, que aquél no llegó a la cavidad intraperitoneal.

El hígado, corazón y pulmones presentaban también los mismos síntomas ya enunciados. Las ratas que murieron antes de finalizar el experimento mostraron, asimismo, características semejantes.

La mortalidad total al término del experimento fue de 58%. La tasa más alta ocurrió en el grupo alimentado con 30% de proteína, ya que en este grupo únicamente sobrevivió un animal que se dejó vivir el tiempo necesario hasta no detectar gosipol en las heces. Esto requirió 20 días y luego fue sacri-

ficado, extrayéndosele el hígado y el contenido gastrointestinal para los análisis respectivos.

En el Cuadro N^o 4 se dan a conocer los resultados del experimento en el que se usaron los tres niveles proteínicos, esto es: 10, 20 y 30% de proteína, simultáneamente. De nuevo los datos obtenidos corroboraron los hallazgos anteriores en lo que a la recuperación de gosipol se refiere. La mayor cantidad recuperada, expresada en base del por ciento de la ingesta, señala que cuando los animales sobrevivieron, el gosipol se recuperó sobre todo en las heces excretadas. En el caso de las ratas que murieron antes de finalizar el experimento, la mayor parte del gosipol recuperado se localizó en el contenido gastrointestinal. La cantidad de gosipol en el hígado fue mayor cuando los animales sobrevivieron, si bien el nivel proteínico de la dieta no tuvo ninguna influencia sobre la absorción del gosipol bajo las condiciones del presente ensayo.

Los resultados obtenidos en el experimento N^o 3, en que se estudió el comportamiento del gosipol en varios órganos y en diferentes períodos, se detallan en el Cuadro N^o 5. Los datos indican, por un lado, que la excreción total del gosipol libre fue alrededor de 2.5 veces mayor que la ingesta. Por otra parte, la concentración en los diferentes órganos parece presentar la siguiente tendencia. Como era de esperar, en el estómago disminuye en función del tiempo hasta llegar a valores de cero; en el intestino grueso aumenta a medida que transcurre el tiempo, mientras que en el intestino delgado permanece más o menos constante. Estos valores descriptivos se presentan en base absoluta salvo la excreción total, que fue calculada como porcentaje de la ingesta. Esta, aunque no igual para todos los grupos, fue bastante similar, pudiéndose observar en la Gráfica 1 la tendencia de la excreción de gosipol libre de los diferentes órganos analizados.

Ensayos efectuados en Cerdos

Los resultados del experimento que se llevó a cabo en cerdos usando la metodología ya descrita, se detallan en el Cuadro N^o 6, donde se observa que los hallazgos en cuanto a recuperación del gosipol libre fueron similares a los obtenidos en las pruebas con ratas. La cantidad de gosipol total excretada fue igual a la ingerida y la recuperación de gosipol libre en los diferentes órganos, similar a la que acusaron las ratas,

RECUPERACION TOTAL DEL GOSIPOL INYECTADO¹ POR LAS RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS DE TRES NIVELES PROTEINICOS

Grupos ²	Rata No.	Proteínas %	Gosipol excretado							
			Heces	Hígado (Expresado en mg)	C.G.I.	Total	Heces	Hígado (Expresado en %)	C.G.I.	Total
I	1	10	0.92	0.61	6.63	8.16	10.27	6.67	73.67	90.61
	2	10	9.95	1.46	0.73	12.14	110.55	16.22	8.11	134.88
	4	10	9.65	3.56	1.34	14.55	107.22	39.56	14.88	161.66
	5	10	7.83	2.03	1.48	11.34	87.00	22.56	16.44	126.00
II	2	20	8.95	2.47	1.58	13.00	99.44	27.44	17.55	144.43
	3	20	7.50	1.24	1.50	10.24	83.33	13.78	16.67	113.78
	6	20	3.37	1.03	4.74	9.14	37.44	11.44	52.66	101.54
III	4	30	6.43	1.35	1.20	8.98	71.44	15.00	13.33	99.77
	5	30	6.18	2.68	1.17	10.03	68.67	29.78	13.00	111.45
	6	30	9.07	2.15	1.55	12.77	100.78	23.89	17.22	141.89
I	3	10	-	-	6.09	6.09	-	-	67.67	67.67
	6	10	-	-	5.75	5.75	-	-	63.89	63.89
II	1	20	0.91	-	5.17	6.08	10.10	-	57.44	67.54
	4	20	1.02	-	7.24	8.26	11.33	-	80.44	91.77
	5	20	0.56	0.36	6.90	7.82	6.22	4.00	76.67	86.89
III	1	30	5.09	-	4.27	9.36	56.56	-	47.44	104.00
	2	30	1.17	0.51	3.44	5.12	13.00	5.67	38.22	56.89
	3	30	1.20	1.00	3.14	5.34	13.33	1.11	34.89	49.33

¹ Dosis inyectada = 9 mg de gosipol.

