

EDITORIAIS

GOSSIPOL: UM AGENTE POTENCIALMENTE TRIPANOCIDA

Gossipol [1, 1', 6, 6', 7, 7'-hexahidroxi-5, 5'-disopropil-3, 3'-dimetil (2, 2'-binaftaleno)-8, 8'-dicarboxaldeído] é um composto amarelo isolado do algodoeiro. Tem uma ação anticoncepcional em machos de várias espécies incluindo o ser humano e está sendo atualmente testado na China como contraceptivo em homens. A administração oral desta droga produz oligo- ou azospermia, sem efeitos colaterais significativos⁸. Porém, a interferência com a espermatogênese é reversível e, na maioria dos casos, a contagem dos espermatozoides volta ao normal em 2 a 3 meses após a suspensão do tratamento. O mecanismo de ação é desconhecido. Alguns autores têm proposto que o gossipol agiria por inibição seletiva da isoenzima X ou C₄ da desidrogenase láctica (LDH X). Esta enzima, descoberta por nós em 1963² é específica do espermatozoide e é associada ao processo metabólico, provendo energia à mobilidade e sobrevivência do gameta³.

Em 1976, nós descobrimos que cultura de epimastigotas do *Trypanosoma cruzi* produz uma enzima, denominada desidrogenase α -hidroxiácido (HADH), que tem uma especificidade para substrato similar àquela do LDH X^{5,4}. Tal ação do gossipol sobre o LDH X nos levou a testar o composto sobre o HADH do *T. cruzi*. Este provou ser um inibidor poderoso, não apenas sobre o HADH, mas também sobre outros NAD e oxiredutases associados a NADP do parasito (desidrogenase málica (MDH), desidrogenase NADP-glutâmica (GlutDH), enzima málica e glicose-6-fostado desidrogenase). O gossipol não tem ação sobre a succinato desidrogenase, que é uma flavoproteína⁷. Os valores ki com respeito ao substrato foram 0,73, 0,3 e 3,5 M para HADH, MDH e GlutDH respectivamente e 1,1, 0,19 e 7,8 M com respeito à coenzima. A inibição é não competitiva para o substrato e incompetitiva para a coenzima⁶.

Esta ação inibitória sobre enzimas relacionadas às "vias de produção de energia" pode ser responsável pela atividade paralisante da droga sobre o *T. cruzi*. Epimastigotas expostas por 30 min a 25 μ M de gossipol ou 5 min a 50 μ M são completamente imobilizados. No curso desta investigação, observamos alterações morfológicas dos parasitos submetidos ao gossipol. Observações ao nível ultra-estrutural mostraram que alteração mais precoce ocorre ao nível dos cinetoplastos e de mitocôndrias¹. O crescimento

GOSSYPOL: A POTENTIAL TRYPANOCIDAL AGENT

Gossypol [1, 1', 6, 6', 7, 7'-hexahidroxi-5, 5'-disopropyl-3, 3'-dimethyl-(2, 2' binaphtalene)-8, 8'-dicarboxaldehyde] is a yellow compound isolated from the cotton plant. It has antifertility action on males of several species including human and is currently being tested in China as a contraceptive in men. Oral administration of the drug produces oligo- and azospermia without significant undesirable effects⁸. Arrest of spermatogenesis is reversible; in most cases sperm counts return to normal 2 to 3 months after discontinuation of treatment. The mechanism of action is not known. Some authors have proposed that gossypol would act by selective inhibition of isozyme X or C₄ of lactate dehydrogenase (LDH X). This enzyme, discovered by us in 1963², is specific of spermatozoa and is associated to metabolic processes providing energy for motility and survival of the gametic cell³.

In 1976, we found that culture epimastigotes of *Trypanosoma cruzi* possess an enzyme, designated α -hydroxyacid dehydrogenase (HADH), showing substrate specificity similar to that of LDH X^{5,4}. The reported action of gossypol on LDH X led us to test the compound on HADH from *T. cruzi*. It proved to be a very powerful inhibitor, not only of HADH, but also of other NAD and NADP-linked oxidoreductases of the parasite (malate dehydrogenase (MDH), NADP-glutamate dehydrogenase (GlutDH), malic enzyme and glucose-6-phosphate dehydrogenase). Gossypol has no action on succinate dehydrogenase, a flavoprotein⁷. Ki values with respect to substrate were 0.73, 0.3 and 3.5 μ M for HADH, MDH and GlutDH respectively, and 1.1, 0.19 and 7.8 μ M with respect to the coenzyme. Inhibition is non competitive for the substrate and uncompetitive for the coenzyme⁶.

