CAMBIOS HEMÁTICOS ATRIBUIBLES AL *GOSIPOL* EN TERNEROS DESTETE SUPLEMENTADOS CON SEMILLA DE ALGODÓN

[1]Coppo, J. A. / [2]Coppo, N. B.
[1]Prof. Tit.. [2]Prof. Adj. Cátedra de Fisiología General.
Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, U.Na.M. Félix de Azara 1552, Posadas (3300), Misiones, Argentina. E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

GOSSYPOL ATTRIBUTABLE HEMATIC CHANGES IN COTTONSEED SUPPLEMENTED WEANED CALVES.

The purpose of this assay is to investigate the appearance of undesirable secondary effects connected to hematic, renal, hepatic, and muscular functions, in cottonseed supplemented calves. This energetic-proteic forage of low cost, possesses high fat and protein concentration, but contains *gossypol*, a toxic polyphenol able to cause severe organic damage in certain doses. Sixty half-bred British x Zebu weaned calves (7-9 months old and 200 kg liveweight), were randomized in control lot C (n=30), maintained on natural pasture, and supplemented lot S (n = 30), which received cottonseed (2 kg/animal/day) during 5 months (Autumn-Winter). Weighings and biochemical determinations were monthly carried out on C and S animals. In most of the parameters studied, repeated Anova measures indicated significance of both, treatment and time effects ($p<0.05$), although the interaction between them was not significant. Orthogonal contrasts pointed out that differences between C and S began to be significant on the 90th day of the supplementation start. Diarrheas were registered initially in S, without deaths in any lot. When the assay was concluded, significant decreases of neutrophils were verified in C, attributable to the ontogeny; declines of erythrogram parameters, attributable to pasture winter impoverishment were also verified. In S, significant increases of packet cell volume (42.1 versus 36.7%), erythrocytes (7.93 versus 6.95 T/l) and hemoglobin (15.1 versus 11.4 g/dl) were verified, which are attributed to cottonseed nutritional supply, as well as increments of total leukocytes (12.40 versus 9.85 G/l), neutrophils (4.84 versus 3.05 G/l), eosinophils (0.62 versus 0.39 G/l), gamma glutamyl transferase (29 versus 15 IU/l), alkaline phosphatase (236 versus 175 IU/l), aspartate amino transferase (61 versus 45 IU/l) and lactate dehydrogenase (711 versus 407 IU/l), which are interpreted as ontogenic changes and/or undesirable secondary effects caused by both, gosipol and dietary fat excess.

ABSTRACT

KEY WORDS: calves, supplementation, cottonseed, gossypol, hemogram, enzymogram.

El propósito del ensayo fue indagar la aparición de efectos secundarios indeseables atinentes a las funciones hepática, renal, muscular y sanguínea en terneros suplementados con semilla de algodón. Este forraje energético-proteico, de bajo costo, posee altas concentraciones de grasa y proteína, pero contiene *gosipol*, un polifenol tóxico que en determinadas dosis es capaz de provocar severos daños orgánicos. Sesenta terneros destete cruza cebú x británico (7-9 meses de edad y 200 kg de peso) fueron aleatorizados en lote control C (n = 30), a pastura natural, y lote suplementado S (n = 30), quienes recibieron semilla de algodón (2 kg/animal/día) durante cinco meses (otoño-invierno). Mensualmente los animales fueron sometidos a pesajes y determinaciones bioquímicas. El

RESUMEN

Anova de medidas repetidas indicó que los *efectos tratamiento* y *tiempo* resultaron significativos para la mayoría de los analitos estudiados ($p < 0.05$), no así la *interacción* entre ambos. Los contrastes ortogonales señalaron que las diferencias entre C y S comenzaron a ser significativas a los 90 días de iniciada la suplementación. Clínicamente se registraron diarreas iniciales en S, sin que se produjeran muertes en ningún lote. Al finalizar el ensayo, en C se constataron disminuciones significativas de neutrófilos, imputables a la ontogenia, así como de parámetros del eritrograma, atribuibles al empobrecimiento invernal de las pasturas. En S se verificaron aumentos significativos de hematocrito (42.1 *versus* 36.7%), eritrocitos (7.93 *versus* 6.95 T/l) y hemoglobina (15.1 *versus* 11.4 g/dl), que se atribuyen al aporte nutricional efectuado por la semilla de algodón, así como de leucocitos totales (12.40 *versus* 9.85 G/l), neutrófilos (4.84 *versus* 3.05 G/l), eosinófilos (0.62 *versus* 0.39 G/l), gammaglutamiltransferasa (29 *versus* 15 UI/l), fosfatasa alcalina (236 *versus* 175 UI/l), aspartatoaminotransferasa (61 *versus* 45 UI/l) y lactatodehidrogenasa (711 *versus* 407 UI/l), que se interpretan como cambios ontogénicos y/o efectos secundarios indeseables provocados por el *gosipol* y el exceso de grasa dietaria.

PALABRAS CLAVES: terneros, suplementación, semilla de algodón, *gosipol*, hemograma, enzimograma.

INTRODUCCIÓN

La semilla de algodón es un económico suplemento energético-proteico para el ganado, poseyendo 18-27% de proteínas, 20-23% de fibra y 96-98% de nutrientes digeribles totales, con una energía metabolizable de 3.5-3.9 Mcal/kg [1, 2]. Lamentablemente, su tenor graso es excesivo (21-24%) y también contiene *gosipol*, un polifenol tóxico cuya concentración dependería del tipo de algodonero, clima donde se cultiva y características del suelo [3]. La tolerancia al *gosipol* variaría según la especie y edad del animal [4, 5, 6]; la mayor susceptibilidad correspondería a los monogástricos (cerdo, perro), luego a los rumiantes jóvenes (terneros, corderos) y por último a las gallinas [7]. En ganado bovino parecerían existir susceptibilidades distintas según la raza: ante dosis similares del tóxico, habrían sucumbido terneros Holstein y sobrevivido otros de raza Jersey [8].