² Los tres primeros grupos son de ratas sobrevivientes, y los tres últimos grupos, de ratas que murieron antes de terminar el experimento.

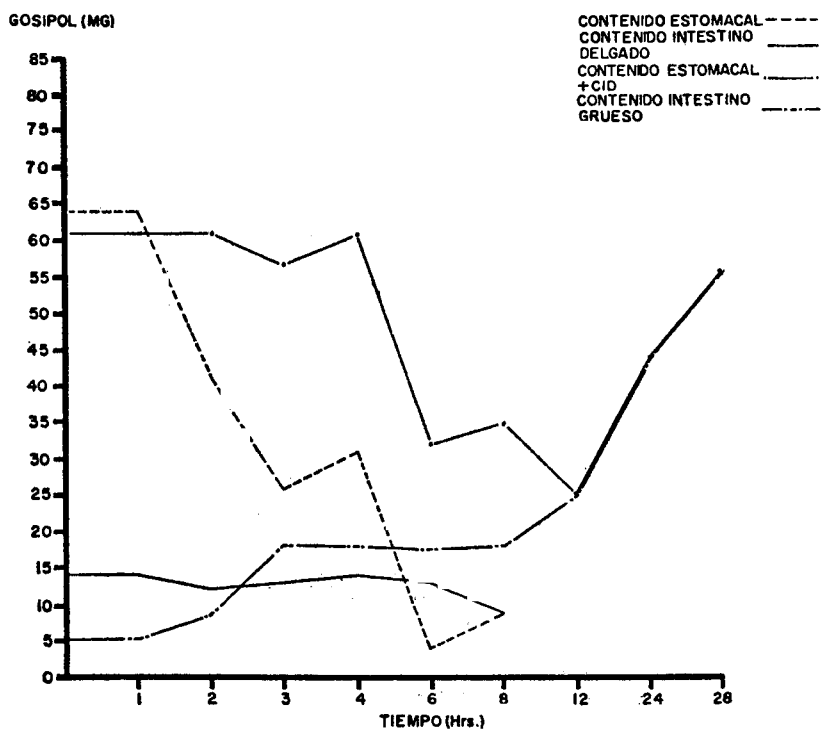
CUADRO Nº 5
RECUPERACION DEL GOSIPOL LIBRE INGERIDO POR RATAS, A DIFERENTES LAPROS

Grpno No.	Sacrificio hr	Gosipól libre, mg				Total	Porcentaje en base de ingesta
		Ingesta	Estómago	Intestino delgado	Intestino grueso		
I	1	30.87	64.11	14.12	4.97	83.20	269.52
II	2	21.25	40.71	11.63	8.50	60.84	286.30
III	3	20.56	25.89	13.39	27.88	67.16	326.65
IV	4	26.05	31.01	14.39	15.56	60.96	234.01
V	5	27.43	4.02	13.11	14.73	30.86	112.50
VI	8	20.57	8.62	8.14	18.31	35.07	170.49
VII	12	19.89	-	-	25.17	25.17	126.55
VIII	24	21.94	-	-	44.43	44.43	202.51
IX	28	41.15	-	-	56.35	56.35	136.94

