

ESTUDIO TOXICOLOGICO COMPARATIVO DE *GUSTAVIA SPECIOSA* E HIPERVITAMINOSIS A"

Por Rosalina Cadena Carrera,
Médico y Farmacólogo (x)

Cali, Diciembre de 1984

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor VICTOR MANUEL PATIÑO, Director del Instituto de Investigaciones Científicas del Valle del Cauca, por su entusiasmo y su ayuda en pro de la investigación.

A las estudiantes de Magister en Farmacología, AMPARO LLANOS y MARIELLA PANTOJA, por su colaboración en este estudio.

RESUMEN

Gustavia speciosa produce en las personas que lo consumen, coloración amarilla de piel y mucosas, lo cual ya fue descrito por Mutis. En su análisis bromatológico, se encuentra gran cantidad de carotenos, cifra hasta ahora la mayor conocida. En su estudio toxicológico se presenta en todos los ratones tratados con *Gustavia speciosa* amarilleamiento de la piel y lesiones óseas graves, demostradas por radiografías y estudios histopatológicos. Con el fin de evidenciar si dichas alteraciones eran debidas a hipervitaminosis A, se hizo un estudio comparativo, tratando a ratones con dosis de Vitamina A, equivalentes a las presentes en el fruto, lo cual produjo un cuadro tóxico con lesiones histopatológicas análogas. Lo anterior parece señalar una similitud en el cuadro tóxico producido por *Gustavia speciosa* e hipervitaminosis A.

PALABRAS CLAVES: *Gustavia speciosa* - Carotenos - Cartílago - Hueso - Hipervitaminosis A.

INTRODUCCION

Es un árbol de la familia LECYTHIDACEAS, especie endémica de la región del río Magdalena, conocido con el nombre vulgar de "CHUPA".

Recibe el nombre de *Gustavia*, porque éste género está dedicado a Gustavo III, rey de Suecia, y el de *speciosa* (bella en latín), por la belleza de sus flores (Patiño, 23).

Es un árbol de 3 a 5 metros de alto con hojas de unos 20 cm. lanceoladas, acuminadas, lisas, en rosetas terminales.

Las flores vienen en grandes grupos y tienen 6 pétalos blanquísimos, crasos, perfumados, entre los que resaltan los numerosísimos estambres de filamentos robustos los exteriores, delgados los internos, con sacos polínicos amarillos, todos graciosamente curvados al interior en cayado. Se van abriendo de una en una sin durar abiertas más de un día; al caer los pétalos, queda el ovario verde como un disco que semeja una ficha de juego de damas, con el cáliz y el corto estigma columnar.

(x) República de Colombia Universidad del Valle. Facultad de Salud. Farmacología.

Dentro del fruto, que está cubierto por un pericarpo resistente y áspero, se hallan muy apretadas 4 semillas envueltas en el arilo caseoso amarillo, que es lo que se come. Cada fruto tiene un diámetro longitudinal DL de 4, 6-3, 6 cm. y el D. transversal DT es de 3,5 a 2,9, y un peso que oscila entre 83 y 150 gr.

La época de cosecha es marzo y abril, cuando sale al mercado y es muy apetecido, en Honda y Mariquita.

Este fruto se descompone en pocos días, produciendo un fuerte olor repulsivo. Por este motivo a los árboles de esta familia se les conoce en Venezuela con el nombre de "palo de muerto".

El fruto se come directamente (arilo amarillo) en estado natural, o también en sopas o como sustituto de la grasa en la preparación del arroz y otras comidas, a las cuales imparte un hermoso color amarillo.

En relación con el color amarillo, ya en el siglo XVIII José Celestino Mutis describía que los campesinos de la región de Mariquita, presentaban una coloración amarilla de la piel cuando consumían frutos de chupa. En la actualidad continúa siendo de amplio consumo en dicha región (Patiño 23).

