

## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO GOSSIPOL EM CAPRINOS MACHOS

Márcia Aparecida Andreazzi\*  
Marcia Edilaine Lopes Consolaro\*

### Resumo

O estudo propõe-se investigar a relação existente entre o uso do caroço de algodão como componente da ração de animais ruminantes e a qualidade do sêmen, a série vermelha do sangue e a função hepática e renal.

### Abstract

The study aims to investigate the relation extant between the use of the cotton kernel as component of the tumenat animals ration and the quality of the semen, the red series of the blood and the liverwort and renal function.

### Introdução

Muitos pecuaristas da Região Noroeste do Paraná poderiam alimentar os animais com semente de algodão integral, pois produzem algodão em elevada escala. KUTCHES et al (1987), afirmaram que a semente de algodão integral pode ser considerada a única fonte de matéria prima que contém moderados teores de proteína, fibra com elevada digestibilidade e altos teores de energia

metabolizável, sendo ideal para compor a ração para várias espécies animais. Porém a qualidade nutricional de um alimento depende da composição e da disponibilidade de nutrientes, bem como da presença de substâncias antinutricionais (DURIGAN, 1990).

A composição química dos alimentos varia de acordo com fatores, como clima, solo e variedade de plantas (TAFURI & RODRIGUES, 1984). CLAWSON et al (1975) afirmaram que a semente de algodão contém cerca de 26% de Proteína Bruta e 25% de óleo, o que caracteriza um elevado teor de energia. LINDSEY et al (1980) observaram que o farelo de algodão contém de 40% a 50% de proteína bruta, sendo, portanto, uma excelente fonte de proteína para bovinos.

Todavia, a semente de algodão contém uma toxina denominada de gossipol ( $C_{30}H_{30}O_8$ ), um pigmento polifenólico amarelo, natural, presente no caroço de algodão, que é uma potente toxina que causa anormalidade nas organelas celulares, interfere nos processos bioquímicos e inibe a atividade de várias enzimas (BEAUDOIN, 1985), afetando principalmente, de maneira multiforme, o sistema reprodutivo, podendo levar os animais à infertilidade (BEAUDOIN, 1985; GU et al 1990). Sua toxicidade pode ser atribuída à interferência na utilização de elementos minerais, formando complexos estáveis com cátions, como o  $Fe^+$ , podendo causar anemia (ABOU-

\* Mestres em Farmacologia. Docentes da UNIPAR

DONIA, 1970). Combina-se, através de seus grupos carbonila com proteínas e aminoácidos, sendo o principal fator de toxicidade e de seu efeito acumulativo progressivo nos tecidos dos animais VINNE (1992).

LINDSEY et al (1980) levantaram a hipótese de os ruminantes também sofrerem processo de intoxicação por gossipol. DANKE et al (1985) haviam observado que o gossipol produzia, em ovinos, intoxicação semelhante àquela observada em monogástricos. Em pesquisa realizada com gado leiteiro, uma vaca morreu com suspeita de intoxicação por gossipol (VINNE, 1992). WILLIS, citado por VINNE (1992), salientou que se pode esperar problemas de reprodução, quando pecuaristas utilizam grandes quantidades de semente de algodão, farelos ou ambos na dieta. VINNE (1992) também relatou que touros de engorda produziram sêmen de reduzida qualidade, sugerindo que touros com acesso à semente de algodão podem ser menos férteis.

Contudo, ANDERSON et al (1979) salientaram que não existiam pesquisas suficientemente esclarecedoras sobre o uso de semente de algodão natural na alimentação de bovinos.

## 1. Objetivos

Este trabalho foi realizado com o objetivo de se estudar o efeito tóxico do gossipol contido no caroço de algodão (CA), em caprinos machos, sobre a avaliação do índice de anormalidades espermáticas totais (IAT), leves (IAL) e graves (IAG); avaliação da série vermelha do sangue, através do valor de hematócrito e fragilidade osmótica dos eritrócitos; avaliação da função hepática, através de dosagens plasmáticas de fosfatase alcalina, transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO), transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e histologia hepática; avaliação da função renal através de dosagens plasmáticas de uréia e creatinina e avaliação clínica "post-mortem".