Debido a su elevado tenor graso, la semilla de algodón produciría en el corto plazo diarreas en el ganado bovino; a largo plazo afectaría la capacidad reproductiva de vacas lecheras [9]. El *gosipol* y los ácidos grasos ciclopropenoides de la semilla de algodón se comportarían como *factores anti-nutricionales*, inhibiendo la proteólisis en el tubo digestivo [10]; los rumiantes serían menos sensibles que los monogástricos porque en el rumen una parte del *gosipol* se combinaría con proteínas para dar origen a complejos estables, no absorbibles [11, 12].

La intoxicación por *gosipol* cursa con retraso del desarrollo, pérdida de vivacidad, gastroenteritis, disnea, convulsiones y muerte [7, 13], provocando lesiones como enteritis, ascitis, hepatitis tóxica, nefritis, congestión esplénica, hidropericardio, degeneración miocárdica y edema pulmonar [7, 8, 13, 14]. Terneros de tres meses alimentados con una ración conteniendo 13-20% de harina de algodón murieron por insuficiencia cardíaca precedida por hematuria; las necropsias habrían revelado lesiones hepáticas congestivas, degenerativas y necróticas [15]. Microscópicamente resaltarían en hígado las necrosis centrolobulillares y periacinares con áreas de degeneración grasa y fibrosis en casos crónicos; en corazón la degeneración y necrosis de las fibras miocárdicas, que se mostrarían vacuoladas y atrofiadas [16, 17].

El *gosipol* es espermostático, por lo que está siendo estudiado como potencial agente para el control reversible de la fertilidad masculina humana [18]. En toros tendría el mismo efecto, induciendo anormalidades espermáticas [19], especialmente en la membrana del espermatozoide [20]. En roedores no alteraría la ovulación pero sí la espermatogénesis [8], inhibiendo enzimas necesarias para la concepción, tales como hialuronidasa, arilsulfatasa, acrosina y otras [21].

El objetivo del presente ensayo fue constatar la aparición de efectos secundarios indeseables en terneros cruza cebú categoría *destete*, suplementados durante un lapso prolongado con cantidades moderadas de semilla de algodón, mediante exámenes clínicos y un panel de pruebas de laboratorio concebidas para explorar las funciones hepática, renal, muscular y sanguínea.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los trabajos se realizaron en un establecimiento ganadero ubicado en Leandro Alem (Misiones), sobre potreros de pastura natural donde predominaban las gramíneas perennes de ciclo estival y escasa calidad (4-6% de proteína bruta, 50% de digestibilidad, EM = 1,5 Mcal/kg MS). Se utilizaron 60 terneros destete cruza

cebú x británico (2/3 Brahman 1/3 Hereford), de 7-9 meses de edad (alrededor de 200 kg de peso medio), clínicamente sanos y fenotípicamente homogéneos.

Bajo un diseño prospectivo de medidas repetidas, se aleatorizaron los lotes control (C) y suplementado (S), compuestos por 30 animales cada uno. El lote S fue suplementado con 2 kg diarios de semilla entera de algodón y los terneros del lote C fueron mantenidos a pastura natural. Todos los animales dispusieron de sal común (20-30 g/animal/día), acorde a la usanza del establecimiento. El ensayo se realizó entre los meses de abril y setiembre (150 días), efectuándose seis controles mensuales (días 0, 30, 60, 90, 120 y 150) que incluyeron pesajes, exámenes clínicos y pruebas de laboratorio.

A partir de sangre total anticoagulada con EDTA se determinaron concentraciones de eritrocitos y leucocitos, volumen corpuscular medio (VCM), hematocrito, hemoglobina, hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de HCM (CHCM) por método electrónico en analizador hematológico Sequoia-Turner 500. La fórmula leucocitaria fue obtenida por microscopía a partir de frotis coloreados según Giemsa. Mediante un espectrofotómetro automático UV-visible Zeltec ZL5000 se cuantificaron las actividades plasmáticas de aldolasa ALD (técnica cinética, lecturas a 340 nm, reactivos Boehringer), gammaglutamiltransferasa GGT (cinética, 405 nm, reactivos Wiener), fosfatasa alcalina ALP (cinética, 334 nm, reactivos GT-Lab), aspartatoaminotransferasa AST (técnica del oxoglutarato, 334 nm, reactivos Wiener), creatinfosfoquinasa CPK (cinética, 334 nm, reactivos GT-Lab) y lactatodehidrogenasa LDH (método optimizado, 340 nm, reactivos Wiener).

Informáticamente se efectuaron estadísticas descriptivas paramétricas (*software Statistix 1996*) que abarcaron normalidad distributiva (Wilk-Shapiro, WS), homogeneidad inicial (intervalos de confianza, IC±95%), tendencia central (media aritmética, $\bar{x}$) y dispersión (desvío estándar, DE). El análisis de la variancia (Anova) de medidas repetidas (*software Statistica 1999*) permitió conocer la significancia ($p < 0,05$) de los efectos *tratamiento* y *tiempo*, así como la *interacción* entre ambos. Post-Anova se efectuaron comparaciones de medias por contrastes ortogonales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores iniciales obtenidos encuadraron en el intervalo de referencia para la cruza, edad, tipo de alimentación y zona geográfica considerada [22], resultando en cada analito estadísticamente homogéneos (IC±95%) y distribuyéndose con simetría gaussiana (WS); el Anova de medidas repetidas no detectó casos de *interacción tratamiento por tiempo* [23]. No se registraron muertes de animales atribuibles al forraje administrado, tan solo ocurrieron episodios diarreicos al inicio de la suplementación, que revirtieron rápidamente al producirse la adaptación a la dieta [9]. El peso aumentó significativamente en ambos lotes, resultando mayores las ganancias en S (542 g/animal/día) que en C (326 g/animal/día).