Con el fin de investigar si dicha coloración era debida a carotenos, se inició un análisis bromatológico para conocer su composición nutricional, simultáneamente con un estudio toxicológico, para averiguar si el consumo repetido de dicho fruto podría ocasionar trastornos patológicos, ya que en un estudio preliminar de toxicidad se encontraron algunas alteraciones óseas, y en las revisiones bibliográficas efectuadas no se hallan datos acerca de posible toxicidad por carotenos.

MATERIAL Y METODOS:

Los frutos de *Gustavia speciosa* proceden del corregimiento de Aguasal, municipio de Mariquita, remitidos por el doctor Víctor Manuel Patiño de INCIVA, los cuales una vez en la Universidad del Valle se procesaron de la siguiente manera:

Se extrajo la corteza y las semillas y se dejó la pulpa para la investigación. De 18,5 kg. del peso total se obtuvieron 4,5 kg. de pulpa, la cual para su preservación se congeló en bolsas plásticas.

Una parte de los frutos se procesó inmediatamente para su estudio bromatológico, en el cual se determinaron los siguientes datos: HUMEDAD, CENIZAS, GRASA, PROTEINAS, FIBRA CRUDA y CALCIO, FOSFORO, CARBOHIDRATOS y VITAMINAS C y A. Los métodos utilizados corresponden a los descritos en O.M.A. (1975) (7).

ESTUDIO TOXICOLOGICO PRELIMINAR: DOSIS LETAL 50

Introducción: La DL/50 se ha determinado siguiendo el método de Reed-Muench. (25).

Materiales y métodos: Animal utilizado: Ratones albinos Swiss cepa Univalle, de un peso de 20 g±2, sometidos a la dieta habitual del estabulario (Solla) y agua discreción hasta 6 horas antes de la experiencia. Los lotes se han elegido homogéneamente entre machos y hembras. Se han utilizado 12 animales para cada grupo.

Producto y dosis: *Gustavia speciosa*

- A) Sol. 10%.
- B) y C) Pulpa de *Gustavia*.
- D) Grupo control.

Vía y forma de administración :

- A) "Ad libitum" como bebida durante dos días.
- B) "Ad libitum" como comida durante otros dos días.
- C) "Ad libitum" añadiendo el alimento normal (Manna Solla), durante los 24 días siguientes.
- D) Grupo control (alimentado con Manna Solla).

TOXICIDAD SUBAGUDA: (25) (9).

Se realizó en ratones albinos Swiss cepa Univalle, de 20 días de edad y a términos de lactancia.

El número de animales para cada experimento y dosis fue de 20, los cuales se agruparon en números de dos en cada jaula. La vía de administración fue en todos los casos oral. La duración total de la investigación fue de 60 días.

Grupos de estudio:

A. Problema = *Gustavia speciosa* (Pulpa).

Días :		Dosis :
1 a 20		50 gr/ kg peso ratón = 25.000
		U.I. Vit. A .
21 a 60		100 gr/ kg peso ratón = 50.000
		U.I. Vit. A .

B. Patrón = Vitamina A comercial en forma de palmitato de Axeroftol en solución acuosa coloidal.

Días :		Dosis :
1 - 20	25.000	U.I. kg/ peso ratón.
21 - 60	50.000	U.I. kg/ peso ratón.

C. Control: Alimentado con la dieta habitual del estabulario (Manna - Solla).

Los parámetros a observar durante todo el experimento fueron:

- Control de peso bisemanal.
- Consumo de alimento semanal.
- Examen detallado de las posibles alteraciones tales como color de la piel y del pelo, examen óseo, articular y de las mucosas.
- Test de Irwin o examen neurológico conductal (9).
- Radiografía de los ratones al finalizar el experimento.

Después del sacrificio de los animales, estudio macroscópico y extracción de fémur, cúbito y radio, así como intestino e hígado para su estudio histopatológico.