## 2. Materiais e Métodos

**2.1. Animais experimentais:** foram utilizados 10 caprinos da raça Saanen (mestiços), com idade média de 1 ano e três meses, durante o período experimental de 1 ano.

**2.2. Tratamentos:** Os animais foram divididos, aleatoriamente, em 2 grupos de 5 animais cada um, como segue:

SCA: grupo que recebeu ração balanceada, formulada sem CA.

CCA: grupo que recebeu ração balanceada, formulada com 30 % de CA.

**2.3. Coletas e análises de sêmen:** Foram realizadas 6 coletas de sêmen, mensais, pelo método da vagina artificial, próprio para caprinos, descrito por HAFEZ (1982). O índice de anormalidades espermáticas totais (IAT), leves (IAL) e graves (IAG) foi analisado de acordo com MIES FILHO (1987).

### 2.4. Coletas de sangue para avaliação da série vermelha

**2.4.1. Análise do valor de hematócrito.** As coletas de sangue foram realizadas no início, meio e fim do experimento; o material foi processado e avaliado o valor de hematócrito de acordo com CARVALHO (1983).

**2.4.2. Análise da fragilidade dos eritrócitos.** Esta análise foi realizada subjetivamente, através da observação visual, conforme GRAY et al (1993), em que cada amostra de plasma foi observada quanto ao seu grau de hemólise, sendo classificada de acordo com sua coloração, e pontuada conforme mostra a escala abaixo:

- 1 - coloração palha = amostra não hemolisada;
- 2 - coloração laranja = amostra levemente hemolisada;
- 3 - coloração vermelha = amostra totalmente

hemolisada.

**2.5. Provas plasmáticas de função hepática.** O procedimento adotado para dosagem dos níveis plasmáticos de fosfatase alcalina, transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) foi através de técnica enzimática colorimétrica, com uso de kits específicos.

**2.6. Provas plasmáticas de função renal.** O procedimento adotado para dosagem dos níveis plasmáticos de uréia e creatinina foi doseamento enzimático colorimétrico, com uso de kits específicos.

**2.7. Avaliação clínica “post-mortem”.** No final do período experimental, os animais foram abatidos e suas carcaças e vísceras foram submetidas à avaliação clínica pós-mortem.

**2.8. Avaliação da histologia hepática.** Foram preparados cortes histológicos do fígado seguindo-se as recomendações de MAIA (1979) e LEPRI & NATALI (1992).

**2.9. Análise estatística.** A análise estatística foi realizada pelo Método dos Quadrados Mínimos, através do Sistema Computacional SAEG, versão 5.0.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Índice de anormalidades espermáticas (IAT), leves (IAL) e graves (IAG).

VITRAL & GUERRA (1986) afirmaram que o gossipol atua de maneira multiforme no epitélio espermato gênico, provocando principalmente alterações estruturais nos espermátócitos e espermátides, que podem ser decorrentes da exfoliação das células de Sertoli, causada pelo gossipol. Os dados obtidos nesse experimento com relação à alteração estrutural dos espermatozoides, o IAT, IAL e IAG, são demonstrados na TABELA 1.

PARÂMETRO OBSERVADO	CCA (%)	SCA (%)
IAT	31,11	35,11
IAL	23,80	25,35
IAG	7,30	7,88

**Tabela 1.** Índice Médio de Anormalidades Espermáticas Totais (IAT), Leves (IAL) e Graves (IAG) de caprinos alimentados com e sem caroço de algodão.

De acordo com os resultados, não foram observadas diferenças entre os tratamentos. Os valores encontrados concordam com MIES FILHO (1987), que afirma que o IAT pode apresentar valores de até 30 %, desde que a maioria das anormalidades sejam leves.