CUADRO N° 6
RECUPERACION DEL GOSIPOL LIBRE Y TOTAL INGERIDO POR LOS CERDOS

Cerdo No.	Sacrificio hr.	Gosipol libre, mg					Gosipol total, mg				
		Ingesta	Contenido estomacal	Contenido intestinal	Total	Recuperación %	Ingesta	Contenido estomacal	Contenido intestinal	Total	Recuperación %
12	1	129.0	116.0	-	116.0	89.92	1,827.6	1,459.4	-	1,459.0	79.85
13	1	127.5	116.2	-	116.2	91.14	1,806.9	1,565.5	-	1,566.0	86.67
4	2	128.2	117.3	121.4	238.7	186.20	1,816.6	1,412.9	293.1	1,706.0	93.91
9	2	128.4	112.0	131.5	243.5	189.64	1,819.7	1,434.0	321.9	1,756.0	96.50
10	3	128.0	97.1	173.8	270.9	211.64	1,813.0	1,317.8	378.8	1,697.0	93.60
14	3	127.7	98.9	227.1	326.0	255.30	1,808.7	1,345.1	579.7	1,925.0	106.00
3	4	126.9	102.7	177.0	279.7	220.41	1,798.3	1,334.1	601.7	1,936.0	107.66
8	4	127.4	71.2	264.6	335.8	263.58	1,805.0	939.4	690.7	1,630.0	90.30
2	5	124.1	88.2	164.8	253.0	203.87	1,758.8	1,191.7	482.6	1,674.0	95.18
11	5	126.1	79.3	197.5	276.8	219.51	1,786.8	1,141.1	566.5	1,708.0	95.59
5	7	121.3	74.9	236.2	311.1	256.47	1,719.2	778.5	681.2	1,460.0	84.92
6	7	119.2	84.6	140.7	225.3	189.01	1,688.7	921.3	513.2	1,434.0	84.92
1	9	88.0	40.6	211.7	252.3	286.70	1,246.4	290.4	1,200.5	1,491.0	119.62
77	9	107.6	52.7	230.2	282.9	262.92	1,524.8	574.6	856.1	1,431.0	93.85
Total		1,709.4			3,528.2		24,220.5			22,873.0	
Promedio		122.1			252.0		1,730.0			1,634.0	