RESULTADOS :**Estudio bromatológico :****(Tabla No. 1)****COMPOSICION DE LA *GUSTAVIA SPECIOSA* (CHUPA) :**

Humedad	50.87 %
Cenizas	2. 1 %
Grasa	14
Proteínas	5. 47 %
Fibra cruda	2. 29 %
Calcio	53.09 mg/ 100 gr Seca
Fósforo	4. 12 mg
Carbohidratos	25.27 g
Vit. C	1. 02 mg/ 100 gr
Vit. A	50.000 U

Destaca la gran cantidad de carotenos expresados en U.I. de Vitamina A en forma de Retinol.

T A B L A No. II

		VITAMINAS							
FRUTO	DESCRIPCION	CALCIO	FOSFORO	HIERRO	A	B1	B2	NIACINA	C
		mg	mg	mg	U.I	U.I	mg	mg	mg
<i>Gustavia</i> sp.	Pulpa	38	83	1	32.600	0.19	0.05	1	5
Chontaduro	Pulpa cocida	23	47	0.7	7.300	0.04	0.11	0.9	20

Contenido en 100 gr. de parte comestible
Instituto Nacional de Nutrición Colombia,
1978

FRUTO	CALORIAS	AGUA	PROTEINAS	GRASA	H de C	FIBRA	CENIZAS
<i>Gustavia</i> sp. (Chupa)	203	53.4	4.4	10	29.3	1.5	1.4
Chontaduro	185	52.2	3.3	4.6	37.6	1.4	0.2

Si se comparan estos datos con los obtenidos en el análisis del chontaduro (por el Instituto Nacional de Nutrición 1978) (7) (tabla No. 2), se observa que el contenido en Vit. A del chontaduro es de 4 a 7 veces menor, que el de la *Gustavia*, siendo éste según nuestros datos el fruto hasta ahora conocido que tiene mayor cantidad de vitamina A.

Estudio Toxicológico Preliminar:

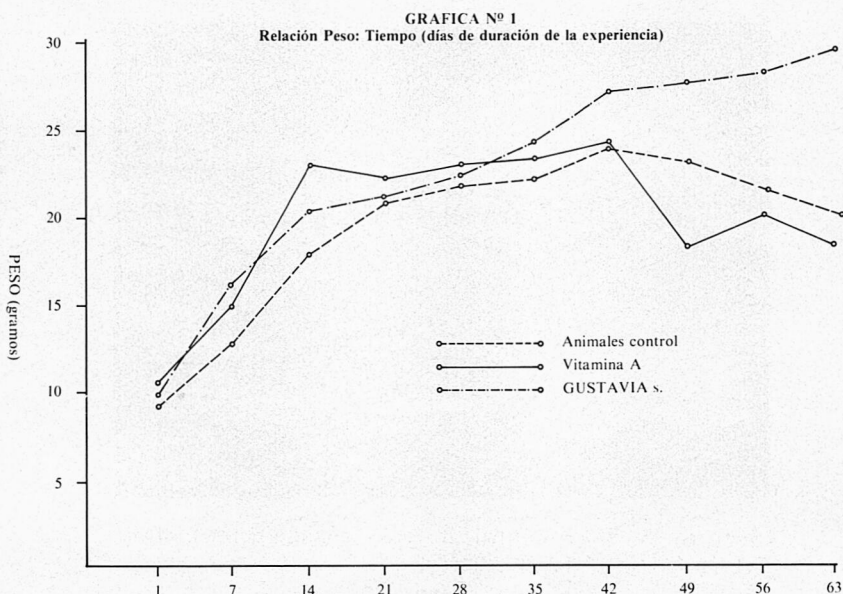
Durante los primeros 21 días no se observó en ninguno de los animales a los que se administró *Gustavia speciosa* excitabilidad, convulsiones o parálisis. Tampoco se presentaron modificaciones observables en la respiración y frecuencia cardíaca.

A la cuarta semana se observó una muy ligera coloración amarillenta en las plantas delanteras y en el hocico, haciéndose visibles a través del pelo, del cual no se observó caída.