#### 3.2. Avaliação da série vermelha do sangue

**3.2.1. Valor de hematócrito.** Os resultados médios dos hematócritos foram de 33% para o SCA e 30% para o CCA, sem diferenças. De modo geral, a faixa considerada normal para ruminantes adultos varia de 25% a 35% (MARÇAL, 1989), mas, para caprinos, varia de 24% a 48% (CIFFONI, 1993).

Pesquisas realizadas com ruminantes que receberam dieta contendo FA ou CA (ASELTINE, 1990), citaram redução na taxa de hemoglobina sanguínea; outros estudos (RISCO et al, 1992), observaram modesta redução do hematócrito e da hemoglobina, mas foram consideradas taxas normais, o que, em parte, está de acordo com os resultados deste estudo.

**3.2.2. Fragilidade dos eritrócitos.** Conforme observamos nos resultados (TABELA 2), não houve diferenças entre os tratamentos, porém, na classificação ‘2’ - plasma levemente hemolisado. Notamos uma acentuada redução dos valores para o tratamento CCA. Os valores da porcentagem de hemólise variaram de 53,33 % para o CCA e 46,67 % para o SCA, que são valores dentro da normalidade, pois,

de acordo com COPPOCK et al (1985), a porcentagem de lise dos eritrócitos para ruminantes pode variar de 55,5% a 77,4 %.

Apesar de não termos observado diferenças

entre os tratamentos, ressaltamos que esta é uma técnica subjetiva, e que os valores encontrados podem ser decorrentes também de variações ocorridas na própria coleta e manipulação do material.

CLASSIFICAÇÃO	PONTOS	CCA (%)	SCA (%)
NÃO HEMOLISADO	1	46,67	53,33
LEVEMENTE HEMOLISADO	2	20,00	6,67
TOTALMENTE HEMOLISADO	3	33,33	40,00
TOTAL		100	100

**Tabela 2.** Média do grau de fragilidade dos eritrócitos de caprinos machos alimentados com e sem CA (%).

### 3.3. Provas plasmáticas de função hepática.

Os testes de função hepática são exames bioquímicos que permitem detectar lesão hepatocelular através do doseamento de enzimas.

O aumento da atividade de determinadas enzimas hepáticas no soro pode refletir alterações de hepatócitos. As fosfatases alcalinas são enzimas cujas elevações séricas refletem primariamente colestase e as transaminases (TGO e TGP). São enzimas cujas elevações séricas refletem necrose hepatocelular.

**3.3.1 Fosfatase alcalina.** É um grupo heterogêneo de enzimas que possuem a habilidade de reagir sobre um número relativamente grande de substratos. A atuação principal desses compostos parece ser a de promover a hidrólise de fosfomonoésteres. Adicionalmente, a fosfatase alcalina parece interferir no transporte de diferentes açúcares e fosfatos na mucosa intestinal, no osso e nos túbulos renais (KACHMAR & MOSS, 1976).

COPPOCK et al (1985), dosaram vários metabólitos no soro de vacas em lactação que

receberam 0,15% e 30 % de CA na ração, e encontraram valores médios de 29,0, 29,2 e 29,9 IU/L de fosfatase alcalina, respectivamente. Como podemos observar (TABELA 3), os valores médios obtidos neste trabalho são superiores aos citados pelo referido autor; entretanto, CIFFONI (1993), relatou como valores normais para fosfatase alcalina em caprinos juvenis de 12 a 298 IU/L e para adultos de 9 a 131 IU/L, o que nos permite afirmar que todos os animais apresentavam-se normais quanto aos níveis de fosfatase alcalina, não tendo ocorrido efeito do tratamento.

**3.3.2. TGO.** Esta enzima presente no soro e em tecidos de vários animais, geralmente é encontrada com elevada atividade em músculos esquelético e cardíaco, parênquimas hepático e renal, pâncreas, eritrócitos e sistema nervoso central.

Os dados achados nesse estudo (TABELA 3), mostram um elevado nível de TGO para o grupo CCA = 20,73, comparado ao SCA = 15,53, semelhante ao trabalho de COPPOCK et al (1985)

que reportaram um aumento no nível de TGO de 50,7 para 54,7 IU/L para vacas alimentadas com 0% e 30% de CA, respectivamente. Apesar de ambos os valores estarem dentro dos parâmetros normais, que são de 4 a 36 UI/L, elevações do nível de TGO podem ser observadas em casos de intoxicação por drogas (AUGUSTINSSON, 1971).