Eritrograma

En la Tabla 1 se consignan las estadísticas descriptivas obtenidas para cada uno de los parámetros del eritrograma. El hematocrito y la concentración de eritrocitos disminuyeron en los terneros del lote control y aumentaron en los suplementados. Hubo significación estadística para los efectos *tratamiento* y *tiempo*; las diferencias entre C y S comenzaron a ser significativas a partir de los 90 días de iniciada la suplementación. En S, la elevación de ambos parámetros se atribuye al efecto nutricio del suplemento energético-proteico administrado; sus incrementos estarían en relación directa con el mejoramiento de la dieta del rumiante [24]. En C, las

Tabla 1: eritrograma en terneros suplementados (S) y controles (C). $\bar{X}$ ± DE

analito	valores iniciales		valores finales	
	C (n = 30)	S (n = 30)	C (n = 30)	S (n = 30)
hematocrito (%)	39.2^{a} ± 1.8	38.6^{a} ± 2.4	36.7^{b} ± 2.9	42.1^{c} ± 1.7
eritrocitos (T/l)	7.33^{a} ± 0.6	7.44^{a} ± 0.5	6.95^{b} ± 0.7	7.93^{c} ± 0.6
VCM (fl)	53.5^{a} ± 4.1	51.9^{a} ± 3.8	52.8^{a} ± 4.3	53.1^{a} ± 4.0
hemoglobina (g/dl)	13.8^{a} ± 0.7	13.2^{a} ± 0.5	11.4^{b} ± 1.5	15.1^{c} ± 0.9
HCM (pg)	18.8^{a} ± 0.9	17.6^{a} ± 0.7	16.4^{b} ± 0.8	19.0^{a} ± 0.9
CHCM (%)	35.2^{a} ± 0.8	34.2^{a} ± 0.9	31.1^{b} ± 0.7	35.9^{a} ± 0.8

VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: concentración de HCM. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias de cada grupo.

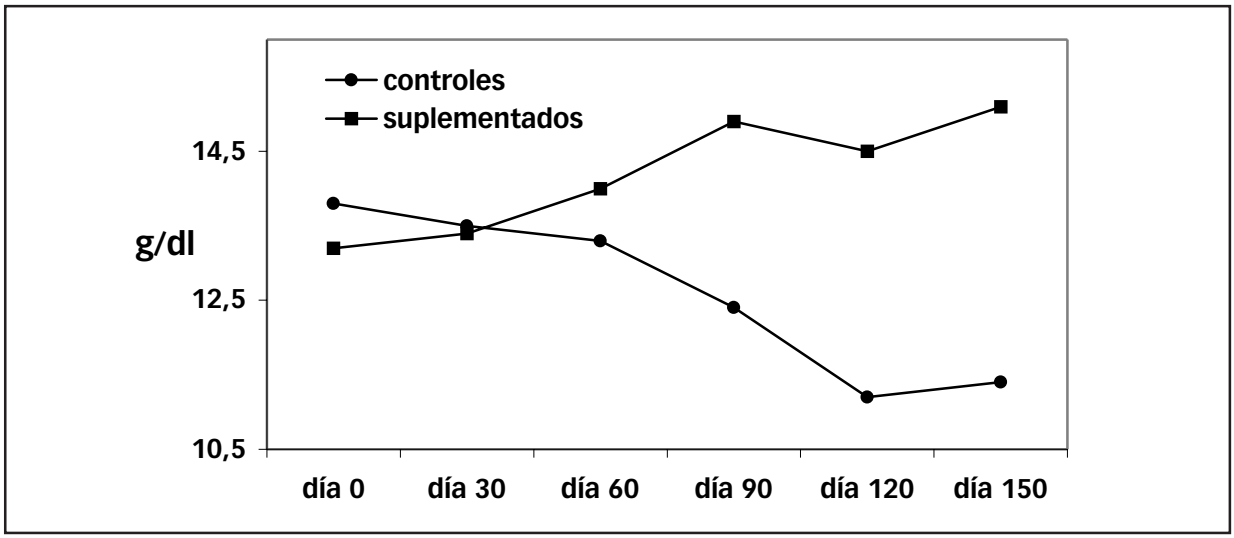

Figura 1: hemoglobina en terneros suplementados y controles.

declinaciones podrían imputarse al empobrecimiento invernal de las pasturas [2, 25].

La adecuada eritropoyesis del bovino requeriría un continuo y equilibrado aflujo de proteínas, minerales y vitaminas, cuya deficiencia se traduciría en decrementos de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina [24, 26]. En cantidades elevadas, el *gosipol* alteraría el equilibrio vitamínico del bovino [27]. La vitamina E contrarrestaría los efectos del *gosipol*, mejorando los niveles de hematocrito y hemoglobina en terneros intoxicados [14].

El volumen corpuscular medio no registró diferencias significativas entre animales experimentales y controles. El ligero aumento del VCM registrado en S quizás responda a razones ontogénicas; para el hemisferio norte se ha reportado que en terneros recién nacidos esta tasa sería de 46 fl y ascendería hasta 52 fl en la adultez [24]. La disminución en C, si bien escasa, refrendaría la postura del déficit nutricional en este lote, pues ciertas carencias (hierro, cobre) tenderían a provocar microcitosis en el ganado [28, 29]. La reducción del VCM respondería a deficiencias dietarias, especialmente férricas [30].

La hemoglobina se elevó en S y declinó en C (Figura 1). El Anova de medidas repetidas indicó significación estadística para los efectos *tratamiento* y *tiempo*. Los contrastes ortogonales declararon que las diferencias entre lotes se iniciaron a los tres meses. Los índices hemoglobínicos (HCM y CHCM), si bien no se alteraron en S, disminuyeron significativamente en C. Nuevamente, estos cambios deben ser interpretados a la luz del aporte nutricional efectuado por la semilla de algodón, en función de la escasez invernal de pasturas que caracteriza a la región nordeste del país [2, 25]. La concentración de hemoglobina ocupa un importante lugar en el panel de indicadores nutricionales del bovino [29]. La hipocromía, además de responder a hemorragias y hemólisis, puede deberse a deficiencias dietarias, especialmente de hierro y cobre [30].