En el grupo de las hembras tratadas se observó en uno de los animales amputación de los dedos tercero y quinto, y en otro amputación a nivel de la muñeca. Efectuado estudio radiográfico se indica que la ulna termina en punta, lo cual señala proceso de reabsorción, que es típico en la intoxicación por vitamina A. (fotografía No. 1).

Para descartar que la amputación se debiera a una posible pelea y posterior infección de la herida, se realizó un estudio bacteriológico de los extremos óseos por los métodos de Gram y de Ziehl, del que se puede concluir que los bacilos Gram positivos pleomórficos son debidos a contaminación corriente de la jaula. No se observaron bacilos ácido alcohol resistentes y ninguno de los otros ratones existentes en el bioterio presentaba lesiones similares.

Al final del experimento no se había presentado mortalidad alguna, por lo cual los animales fueron sacrificados efectuándose observación macroscópica, la cual no mostró alteraciones, salvo las de tipo óseo anotadas anteriormente.



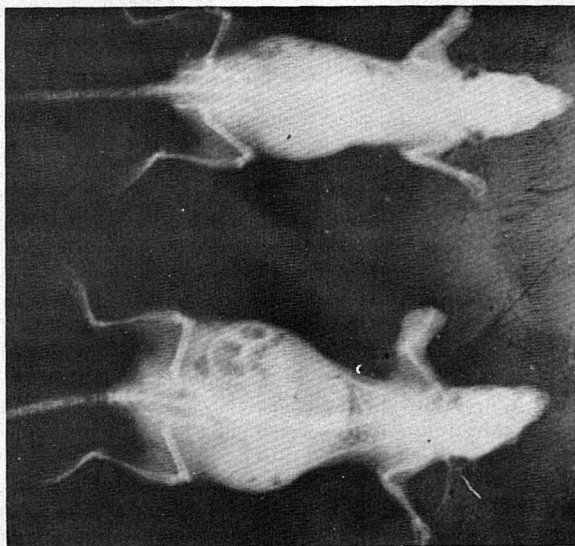


Foto 1.- Estudio radiográfico óseo de ratones tratados con *Gustavia speciosa*. Reabsorción ósea en punta de lápiz.

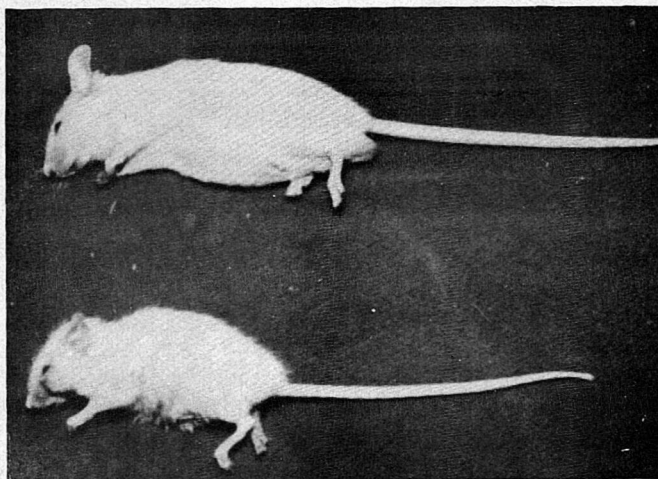


Foto 2.- A. Ratón normal. B. Ratón tratado con *Gustavia speciosa*. Diferencias en el crecimiento.

Toxidad Subaguda:

En el grupo control las curvas ponderales y el consumo de alimentos fueron normales.

Los animales tratados con *Gustavia speciosa* mostraron un aumento progresivo de peso hasta el día 42 de la experiencia, después del cual hubo un descenso, que al final de la investigación era 12% menor que el grupo control (fotografía No. 2).

En un grupo tratado con vitamina A hubo también aumento de peso hasta el día 42; al final los animales pesaban un 27% menos que el grupo control (gráfica No. 1).