**3.3.3. T G P.** Na prática, esta enzima tem sido considerada bastante específica para o diagnóstico de lesões hepáticas, pois, apesar da sua

distribuição bastante variada nos diversos tecidos e órgãos, a alta concentração no parênquima hepático permite que seja assumida uma certa especificidade na interpretação dos resultados elevados.

De acordo com a média geral encontrada para TGP (TABELA 3), não houve diferenças entre os grupos, estando os valores de acordo com a literatura consultada, que cita como níveis normais para TGP de 4 a 36 UI/L (AUGUSTINSSON, 1971).

	1º COLETA		2º COLETA		3º COLETA		MÉDIA	
	CCA	SCA	CCA	SCA	CCA	SCA	CCA	SCA
METABÓLITOS								
FOSF. ALCAL. (U/I)	46,77	41,94	50,17	49,5	62,60	64,90	53,18	52,11
TGO (U/ml)	15,60	12,80	23,40	16,60	23,20	17,20	20,73	15,53
TGP (U/ml)	6,00	4,80	10,20	11,60	11,60	9,40	9,30	8,60
URÉIA (mg/dl)	9,06	7,30	8,30	7,80	8,34	9,60	8,60	8,20
CREATININA (mg/dl)	0,82	0,87	1,08	1,07	1,20	1,20	1,03	1,05

**Tabela 3.** Nível plasmático médio de metabólitos sanguíneos de caprinos machos alimentados com e sem caroço de algodão. \* FOST. ALCAL.= FOSFATASE ALCALINA; TGO= TRANSAMINASE GLUTÂMICO-OXALOACÉTICO; TGP= TRANSAMINASE GLUTÂMICO-PIRÚVICA

### 3.4. Provas plasmáticas de função renal

**3.4.1. Uréia e creatinina:** habitualmente a dosagem de uréia é realizada em associação à dosagem de creatinina sérica, sendo útil para a avaliação da função de filtração glomerular.

A uréia, que é sintetizada principalmente no fígado, é o produto final do metabolismo de proteínas e aminoácidos, constituindo-se na principal forma de excreção de nitrogênio do organismo. Ela é livremente filtrada pelos glomérulos renais e cerca de 40% a 80%

da quantidade filtrada é reabsorvida, o restante é eliminado na urina. O fator determinante da reabsorção tubular de uréia é o fluxo urinário. À medida que o fluxo se reduz, ocorre aumento da reabsorção.

A creatinina é o produto final da degradação da creatina que, por sua vez, é a forma de reserva energética do músculo e outros tecidos, por atuar como acceptora de fosfato, formando fosfocreatina. Sua síntese é iniciada no rim, intestino delgado e pâncreas e se completa no fígado, sendo, então, distribuída para

o organismo.

A creatinina é livremente filtrada pelos glomérulos renais normais, não ocorrendo, em condições fisiológicas, significativa secreção ou reabsorção tubular; portanto, o maior determinante do nível sérico de creatinina é a função da filtração glomerular.

Como podemos observar, os valores médios achados para os níveis de uréia e creatinina não demonstraram diferenças entre os grupos SCA e CCA (TABELA 3). COPPOCK et al (1985), trataram vacas de leite com 0,15% e 30 % de CA e encontraram valores crescentes, significativos de 13,3, 15,4 e 18,1 mg de uréia/dl, respectivamente. Para creatinina, relataram 1,30, 1,29 e 1,24 mg/dl, respectivamente, sem diferenças. Conforme CIFFONI (1993) os valores normais para caprinos são 13mg a 28mg de uréia/ dl e 0,9 a 1,8 mg de creatinina/ dl. A redução da concentração de uréia plasmática observada para ambos os grupos pode ser decorrente de dieta pobre em proteínas e/ou rica em gorduras, hiperhidratação ou doença hepática aguda ou crônica (BREMNER & RECTOR, 1981)

### 3.5. Avaliação clínica “*post-mortem*”

Na avaliação clínica “*post-mortem*”, encontraram-se as seguintes alterações nos grupos experimentais:

SCA: petéquias renais, áreas hemorrágicas no fígado e enfisema pulmonar.