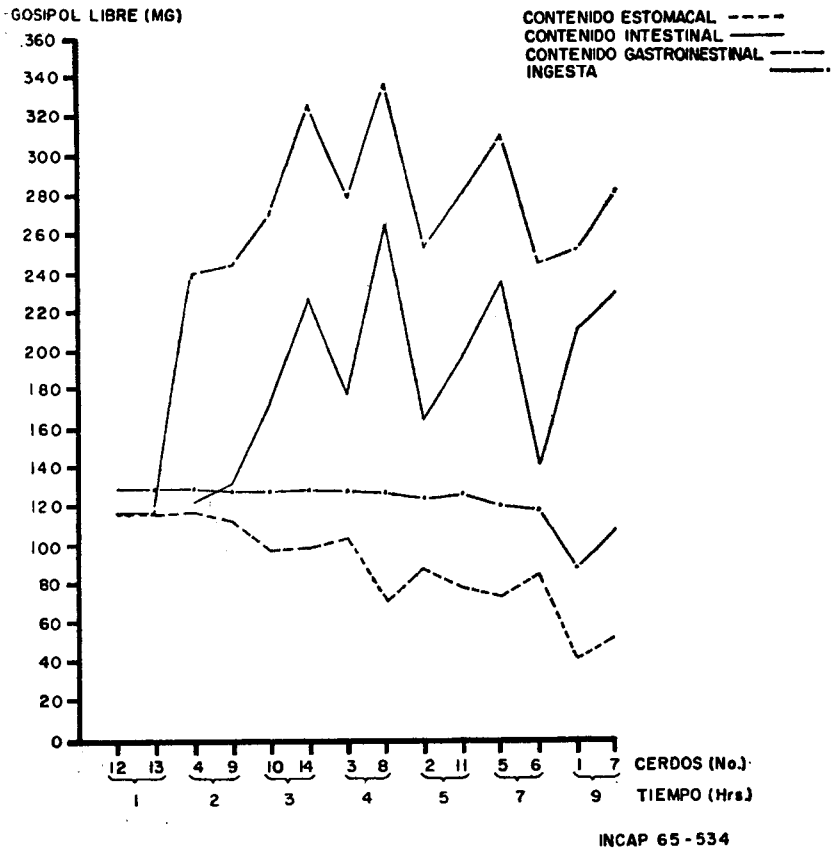
GRAFICA 1



INCAP 65-532

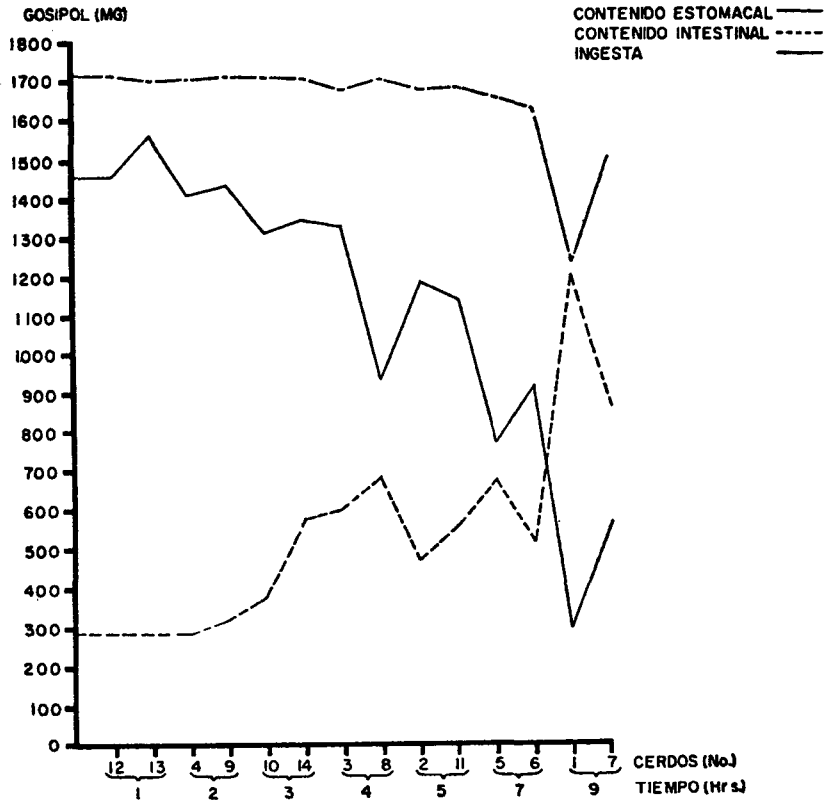
Contenido de gossipol libre, a diferentes períodos, en diversos órganos de las ratas.

GRAFICA 2



Contenido de gossipol libre en el tracto gastrointestinal de cerdos.

GRAFICA 3



INCAP 65-533

Contenido de gosipol total en el tracto gastrointestinal de cerdos.

no sólo en lo referente a tendencia en relación con el tiempo, experimento la ingesta fue prácticamente igual para todos los sino también en cuanto a la cantidad total excretada. En este grupos, pudiendo apreciarse en las Gráficas 2 y 3 la tendencia de la excreción del gopipol libre de los diferentes órganos.

DISCUSION

El efecto del gopipol sobre el organismo de animales monogástricos se conoce en términos de toxicidad en general, ya que los síntomas resultantes de su ingesta ofrecen cierta especificidad relativa que ha dificultado la determinación del lugar y del mecanismo de acción de este pigmento. A ello debe agregarse el problema que entraña la presencia de otros principios activos en la semilla de algodón, cuya toxicidad puede ser aún mayor que la del gopipol (21). Otro factor importante es el hecho de que el gopipol libre es fisiológicamente activo mientras que el gopipol en forma ligada no lo es, debido a que la combinación del pigmento con moléculas proteínicas o con compuestos de alto peso molecular produce complejos de quelación que no son absorbidos por la pared intestinal. Por estas razones, el primer paso a seguir en el estudio de la toxicidad de estos compuestos debe ser, lógicamente, la determinación de su absorción en el tracto gastrointestinal, aspecto del cual se ocupa el presente trabajo.

Como se detalla en el capítulo precedente, la recuperación de gopipol libre excedió en algunos casos a la ingesta. Bressani y colaboradores (13) han obtenido resultados similares en perros, los cuales parecen indicar que o bien la absorción de gopipol libre al nivel intestinal es muy baja o que parte del gopipol ligado sufre cierto proceso hidrolítico durante el cual se obtiene gopipol libre, el cual se excreta en las heces. Como en el caso de otros compuestos químicos, el hierro, por ejemplo, es posible que la pared intestinal tenga un límite de absorción después del cual el compuesto en cuestión no se absorbe más y es excretado en las heces.

Los factores de hidrólisis y límites de absorción citados explican hasta cierto punto los resultados obtenidos por Bressani *et al.* (13) en sus experimentos en perros, en los que el gopipol ingerido era mezcla de gopipol libre y ligado. En los estudios que se detallan en este trabajo, sin embargo, se les