Test de Irwin:

En el grupo control no se observaron alteraciones, pero en el grupo tratado con *Gustavia speciosa*, a partir del 7o. día se observó amarilleamiento de la piel y mucosas, con heces también amarillas. Hacia el día 29 todos los animales mostraban temblor e irritabilidad, con caída de pelo, dolor en las articulaciones y edema palpebral. Al final de la experiencia persistían las anomalías anteriores y además algunos animales presentaban dolor en las extremidades que les impedía la deambulación, luxación de algunas articulaciones de las patas anteriores, lordosis (fotografía No. 3).

Después del sacrificio y por examen macroscópico, se observó hepatomegalia y color amarillo de dicho órgano. Las articulaciones de los miembros superiores e inferiores mostraban hemorragias.

En el grupo patrón con Hipervitaminosis A se observaron a partir del día 32 las mismas alteraciones que en los animales tratados con *Gustavia speciosa*.

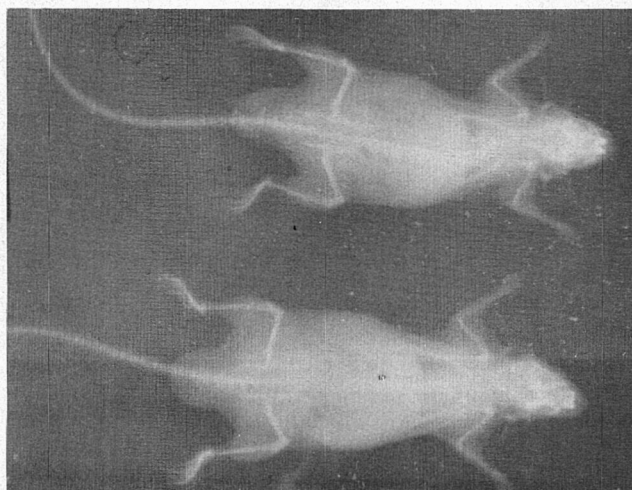


Foto 3.- Radiografía. A - Ratón normal. B - Ratón tratado con *Gustavia speciosa*. Obsérvese la lordosis.

Estudio Radiográfico:

Gustavia speciosa: En comparación con el Grupo control se observa ligero aumento de longitud de los huesos largos, así como un mayor depósito de calcio a nivel de los cartilagos epifisarios de crecimiento, que se notan más densos y ensanchados. También se nota mayor calcificación en las corticales óseas (fotografía No. 3).

Hipervitaminosis A : Escoliosis toracolumbar en dos de los ratones. No se aprecian modificaciones en la mineralización de las estructuras óseas. Menor desarrollo de tejidos blandos y de tamaño en comparación con el grupo control.

Control: Desarrollo óseo y de tejidos blandos normal.

Estudio Histopatológico:

Gustavia speciosa: En todas las placas teñidas con el método de la hematoxilina-eosina, se observa engrosamiento del periostio, con un fenómeno reparativo alrededor y necrosis en los tejidos vecinos. Disminución en la formación de trabéculas óseas. El cartilago de crecimiento muestra disminución y desorganización en el número de condrocitos. Dos de los animales presentaron reabsorción ósea en punta de lápiz (fotografías 4 - 5).

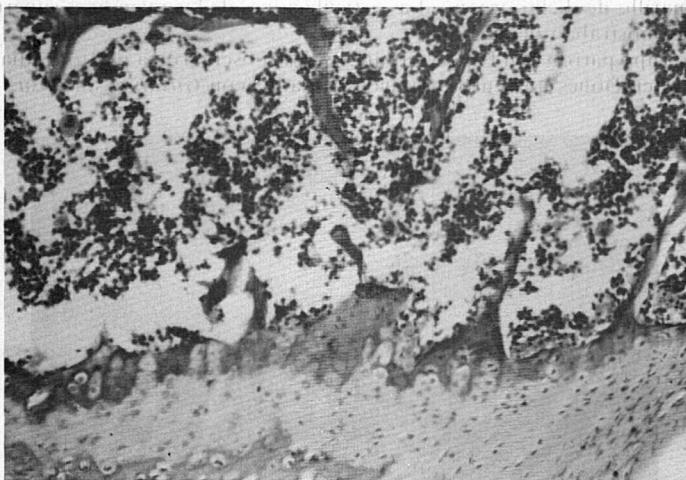


Foto 4.- Estudio histopatológico óseo - Ratón tratado con *Gustavia speciosa*.