CCA: petéquias renais, áreas hemorrágicas no fígado, enfisema pulmonar, pontos de necrose no pulmão e petéquias pulmonares.

Em função de os achados clínicos “*post-mortem*” serem semelhantes em ambos os tratamentos, acredita-se que todos os animais (SCA e CCA) estavam sofrendo algum outro tipo de influência, o que descarta que tais alterações sejam decorrentes da ação do gossipol.

### 3.6. Avaliação da histologia hepática

Vários autores afirmam que um dos pontos de ação do gossipol é o fígado (ABOU-DONIA, 1970, VITRAL et al, 1986). Porém, na avaliação histológica hepática (MO), observamos, em ambos os tratamentos, os seguintes resultados:

- discretas alterações do citoplasma celular dos hepatócitos, que mostravam aumento de tamanho e perda da acidofilia, porém, os núcleos apresentavam-se normais;
- não foram evidenciadas formações vacuolares distintas de citoplasma;
- em vários cortes evidenciou-se o revestimento sinusoidal, bem como uma celularidade aumentada de espaços, nos quais foram verificados elementos de natureza inflamatória, mononucleares em pequeno número;
- pequenos acúmulos de elementos inflamatórios no espaço sinusoidal (lecocitostase), com presença de elementos granulocíticos;
- discreto grau de congestão passiva tanto na veia porta, como também, nas veias centro-lobulares.

Esses resultados demonstram que não houve efeito do gossipol sobre a histologia hepática, entretanto, mais uma vez se confirma que todos os animais estavam sofrendo outros tipos de influências, talvez sanitárias.

### Conclusões

Nas condições em que o experimento foi realizado, conclui-se que:

- 1) os índices de anormalidades espermáticas não foram afetados pelo tratamento com CA;
- 2) não houve efeito do tratamento com CA sobre a avaliação da série vermelha do sangue;
- 3) nas provas de função hepática não houve diferenças quanto aos níveis de fosfatase alcalina e TGP, porém observaram-se valores de TGO mais elevados para os animais do grupo CCA;
- 4) as provas de função renal evidenciaram

valores normais para creatinina; entretanto, os níveis de uréia para ambos os tratamentos apresentaram-se reduzidos, provavelmente devido ao tipo de ração empregada no experimento;

5) os animais não apresentaram alterações na avaliação clínica “*post-mortem*” e na histologia hepática decorrente do tratamento.