Con la cantidad aquí suministrada de semilla de algodón, no parecen haberse generado los bloqueos de la absorción intestinal de hierro reportados por otros investigadores en la intoxicación por *gosipol* [5], ni tampoco los fenómenos de anemia hemolítica provocados por el aumento de fragilidad de la membrana eritrocitaria (resistencia globular osmótica) causada por el polifenol tóxico [1, 31, 32].

Siendo que el suplemento aportado eleva significativamente los niveles plasmáticos de colesterol [33, 34] y que este es capaz de afectar las propiedades reológicas del eritrocito (menor resistencia a la deformabilidad) [35], tal circunstancia no se habría traducido en reducción del número de hematíes de los terneros suplementados. En otros ensayos, administrando cantidades moderadas de semilla de algodón durante lapsos cortos, tampoco se hallaron cambios del eritrograma en terneros [36, 37], pero sí ocurrieron ante cantidades más altas del suplemento, tanto en bovinos [5, 38] como en ovinos [12] y otras especies [39].

Leucograma

La Tabla 2 resume las variaciones del leucograma registradas en animales experimentales y controles. No se efectuó análisis de la variancia de los muy escasos *basófilos* detectados en el recuento diferencial, por tratarse de una variable *cuantitativa discreta* (casi *dicotómica*), cuya distribución *binomial* hubiera requerido el uso de estadísticas *no paramétricas* [23].

La concentración de leucocitos totales no resultó afectada en los animales controles, aumentando significa-

Tabla 2: leucograma en terneros suplementados (S) y controles (C). $\overline{X} \pm DE$

enzima	valores iniciales		valores finales	
	C (n = 30)	S (n = 30)	C (n = 30)	S (n = 30)
leucocitos tot. (G/l)	10.75 a ± 0.8	9.40 a ± 0.7	9.85 a ± 0.8	12.40 b ± 0.9
linfocitos (G/l)	6.45 a ± 0.4	5.18 a ± 0.2	5.75 a ± 0.3	6.35 a ± 0.4
neutrófilos (G/l)	3.46 a ± 0.3	3.29 a ± 0.2	3.05 b ± 0.2	4.84 c ± 0.4
monocitos (G/l)	0.43 a ± 0.02	0.47 a ± 0.03	0.59 a ± 0.04	0.50 a ± 0.03
eosinófilos (G/l)	0,32 a ± 0.03	0.38 a ± 0.02	0.39 a ± 0.04	0.62 b ± 0.05
basófilos (G/l)	0.09	0.08	0.07	0.09

En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias de cada grupo.

tivamente en los suplementados (efecto *tratamiento*), hacia el día 90 de iniciado el ensayo. Por su parte los neutrófilos (Figura 2), que generalmente se analizan en conjunto con los leucocitos totales porque acompañan sus variaciones [24, 28, 40], también se elevaron en S, pero declinaron en C, en ambos casos significativamente. En este último lote, los cambios podrían atribuirse a razones ontogénicas, pues tanto leucocitos totales como neutrófilos disminuyen en forma directamente proporcional al crecimiento del ternero [24, 41].

Si bien la leucocitosis neutrofílica puede deberse a intoxicaciones, trastornos metabólicos, inflamaciones agudas y destrucción de tejidos [24, 28, 40, 42], tales como las provocadas por el *gosipol* [4, 8], las elevaciones en S no resultaron de la magnitud suficiente como para indicar tales trastornos (leucocitos: 9.4 → 12.4 G/l y neutrófilos: 35 → 39%). Tampoco fueron acompañadas de síntomas que evidenciaran lesiones internas graves. No obstante, constituyen una señal de repercusión orgánica al suplemento, pues no ocurrieron en los terneros alimentados a pastura natural. En algunas experiencias de suplementación de terneros con semilla de algodón no se registraron variaciones del leucograma [37], pero en otras –sobre ganado adulto– se constataron leucopenias y neutrofilia [5].

Los linfocitos no acusaron significación estadística para los efectos *tratamiento* ni *tiempo*, disminuyendo su concentración en C y aumentándola en S, muy ligeramente en ambos casos. Ello aleja la presunción de posibles intoxicaciones e inflamaciones crónicas señaladas por la linfocitosis, así como la de colestasis u obstrucciones urinarias indicadas por la linfopenia [28, 42]. Otros investigadores verificaron linfopenia en bovinos intoxicados con *gosipol* [5]. Dicho compuesto sería capaz de producir fenómenos de genotoxicidad en linfocitos humanos [18], cuyo mecanismo ha sido recientemente esclarecido para los linfocitos T [43].

Los monocitos mostraron escasas variaciones, exentas de significación estadística para los efectos *tratamiento* y *tiempo*. Estos glóbulos blancos revelan pocas modificaciones atribuibles a la edad y al sexo [24]. Los terneros bajo ensayo no habrían padecido las inflama-