Hipervitaminosis A: Hay aplanamiento del cartilago de crecimiento con disminución y desorganización de las pilas de condrocitos. Se observa además rarefacción de espículas óseas en la vecindad del cartilago. En otras áreas hay esclerosis ósea y focos de necrosis ósea con infiltración inflamatoria aguda que se extiende a los tejidos articulares vecinos y al músculo estriado vecino; de la piel se observa atrofia de la epidermis y de los folículos pilosos (fotografía No. 6).

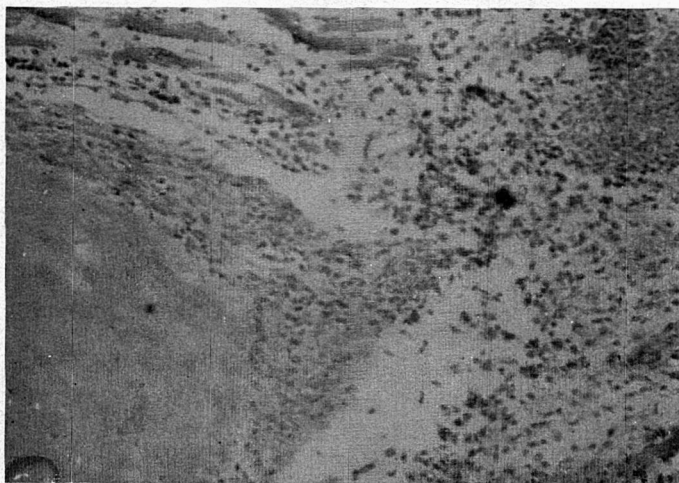


Foto 5.- Estudio histopatológico óseo; hueso en punta de lápiz con reabsorción, en ratón tratado con *Gustavia speciosa*.

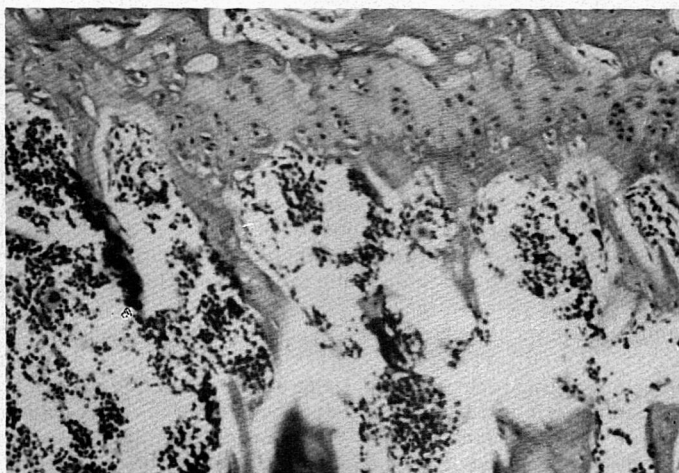


Foto 6.- Estudio histopatológico óseo. Hipervitaminosis A (ratón).

Control: Se observa línea de crecimiento epifisario normal, con cartilago grueso con abundantes condrocitos bien dispuestos en filas o "pilas de monedas" y con trabéculas óseas subyacentes abundantes, gruesas de conformación normal (fotografía No. 7).