administró a las ratas gosipol libre únicamente. La hipótesis de que ciertos procesos hidrolíticos sean los responsables del aumento de gosipol libre excretado en las heces no es válida en este caso. Evidentemente, no puede llevarse a cabo hidrólisis del gosipol ligado cuando éste no existe, y aun cuando parte del gosipol libre pueda ser ligado al ponerse en contacto con el medio intestinal y luego liberarse por la acción de los mismos jugos digestivos, los resultados de su recuperación no podrían de ninguna manera sobrepasar el 100%. Esto sin tomar en cuenta que una parte del gosipol libre, por mínima que ésta sea, debe absorberse, ya que de otro modo no podría explicarse la presencia de síntomas de toxicidad atribuidos al gosipol, como son la congestión hepática y pulmonar y la insuficiencia cardíaca. Las hemorragias intestinales que han sido descritas como síntomas de toxicidad del gosipol, y que fueron observadas en algunos de los animales usados en el presente estudio, bien pueden haberse debido al efecto irritante del pigmento sobre la pared intestinal, siendo el efecto, por lo tanto, local y no sistémico. Este efecto irritante se observó sobre todo en los animales a los que se les inyectó el gosipol libre y se generalizó al hígado, estómago y otros órganos. El hecho de haber obtenido recuperaciones de más del 100% del gosipol libre ingerido no excluye, por lo tanto, la posibilidad de que parte del gosipol haya sido absorbido, ya que de otro modo no podría explicarse la presencia del pigmento en el hígado de los animales que lo ingirieron.

Desde un punto de vista puramente hipotético podría pensarse que el gosipol libre absorbido puede excretarse de nuevo al intestino delgado por medio de la bilis; sin embargo, los valores de gosipol libre en esta última fueron extraordinariamente bajos. Este hecho indica que o bien existe una excreción demasiado lenta del pigmento que no podría alterar significativamente la cantidad excretada por las heces o que en la reacción química de determinación del gosipol la cantidad y variedad de los pigmentos biliares interfieren u obscurecen la reacción del gosipol.

Los estudios *in vitro* de Bressani y colaboradores (1) han demostrado que las harinas de algodón tienen mayores cantidades de gosipol libre a un pH ácido que cuando estos productos se llevan a un pH alcalino. Ello puede ser el resultado de un proceso de hidrólisis del gosipol total presente en la

harina de algodón o de cambios en otros pigmentos que ésta contiene y que en el proceso de determinación química en el laboratorio reaccionan de manera semejante al gossipol. Estos hallazgos, *in vitro*, bien podrían suceder también *in vivo*, ya que el gossipol que contiene el aceite crudo o la harina de algodón atraviesa por una fase de acidez al llegar al estómago, para luego ser neutralizada en el intestino delgado. Durante este proceso podrían ocurrir cambios irreversibles en los diferentes pigmentos de la semilla de algodón, con el consiguiente aumento de pigmentos que químicamente se comportarían como el gossipol; por lo tanto, la determinación de este último arrojaría resultados más altos que los verdaderos. El hecho de que se haya encontrado pigmentos aun en el grupo control, que no recibió gossipol, confirma la falta de especificidad del método usado. Esta falta de especificidad no invalida, sin embargo, la posibilidad de cambios en los pigmentos contenidos en la harina de algodón como se ha postulado anteriormente, ya que el mismo método analítico se usó en la determinación del gossipol en el alimento y en el material biológico obtenido.

No cabe duda alguna de que el problema de absorción del gossipol requiere aún de investigaciones intensas que debido, tanto a la composición compleja de la fuente, esto es, harina o aceite crudo de algodón, como a la del sitio de acción, es decir, del tracto gastrointestinal, hacen muy difícil aislar en forma selectiva los agentes causales que permitan determinar con certeza la relación existente entre dichos agentes.

SUMMARY

Gossypol absorption in rats and pigs

In order to study the toxic effects of gossypol, several species of monogastric animals were given, either orally or intraperitoneally, high doses of gossypol. Pigs and rats were fed cottonseed oil meal as the source of the pigment. The possible relationship between protein level in the diet and the toxicity of gossypol was also studied.

In general the results indicated that there was no relationship between the toxic effects of gossypol and the protein level fed in the diet, since there was a high mortality rate in all groups regardless of the level of protein fed. In all cases the amount of free gossypol found in the feces and organs of the experimental animals was higher than the intake, while the recovery of total gossypol was a hundred percent. The highest amount of excreted gossypol was found in the feces of those animals that reached

the end of the experimental period and in the gastro-intestinal content in those animals that died during the experimental period.