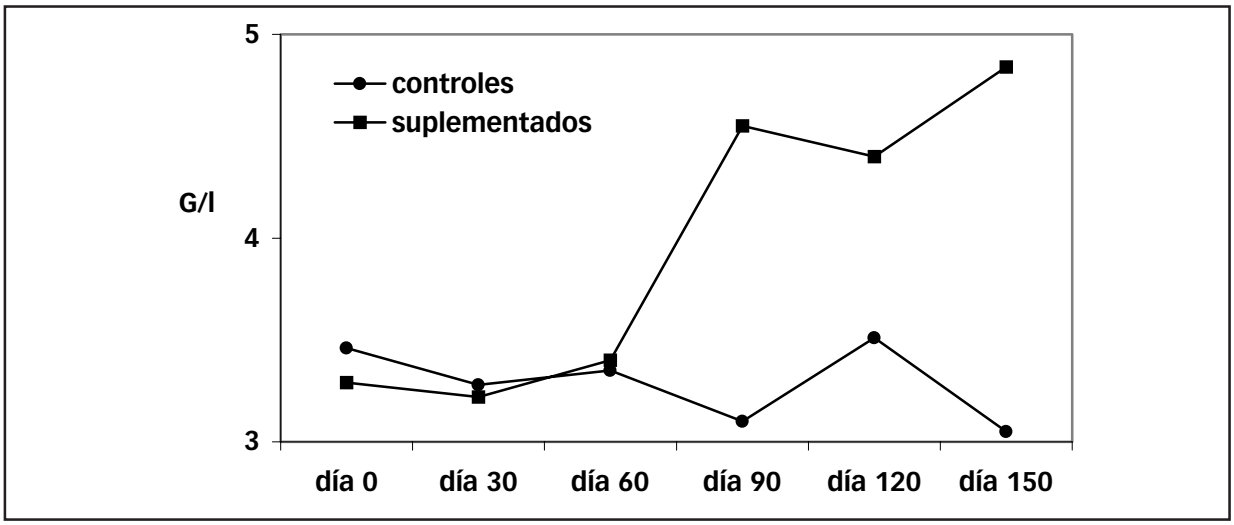

Figura 2: neutrófilos en terneros suplementados y controles.

ciones crónicas indicadas por la monocitosis [28, 40]. Pese a no haberse calculado el Anova para los basófilos, puede advertirse que estos glóbulos blancos registraron exiguos cambios a lo largo del ensayo, sin sobrepasar la tasa de 1% del total leucocitario. Se asevera que la basofilia ocurriría en casos de hiperlipemia e hiperlipoproteinemias [28, 42].

Los eosinófilos aumentaron en ambos lotes, ligeramente en C y significativamente en S (efecto *tratamiento*), estableciéndose hacia el día 90 el comienzo de la diferenciación estadística (contrastes ortogonales). Esta tendencia, común a ambos lotes, quizás deba relacionarse con la ontogenia, ya que los eosinófilos aumentarían progresivamente durante el crecimiento (1-2%) hasta alcanzar tasas de adultos (10%) [24]. Sin embargo, no debería descartarse que el aumento significativo en S estuviera señalando alguna reacción al suplemento, ya que la eosinofilia es frecuente en los fenómenos de hipersensibilidad a los alimentos, así como en algunas intoxicaciones [28, 42]. Paradójicamente, otros autores encontraron eosinopenias en bovinos intoxicados con *gosipol* [5].

Enzimograma

Las variaciones de las actividades enzimáticas se exponen en Tabla 3. ALD no registró variaciones significativas por efectos *tiempo* ni *tratamiento*, circunstancia que nos apartaría de la existencia de eventuales inflamaciones agudas hepáticas y musculares (incluyendo músculo cardíaco), capaces de ser evidenciadas por la elevación de esta enzima [44, 45]. La actividad CPK tampoco se modificó significativamente en los terneros bajo ensayo, aportando otro argumento para refrendar la ausencia de distrofias musculares [44] y necrosis de fibras miocárdicas [45], reportadas en bovinos intoxicados con *gosipol* [14, 17].

A pesar de las aseveraciones precedentes, debe advertirse que en los terneros suplementados ocurrieron ascensos enzimáticos indicativos de anormalidades orgánicas, probablemente incipientes por no correlacionar con signos clínicos. Tal fue el caso de LDH, cuyos cambios resultaron escasos en C pero significativos en S (efecto *tratamiento)*, diferencia que se inició hacia el día 90 y persistió hasta el final del ensayo. Su elevación está descripta en las lesiones musculares y hepáticas [44, 45]; en ratas intoxicadas con *gosipol* no se alteró la actividad LDH ni la de sus isoenzimas [46]. Dicho polifenol sería capaz de reprimir la actividad $LDH_{(x)}$ testicular del bovino, mecanismo que inhibiría la fertilidad masculina [47].

Similares cambios a los de LDH ocurrieron para las actividades ALP y AST, donde el efecto *tratamiento* fue significativo, iniciándose la diferenciación entre C y S en el tercer mes de suplementación. La elevación de ALP se relaciona principalmente con trastornos hepáticos (colestasis, cirrosis) y óseos (osteomalacia, osteítis, osteoesclerosis), en tanto que AST lo hace con las necrosis de hepatocitos y fibras musculares [28, 44, 45]. El aumento de AST aquí registrado contrasta con la ausencia de cambios verificados para esta enzima en vacas lactantes suplementadas con semilla de algodón durante cortos períodos [10].

La actividad GGT también resultó significativa en S (efecto *tratamiento*), acusando leves modificaciones en C (Figura 3). El test de comparación de medias detectó que las diferencias entre lotes comenzaron a ser significativas hacia el día 90. GGT es una enzima que se eleva en trastornos hepatobiliares, especialmente de etiología tóxica [28, 42, 44]; su aumento se registró en ratas intoxicadas con *gosipol* [48]. Para la misma afección, otros autores verificaron elevaciones de *sorbitoldehidrogenasa* en vacas [32] y terneros [16], así como de otras actividades enzimáticas en animales de experimentación [49, 50].

Tabla 3: enzimograma en terneros suplementados (S) y controles (C). $\overline{X}$ ± DE

enzima	valores iniciales		valores finales	
	C (n = 30)	S (n = 30)	C (n = 30)	S (n = 30)
ALD (UI/l)	21^a ± 2	23^a ± 3	19^a ± 4	20^a ± 3
GGT (UI/l)	13^a ± 3	15^a ± 5	15^a ± 4	29^b ± 4
ALP (UI/l)	180^a ± 25	172^a ± 31	175^a ± 27	236^b ± 41
AST (UI/l)	39^a ± 5	43^a ± 4	45^a ± 7	61^b ± 9
CPK (UI/l)	128^a ± 18	135^a ± 21	133^a ± 23	137^a ± 25
LDH (UI/l)	415^a ± 52	391^a ± 40	407^a ± 59	711^b ± 67

ALD: aldolasa, GGT: gammaglutamiltransferasa, ALP: fosfatasa alcalina, AST: aspartatoaminotransferasa, CPK: creatinfosfoquinasa, LDH: lactatodehidrogenasa. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias de cada grupo.