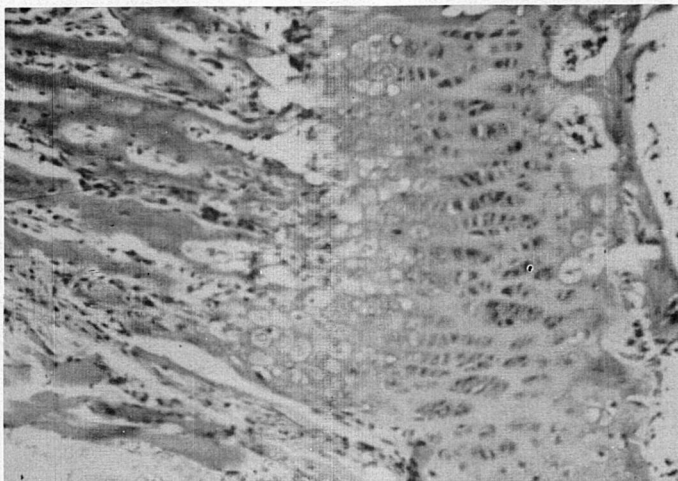


Foto 7.- Estudio histopatológico óseo. Control (ratón).

DISCUSION

En la literatura revisada no se encuentran datos sobre posible toxicidad por carotenos, con excepción del citado por Farreras Valentin (4), el cual describe que en radiografías de fetos humanos de madres que durante el embarazo se alimentaron con cantidades exageradas de carotenos, se observa osteosclerosis, debida a engrosamiento del periostio e hipertrofia laminillar de la cortical, que son lesiones similares a las halladas en el estudio radiográfico óseo de los ratones tratados con *Gustavia speciosa*.

En cambio aparecen abundantes investigaciones sobre toxicidad por hipervitaminosis A (1) - (5) - (10) - (13) - (20) - (17) - (18) tanto en humanos - niños y adultos - como en animales de experimentación, en los cuales se describe que la administración de Vitamina A a dosis elevadas produce hepatomegalia, alteraciones dermatológicas con fisuras, úlceras, alopecia y cambios histopatológicos óseos (5), que son hallazgos también encontrados en nuestro estudio sobre *Gustavia speciosa*.

Como parte de esta investigación se hizo un estudio comparativo entre el grupo de animales tratados con *Gustavia speciosa* y el tratado con vitamina A, encontrándose tanto en el cuadro tóxico como en el examen histopatológico óseo lesiones similares, lo que aboga en favor de que el cuadro tóxico producido por *Gustavia speciosa*, no sería otro que una hipervitaminosis A.

La biosíntesis de la vitamina A a partir de B - caroteno, tiene lugar (27) en la pared del intestino delgado, por acción de la dioxigenasa de beta-caroteno que con la ayuda de la tiroxina rompe el doble enlace 15, 15' y convierte el B - caroteno en 2 moléculas de retinal; esta reacción requiere oxígeno molecular y está influenciada por la cantidad de proteínas de la dieta.

Una parte de retinal se oxida a ácido retinoico y la mitad se reduce a RETINOL, el cual se esterifica y se transporta por la linfa, almacenándose en el hígado; llega a la sangre transportado por una proteína RBP o retinol unido a proteína - la cual se sintetiza en menor cantidad en casos de desnutrición (10).

La toxicidad de la vitamina A, se presenta cuando los niveles de RBP no son suficientes para transportar el RETINOL, ya que cuando la vitamina A no está unida a proteínas es membranólítica (15) y reduce la estabilidad de los lisosomas celulares.

En la hipervitaminosis A, se ha detectado una disminución de la RBP circulante (10), debida a una reducción de la RBP del hígado, lo cual causaría toxicidad.

Creemos que debido a la gran cantidad de carotenos que contiene la *Gustavia speciosa*, queda libre una gran cantidad de vitamina A, que es la causante de los hallazgos encontrados en este estudio.

CONCLUSIONES

- *Gustavia speciosa* administrada a ratones durante 60 días, produce un cuadro tóxico con lesiones histopatológicas graves.
- En el estudio comparativo frente a vitamina A, a dosis equivalentes a las presentes en el fruto, se reproducen con idéntica gravedad tanto el cuadro tóxico, como las lesiones histopatológicas.