Em função dos achados neste estudo, podemos concluir que o uso de caroço de algodão na ração de animais ruminantes não afetou a qualidade do sêmen, a série vermelha do sangue e a função hepática e renal, evidenciando que esses animais talvez possuam vias próprias de inativação do gossipol ou que o algodão produzido na Região Noroeste do Paraná possua baixos níveis dessa droga, não causando nenhum problema quanto ao seu consumo “*in natura*” por essa categoria animal, até o nível de inclusão na ração de 30%.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABOU-DONIA, M. B.; LYMAN, C.M.; DIECKERT, J.W. Metabolite fate of gossypol: The metabolism of <sup>14</sup>C-gossypol in rats. *Lipids*, 5 : 939, 1970.
2. ANDERSON, M.J.; KHOYLOO, M.; WALTERS, J.L. Effects of feeding whole cottonseed on intake, body weight, and reticulorumen development of young Holstein calves. *Journal Dairy Science*, Champaign, 65 : 764, 1982.
3. ASELTINE, M. Whole cottonseed has physiological effects on dairy cows. *Feedstuffs*, New York, 62 : 16, 1990.
4. AUGUSTINSSON, K. B. *Methods of Biochemical Analysis*. New York: John Wiley & Sons, 19, 1971, p. 217.
5. BEAUDOIN, A.R. The embryotoxicity of gossypol. *Teratology*, 32 : 251-57, 1985.
6. BREMMER, B. & RECTOR, F. *The kidney*. 2. ed., Philadelphia: Saunders, 1981.
7. CARVALHO, W.F. *Técnicas Médicas de Hematologia e Imuno-hematologia*. 3. ed. Belo Horizonte: Cooperatia Editorial e de Cultura Médica Ltda, p.47-49, 1983.
8. CIFFONI, E.M.G. Medicina de pequenos ruminantes. *Jornal do Conselho Regional de Medicina Veterinária*, Curitiba, 34 : 3, 1993.
9. CLAWSON, A.J.; MANER, J.H.; GOMEZ, G.; MEJIA, O.; FLORES, Z.; BUITRAGO, J. Unextracted cottonseed in diets for monogastric animals. I. The effect of ferrous sulfate and calcium hidroxide in reducing gossypol toxicity. *Journal of Animal Science*, Albany, V.40,n.04,p.640-647, 1975.
10. COPPOCK, C.E.; WEST, J.W.; MOYA, J.R.; NAVE, D.H.; LABORE, J.M. Effects of amount of whole cottonseed on intake, digestibility, and phisiological responses of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, 68 : 2248-58, 1985.
11. DANKE, R.J.; PANCIERA, R.J.; TILIMAM, A.D. Gossypol toxicity studies with sheep. *Journal of Animal Science*, Albany, 24 : 1199-201, 1985.
12. DURIGAN, J.F. *Fatores Antinutricionais*. Jaboticabal: Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária - UNESP. p.1-16, 1990 (notas de aula).
13. GRAY, M.L. GREENE, L.W.; WILLIANS, G.L. Effects of dietary gossypol consupcion on metabolic homeostasis and reproductive

- endocrine function in beef heifers and cows. *Journal of Animal Science*, Albany, 71 : 3052-59, 1993.
14. HAFEZ, E.S.E. *Reprodução Animal*. Trad Dr. Renato Campanarut Barnabé. São Paulo: Manole, 1982. 720 p.
15. KACHMAR, J. F. & MOSS, D. W. *Enzymes*. Philadelphia: Saunders, 1976.
16. KUTCHES, A.J.; CHALUPA, W.; TREI, J. Delinted cottonseed improves lactational response. *Feedstuffs*, New York, 59 : 16-20, 1987.
17. LEPRI, E.R. & NATALI, M.R.M.; *Técnicas Histológicas*. Maringá: Departamento de Ciências Biológicas da Fundação Universidade Estadual de Maringá. 07 p. 1992.
18. LINDSEY, T.O.; HAWKINS, G.E.; GUTHRIE, L.D. Physiological response of lactating cows to gossypol from cottonseed meal rations. *Journal of Dairy*, Champaign, 63 : 562-573, 1980.
19. MAIA, V. *Técnica Histológica*. 2. ed., São Paulo: Atheneu. 1979. 246 p.
20. MARÇAL, W.S. *Eritrograma de bovinos (Bos taurus, Linnaeus 1758), fêmeas da raça holandesa preta e branca, sadios, criados no estado de São Paulo*. São Paulo, 1989, (Dissertação de mestrado - Universidade de São Paulo).
21. MIES FILHO, A. *Inseminação Artificial*. 7. ed. Porto Alegre: Sulina S/A, 1987. 736 p. V.2.
22. RISCO, C.A.; HOLMERC, C.A.; KUTCHES, A. Effect of graded concentrations of gossypol on calf performance: toxicological and pathological considerations. *Journal of Dairy Science*, Champaign, 75 : 2787-98, 1992.
23. TAFURI, M.L. & RODRIGUES, M.T. Subprodutos das indústrias de óleo na alimentação animal. *Informe agropecuário*, Belo Horizonte, 10 : 43-48, 1984.
24. VINNE, J.U.V.D. Alimentação de gado. Quanto de semente de algodão é muito? *Revista Batavo*. 9 : 20, 1992.