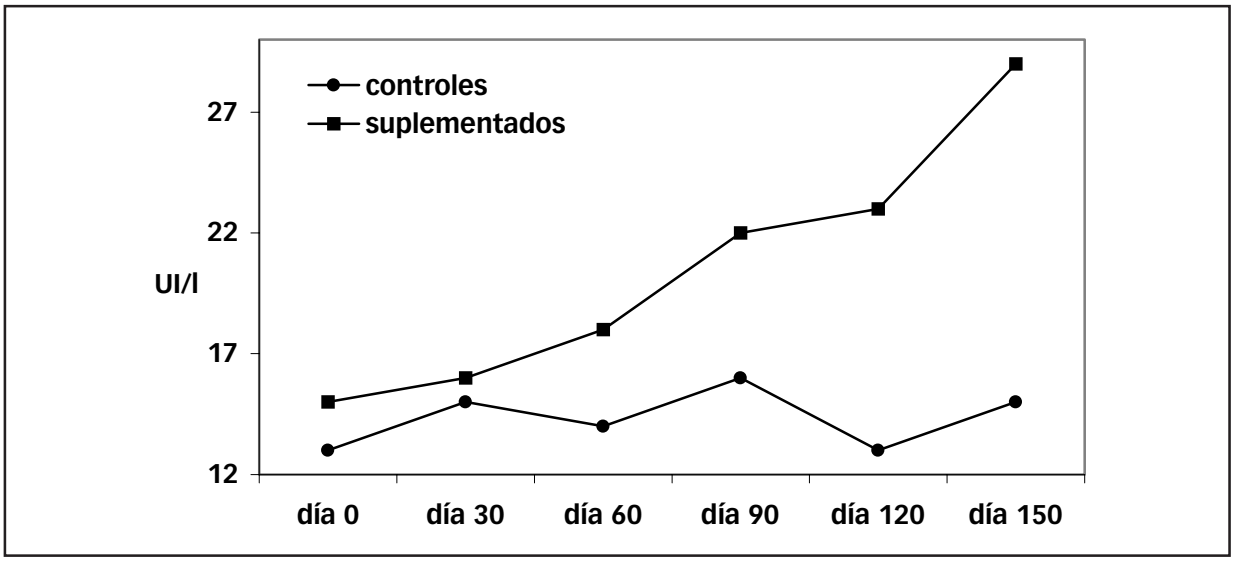

Figura 3: GGT en terneros suplementados y controles.

En comunicaciones anteriores reportamos que en estos mismos animales no resultaron adversamente afectados otros parámetros inherentes al funcionamiento del hígado (proteínas plasmáticas, albúminas) [51], riñones (sodio, potasio y cloruro) [52], (urea y creatinina) [51], hueso (calcio, magnesio y fósforo inorgánico) [52], sistema inmune (γ globulinas) [51], absorción intestinal (hierro, cobre) [52], pH ruminal [53], metabolismo glucídico [54] y metabolismo lipídico, en este caso con significativas elevaciones de triglicéridos, colesterol y lipoproteína a [54], así como modificaciones de C-HDL y C-LDL [55].

No obstante, en ocasión de intoxicar experimentalmente terneros con semilla de algodón (6 kg/día durante 7 meses), registramos significativos aumentos de GGT, ALD, CPK, LDH, AST, urea, potasio, fósforo inorgánico, leucocitos totales y linfocitos, así como de los parámetros del lipidograma, con disminuciones del eritrograma, hierro, neutrófilos, proteínas totales, albúminas y globulinas. La histopatología de estos animales reveló graves lesiones como miocarditis, hepatitis y necrosis tubular renal, entre otras [56].

En el presente caso, las modificaciones leucocitarias y enzimáticas fueron moderadas, sin llegar a configurar el estado de intoxicación propio de la semilla de algodón [3-8], verificado en animales sometidos a dosis mayores [15-17, 56]. Permaneciendo incólume el mecanismo de biosíntesis hepática y no habiendo resultado afectadas las funciones de depuración renal, absorción intestinal y defensa inmunológica, el incipiente y leve cuadro toxi-inflamatorio sería reversible [28, 44, 45] tras la suspensión de la suplementación, sin afectar el ulterior crecimiento de los animales, tal como está descrito en novillos [53].

CONCLUSIONES

La ausencia de síntomas y la mayor ganancia de peso en terneros suplementados avala el diseño ensayado (suministro de 2 kg/animal/día de semilla de algodón durante cinco meses), que reveló ser capaz de mejorar los parámetros del eritrograma en la temporada otoño-invernal, cuando los controles disminuyeron sus tasas de hematocrito, eritrocitos y hemoglobina debido al empobrecimiento de las pasturas. Las elevaciones de leucocitos totales, neutrófilos y eosinófilos, así como los moderados aumentos de las actividades GGT, ALP, AST y LDH, alertan sobre la existencia de incipientes reacciones orgánicas toxi-inflamatorias de probable localización hepática y muscular, atribuibles al *gosipol* y grasa dietaria excesiva, por lo cual no resultaría conveniente prolongar el suministro de semilla de algodón más allá del lapso ensayado.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo pudo realizase merced a la financiación otorgada por CONICET (PIP 577) y CIDeT (16Q137). Se reconoce el apoyo brindado por las empresas WIENER LAB y GT-LAB, que proveyeron los reactivos necesarios para la investigación. ●

REFERENCIAS

1. Balbuena, O.; **Kucseva**, C. D.; **Stahringer**, R. C. *Suplementación invernal con diferentes niveles de semilla de algodón. Efecto sobre la fragilidad eritrocitaria.* Anales XIX Sesión de Comunicaciones Científicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, p. 18. Corrientes, 1998.