RECOMENDACIONES

- Continuar las investigaciones bromatológicas y toxicológicas del género *Gustavia*, en especial la *superba*, autóctona de la Costa Pacífica del Valle del Cauca.
- Fomentar el cultivo de la *Gustavia speciosa*, ya que a dosis adecuadas es una fuente excelente de vitamina A.
- Adelantar estudios epidemiológicos en las áreas de consumo de *Gustavia speciosa* para investigar si hay en niños alguna patología relacionada con el crecimiento.
- Iniciar estudios sobre la incidencia de cáncer epitelial en dichas zonas, dado el efecto protector de los carotenos en esta enfermedad (2) (11) (24).

BIBLIOGRAFIA

1. A.D. Bangham, T.J. Dingle and J.A. Lucy: Studies on the Mode of Action of Excess of Vitamin A. 9. Penetration of Lipid Monologues by Compounds of the Vitamin A Series. *Biochem. J.* 90:133-140, 1964.
2. E. Bjelke: Dietary Vitamin A and Human Lung Cancer, *Int. J. Cancer* 15:561-565, 1975.
3. W.T. Dingle, and J.A. Lucy: Vitamin A, carotenoids, and cell function. *Biol. Rev.*, 1965, 40, 422-461.
4. Farreras Valetín P.: *Medicina Interna*, 7a. Edición, Editorial Marín, Barcelona. pág. 759; 1967.

5. H.B. Fell, and J.T. Dingle: Studies on the mode of action of excess Vitamin A. Glycosomol protease and the degradation of cartilago matrix. *Biochem J.* (1963), 87, 403 - 408.
6. Goodman & Gilman: The Farmacological Basis of Therapeutics. 1980. Mc. Millan Publishing Co., Inc. N.Y. p. 1586.
7. Horwitz William Ed.: Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemist, pg. 821 - 822, 1975.
8. Instituto Colombiano de Nutrición: Tabla de Composición de Alimentos Colombianos. Grupo IV - 1978.
9. Irwin Samuel: Animal and Clinical Pharmacologic Technique in Drug Evaluation 1964, pg. 36 - 54.
10. A.K. Mallia, J.E. Smith and D.S. Goodman: Metabolism of Retinol-Binding Protein and Vitamin A During Hypervitaminosis A in the Rat. *J. Lipid Res.* 16:180-188, 1975.
11. C. Mettlin, S. Graham and M. Swanson: Vitamin A and Lung Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 62:1435-1438, 1979.
12. Nutrition Reviews Vol. 30 No. 4 - pg. 96 1972
13. id Suplemento pg. 41 1974
14. id Vol. 35 No. 11 pg. 305 Nov. 1977
15. id Vol. 36 No. 6 pg. 187 Jul. 1978
16. id Vol. 40 No. 9 pg. 272 Sep. 1982
17. id Vol. 40 No. 9 pg. 279 Sep. 1982
18. id Vol. 40 No. 10 pg. 303 Oct. 1982
19. id Vol. 41 No. 7 pg. 224 Jul. 1983
20. id Vol. 41 No. 7 pg. 226 Jul. 1983
21. id Vol. 41 No. 9 pg. 289 Sep. 1983
22. id Vol. 41 No. 11 pg. 357 Nov. 1983
23. Patiño Víctor Manuel: no. 80 pp. 365. Tomo I Frutales. Plantas cultivadas en América Equinocial. Cali, 1963.
24. R. Peto, R. Doll, J.D. Bucklev and M.B. Spom: Can Dietary B-Carotene Materially Reduce Human Cancer Rates? *Nature* 290:201-208, 1981.
25. Reed - Muench - Pizzi (1968): Citado por Ruiz G.J. en Métodos Biológicos de Valoración de Medicamentos. Editorial Alhambra, 1977.
26. Report of the International Vitamin A Consultative Group. Library of Congress Catalog Card No. 82 - 0818-26 July 1982.
27. Serie de Informes Técnicos de la O.M.S.: Pautas para la evaluación de los medicamentos destinados al hombre pg. 22-23.