On the basis of these results, it is concluded that there is a possibility that total gossypol is hydrolized to free gossypol in the intestinal tract, which would explain the high amount of free gossypol found in the feces and gastro-intestinal content of the animals.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Bressani, R., L. G. Elías, R. Jarquín & J. E. Braham.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. XIII. Effect of cooking mixtures containing cottonseed flour on free gossypol content. *Food Technol.*, 18: 1599-1603, 1964.
- (2) Hale, F., C. M. Lyman & H. A. Smith.—Use of cottonseed meal in swine rations. *Texas Agr. Experiment. Station Bull. No. 898*, 1958, 14 p.
- (3) Hale, F. & C. M. Lyman.—Effect of protein level in the ration on gossypol tolerance in growing fattening pigs. *J. Animal Sci.*, 16: 364-369, 1957.
- (4) Bressani, R.—Composición química y usos de la torta de algodón. *Temas Nutricionales para el Agricultor. N° 9*, Guatemala, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), 1959. (Serie de Publicaciones de Educación Nutricional.)
- (5) Couch, J. R., W. Y. Chang & C. M. Lyman.—The effect of free gossypol on chick growth. *Poultry Sci.*, 34: 178-183, 1955.
- (6) Lillie, R. J. & H. R. Bird.—Effect of oral administration of pure gossypol and pigment glands of cottonseed on mortality and growth of chicks. *Poultry Sci.*, 29: 390-393, 1950.
- (7) Boatner, C. H., A. A. Altschul, G. W. Irving Jr., E. F. Pollard & H. C. Schaefer.—The nutritive value of cottonseed for chicks as affected by methods of processing and content of pigment glands. *Poultry Sci.*, 27: 315-318, 1948.
- (8) Kornegay, E. T., A. J. Clawson, F. H. Smith & E. R. Barrick.—Influence of protein source on toxicity of gossypol in swine rations. *J. Animal Sci.*, 20: 597-602, 1961.
- (9) Clawson, A. J., F. H. Smith & E. R. Barrick.—Determination of gossypol and iron in the liver of pigs fed rations containing cottonseed meals of varying gossypol content. *J. Animal Sci.*, 19: 1254, 1960 (Extracto).
- (10) Smith, F. H.—Isolation of gossypol from tissue of porcine livers. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 40: 60-61, 1963.
- (11) Smith, H. A.—The pathology of gossypol poisoning. *Am. J. Pathol.*, 33: 353-362, 1957.
- (12) Clawson, A. J., F. H. Smith & E. R. Barrick.—Accumulation of gossypol in the liver and factors influencing the toxicity of injected gossypol. *J. Animal Sci.*, 21: 911-915, 1962.
- (13) Bressani, R., L. G. Elías & J. E. Braham.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. XV. Studies in dogs on the absorption of gossypol from cottonseed flour-containing vegetable protein mixtures. *J. Nutrition*, 83: 209-217, 1964.

- (14) Lyman, C. M.—The role of gossypol. En: **Proceedings of a Conference on Cottonseed Protein Concentrates. Held at New Orleans, Louisiana, January 15-17, 1964.** United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Washington, D. C., U.S.D.A., April 1965, p. 55-61. (ARS-72-38)
- (15) Braham, J. E., R. Jarquín, L. G. Elías, M. González & R. Bressani. Effect of calcium and gossypol on the performance of swine and on certain enzymes and other blood constituents. *J. Nutrition*, 91: 47-54, 1967.
- (16) Ferguson, T. M., J. R. Couch & R. H. Rigdon.—Histopathology of animal reactions to pigment compounds - chickens. En: **The Chemistry of Gossypol.** Proceeding of the Conference on the Chemical Structure and Reactions of Gossypol and Nongossypol Pigments of Cottonseed. Sponsored by the National Cottonseed Products Association, Inc., the National Cotton Council of America, the Southern Utilization Research and Development Division, United States Department of Agriculture, New Orleans, Louisiana, March 19-20, 1959. Dallas, Texas, National Cottonseed Products Association, Inc., 1959, p. 131-141.
- (17) Conkerton, E. J. & V. L. Frampton.—Reaction of gossypol with free ϵ -amino groups of lysine in proteins. *Arch. Biochem. Biophys.*, 81: 130-134, 1959.
- (18) Association of Official Agricultural Chemists. **Official and Tentative Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists.** 2nd. ed. Washington, D. C., 1945-1950.
- (19) Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart.—Choline in the nutrition of chicks. *J. Biol. Chem.*, 138: 459-466, 1941.
- (20) Manna, L. & S. M. Hauge.—A possible relationship of vitamin B₁₂ to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, 202: 91-96, 1953.
- (21) Lyman, C. M., A. S. El Nockrashy & J. W. Dollahite.—Gossyverdurin: a newly isolated pigment from cottonseed pigment glands. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 40: 571-575, 1963.