2. Peruchena, C. O.; **D´Ascanio**, G.; **Valdivia**, G. *Suplementación invernal de novillos con semilla de algodón sobre pastizal natural.* Boletín Nº 40, INTA Reconquista, p. 1-8, 1992.

3. Baez-Kohn, A. R. *Intoxicación por semilla de algodón.* Boletín Informativo del INTA (Misiones) 8: 1-4, 1990.

4. Jarret, J. A. *Too much cottonseed led to poisoning.* Hoard Dairyman 128: 8, 568-569, 1983.

5. Kerr, L. A. *Gossypol toxicosis in cattle.* Cont. Educ. Vet. 11: 1139-1142, 1989.

6. Smalley, S .A.; **Bicknell**, E. J. *Gossypol toxicity in dairy cattle.* Cont. Educ. Pract. Vet. 4: 9, 378-381, 1982.

7. Radeleff, R. D. *Toxicología Veterinaria*, Ed. Academia, León, 1967.

8. Garner, R. J.; **Papworth**, D. S. *Toxicología Veterinaria*, 3º ed., Acribia, Zaragoza, 1970.

9. Morrison, F. B. *Alimentos y Alimentación del Ganado*, 21º ed. Uthea, México, 1980.

10. Lindsey, T. O.; **Hawkins**, G. E.; **Guthrie**, L. D. *Physiological responses of lactating cows to gossypol from cottonseed meal rations.* J. Dairy Sci. 63: 562-573, 1980.

11. Cheftel, J. C.; **Cheftel**, H.; **Besancon**, P. *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos*, Acribia, Zaragoza, 1983.

12. Nikokyris, P.; **Kandylis**, K.; **Deligiannis**, K.; **Liamadis**, D. *Effects of gossypol content of cottonseed in blood constituents in growing fattening lambs.* J. Dairy. Sci. 74, 12: 4305-4313, 1991.

13. Hudson, L. M.; **Kerr**, L. A.; **Maslin**, W. R. *Gossypol toxicosis in a herd of beef calves.* J Am. Vet. Med. Assoc. 1: 192 (9), 1303-1305, 1988.

14. Velasquez-Pereira, J.; **Risco**, C .A.; **McDowell**, L. R.; **Staples**, C. R.; **Prichard**, D.; **Chenoweth**, P. J.; **Martin, F.** G.; **Williams**, S. N.; **Rojas**, L. X.; **Calhoun**, M. C.; **Wilkinson**, N. S. *Long-term effects of feeding gossypol and vitamin E to dairy calves.* J. Dairy Sci. 82: 6, 1240-1251, 1999.

15. Orgad-Klopfer, U; **Adler**, H. *Gossypol poisoning in calves.* Israel J. Vet. Med. 42: 16-18, 1986.

16. Holmberg, C.; **Weaver**, L.; **Guterbock**, W.; **Genes**, J.; **Montgomery**, P. *Pathological and toxicological studies of calves fed a high concentration cottonseed.* Vet. Pathol. 25: 2, 147-153, 1988.

17. Zelski, R. Z.; **Rothwell**, J. T.; **Moore**, R. E.; **Kennedy**, D. J. *Gossypol toxicity in preruminant calves.* Aust. Vet. J. 72: 10, 394-398, 1995.

18. Best, R. G.; **McKenzie**, W. H. *Variable sister chromatid exchange response in human lymphocytes exposed in vitro to gossypol acetic acid.* Mutation Research 206: 227-233, 1988.

19. Chenoweth, P. J.; **Chase**, C. C.; **Risco**, C. A.; **Larsen**, R. E. *Characterization of gossypol-induced sperm abnormalities in bulls.* Theriogenology 53: 1193-1203, 2000.

20. Breitbart, H.; **Rubinstein**, S.; **Nass-Arden**, L. *Effect of gossypol-acetic acid on calcium transport in plasma membranes from ram and bull spermatozoa.* Int. J. Androl. 7: 5, 439-447, 1984.

21. Yuan, Y. Y.; **Shi**, Q. X. *Inhibition of hamster sperm acrosomal enzyme by gossypol is closely associated with the decrease in fertilization capacity.* Contraception 62: 4, 203-209, 2000.

22. Coppo, J. A. *Fisiología Comparada del Medio Interno*, Ed. Dunken, Buenos Aires, 2001.

23. Steel, R .G.; **Torrie**, J. H. *Principles and Procedures of Statistics*, 2º ed., MacGraw-Hill, New York, 1992.

24. Jain, N. C. *Essentials of Veterinary Hematology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1993.

25. Mufarrege, D. *Distribución estacional de nutrientes minerales para el ganado en pastizales del nordeste argentino.* Resumen Anual INTA Mercedes (Corrientes), p.102-107, 1993.

26. Steffen, D. J.; **Leipold**, H. W.; **Gibb**, J. *Congenital anemia, dyskeratosis, and progressive alopecia in Polled Hereford calves.* Vet. Pathol. 28: 234-237, 1991.

27. Lane, A. G.; **Stuart**, R. L. *Gossypol intake may affect vitamin status of dairy cattle.* Feedstuffs, 9: 13-15, 1990.

28. Coles, E. H. *Veterinary Clinical Pathology*, 4º ed., Saunders, Philadelphia, 1989.

29. Habich, G. E. *Análisis de sangre de animales sanos como fuente de información para el manejo de rodeos lecheros.* Prod. Anim. 2: 2, 130-158, 1982.

30. Barger, M. A.; **Grindem**, B. C. *Interpretación del hemograma.* Selecc. Vet. 8: 5, 500-510, 2000.

31. Calhoun, M. C.; **Huston**, J. E.; **Kuhlmann**, S. W.; **Baldwin**, B. C.; **Menges**, W.; **Engdahl**, B. S.; **Ueckert**, D. N.; **Engdahl**, G. R. *Increased erythrocyte fragility in*

cattle, sheep and goats fed whole cottonseed. Texas Agr. Expt. Sta. Consol. Prog. Rpt. 4780, p. 30, 1990.

32. Gray, M. L.; **Greene**, L. W.; **Williams**, G. L.: *Effects of dietary gossypol consumption on metabolic homeostasis and endocrine function in beef heifers and cows.* J. Anim. Sci. 71: 11, 3052-3059, 1993.

33. Coppo, J. A. *Effect of dietary lipidic charge in the concentration of bovine plasmatic lipids and lipoproteins.* Acta Physiol. Pharm. 40: 289-297, 1990.

34. Coppo, J. A. *L´utilisation de suppléments nutritifs qui accroissent le degré de saturation des acides gras corporels des bovins.* Ann. Biol. Clin. 50: 263-264, 1992.

35. Dumas, D. *Influencia del colesterol en membrana sobre la deformabilidad y la fragilidad osmótica eritrocitarias.* Acta Bioq. Clín. Latin. 32: 2, 265-275, 1998.

36. Claypool, D. W.; **Hoffman**, C. H.; **Oldfield**, J. E.; **Adams**, H. P. *Canola meal, cottonseed and soybean meals as protein supplement for calves.* J. Dairy Sci. 68: 1, 67-70, 1985.

37. Krishna, G. *Possibilities of ensiling paddy straw and agro-industrial by-products for rearing crossbred calves in tropics.* World Rev. Anim. Prod. 20: 3-5, 1984.

38. Coppo, J. A.; **Scorza**, S. H.; **Coppo**, N. B. *Biochemical profiles of argentine cattle supplemented with cottonseed.* RIA 25: 3, 91-102, 1994.

39. Yudina, I. G.; **Skvortsov**, F. F. *Clinical and morphological findings in fowls after prolonged feeding of gossypol at threshold dosage.* Vses. Instit. Veter. Sanit. 5: 11-14, 1984.

40. Schalm, O. W. *Veterinary Hematology*, 4º ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1981.

41. Medway, W.; **Prier**, J. E.**; Wilkinson**, J. S. *Patología Clínica Veterinaria*, Uteha, México, 1980.

42. Gómez Piquer, J. *Análisis Clínicos en Veterinaria*, Mira Ed. Zaragoza, 1992.

43. Baumgrass, R.; **Weiwad**, M.; **Erdmann**, F.; **Liu**, J. O.; **Wunderlich**, D.; **Grabley**, S.; **Fischer**, G. *Reversible inhibition of calcineurin by the polyphenolic aldehyde gossypol.* J. Biol. Chem. 276: 51, 47914-47921, 2001.

44. Balcells, A. G. *La Clínica y el Laboratorio*, 11º ed., Marín, Barcelona, 1978.

45. Pesce, A. J.; **Kaplan**, L. A. *Methods in Clinical Chemistry*, Mosby, Saint Louis, 1990.

46. Steiner, M.; Frick, J.; **Rovan**, E. *In vivo study of LDH isoenzymes activities in heart, liver and testis cytosols of gossypol-treated rats.* Int. J. Androl. 7: 521-528, 1984.

47. Olgiati, K. L.; **Toscano**, W. A. *Kinetics of gossypol inhibitions of bovine lactate dehydrogenase X.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 115: 180-185, 1983.

48. Dalvi, R. R.; **Deoras**, D. P.; **Young-Curtis**, P. *Effect of gossypol treatment on liver and serum gamma-glutamyl transferase activity in rats.* Faseb. Journal, 9: A713, 1995**.**

49. Deck, L. M.; **Chamblee**, B. B.; **Royer**, R. E.; **Hunsaker**, L.; **VanderJagt**, D. L. *Inhibition of aldose reductase by gossypol-related compounds.* Adv. Exp. Med. Biol. 463: 487-492, 1999.

50. Gawai, K. R.; **Cox**, C.; **Jackson**, J.; **Dalvi**, R. R. *Changes in the activity of metabolic and nonmetabolic liver enzymes in rats following co-administration of gossypol with phenobarbital.* Pharmacol. Toxicol. 76: 289-291, 1995.

51. Coppo, N. B.; **Coppo**, J. A. *Creatinina, urea, proteínas plasmáticas y peso en terneros destete suplementados con semilla de algodón.* Med. Vet. 81: 4, 255-258, 2000.

52. Coppo, J. A.; **Coppo**, N. B. *Suplementación de terneros destete con semilla de algodón. Efectos sobre el peso y los electrolitos plasmáticos.* Prod. Anim. 20: 2, 85-91, 2000.

53. Koza, G. A.; **Balbuena**, O.; **Kucseva**, C. D.; **Coppo**, N. B.; **Coppo**, J. A. *Efectos de la suplementación con semilla de algodón sobre los lípidos plasmáticos y el pH ruminal de novillos cruza cebú.* Anales 5º Reunión Latinoamericana de Fisiología Veterinaria, p.15-17. La Plata, 2000.

54. Coppo, N. B.; **Coppo**, J. A. *Analitos glucídicos y lipídicos en plasma de terneros destete suplementados con semilla de algodón.* Anales 12º Reunión de Comunicaciones Científicas, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE, p. 142. Corrientes, 2001.

55. Koza, G. A.; **Balbuena**, O.; **Coppo**, N. B.; **Kucseva**, C. D.; **Coppo**, J. A. *Cambios del lipidograma en novillos suplementados con semilla de algodón.* Actas de Ciencia & Técnica 4: 78-81, 2001**.**

56. Coppo, J. A.; **Maccio**, O. A.; **Scorza**, S. H.; **Coppo**, N. B. *Desórdenes metabólicos en bovinos suplementados con semilla entera de algodón.* Arch. Zoot. España 42: 159, 301-311, 1993.