This inhibitory action on enzymes related to energy-producing pathways may be responsible for the paralyzing activity of the drug on *T. cruzi*. Epimastigotes exposed for 30 min to 25 μ M gossypol or to 5 min to 50 μ M are completely immobilized. In the course of this study, we observed morphological alterations of parasites submitted to gossypol. Observations at the ultrastructural level showed that the earliest damages occur in the kinetoplast and the mitochondrion¹. Growth of *T. cruzi* in culture is also

do *T. cruzi* em culturas também é afetado pelo gossypol. Uma pequena concentração de 0,01 μM da droga adicionada ao meio reduz a contagem parasitária em 10 dias para 13% em relação aos controles⁷.

Tripomastigotas sanguíneos de camundongos infectados são paralisados e sofrem alterações morfológicas quando expostos ao gossypol de uma forma semelhante à observada com epimastigotas.

Até o momento, nossas observações estão limitadas à exposição *in vitro* de epimastigotas e tripomastigotas ao composto. Estudos adicionais em culturas de tecido e em animais infectados são necessários para esclarecer a atividade do gossypol *in vivo*.

Os pesquisadores chineses têm acumulado vasta experiência usando a droga em seres humanos como agente anticoncepcional. Não têm sido relatados efeitos colaterais, após tratamento prolongado (mais de 4 anos)⁸. Informações disponíveis indicam que o composto não tem propriedades mutagênicas⁹. A atividade do gossypol nas células gametogênicas dos túbulos seminíferos demonstra que ela pode penetrar através de membranas celulares e outras barreiras semipermeáveis (sangue-testículo). Estudos comparativos em nosso laboratório mostraram que as oxirredutases humanas purificadas, associadas à NAD e NADP são menos sensíveis à droga que as enzimas do *T. cruzi*. Baseando-se em todas essas evidências, parece conveniente se empreender experimentos clínicos em pacientes chagásicos sem maior demora. Entretanto, investigações adicionais ainda são necessárias para se estabelecer sem dúvida a utilidade e segurança do gossypol como um agente terapêutico na doença de Chagas. Antes que tais aspectos sejam elucidados, o uso em pacientes humanos não deve ser autorizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blanco A, Aoki A, Montamat EE, Rovai LE. Effect of gossypol upon motility and ultrastructure of *Trypanosoma cruzi*. Journal of Protozoology 30: 648-651, 1983.
2. Blanco A, Zinkham WH. Lactate dehydrogenases in human testes. Science 139: 601-602, 1963.
3. Burgos C, Coronel CE, Gerez de Burgos NM, Rovai LE, Blanco A. Studies in vitro on shuttle systems of mouse spermatozoa. Biochemical Journal 208: 413-417, 1982.
4. Coronel CE, Rovai LE, Gerez de Burgos NM, Burgos C, Blanco A. Properties of the alpha-hydroxyacid dehydrogenase isozymes from *Trypanosoma cruzi*. Molecular and Biochemical Parasitology 4: 29-39, 1981.

affected by gossypol. A concentration as low as 0.01 μM of the drug added to the medium reduces the parasite count after ten days to 13% of that of controls⁷. Blood trypomastigotes from infected mice are paralysed and morphologically altered by exposure to gossypol in a manner similar to that observed with epimastigotes. So far, our evidence is limited to *in vitro* observations of epimastigotes and trypomastigotes exposed to the compound. Further studies on infected tissue cultures and on infected laboratory animals are necessary to ascertain the activity of gossypol *in vivo*.

The Chinese investigators have accumulated a vast experience on the use of the drug in humans as an antifertility agent. They report no undesirable effects after prolonged treatment (more than 4 years) at effective doses⁸. Available information indicates that the compound has no mutagenic properties⁹. The activity of gossypol on gametogenic cells in seminiferous tubules demonstrates that it can penetrate through cellular membranes and other permeability barriers (blood-testis). Comparative studies in our laboratory showed that purified human NAD- and NADP-linked oxidoreductases are less sensitive to the drug than the *T. cruzi* enzymes. On the basis of all this evidence, it appears tempting to undertake clinical trials in chagasic patients without further delays. However, much more investigation is needed to establish without doubt the usefulness and safety of gossypol as a therapeutic agent in Chagas' disease. Until these aspects are elucidated, its use in human patients should not be authorized.

5. Gerez de Burgos NM, Burgos C, Blanco A, Paulone I, Segura EL. Actividad α -hidroxiácido dehidrogenasa en *Trypanosoma cruzi*. Acta Physiologica Latinamericana 26: 10-19, 1976.
6. Gerez de Burgos NM, Burgos C, Montamat EE, Rovai LE, Blanco A. Inhibition by gossypol of oxidoreductases from *Trypanosoma cruzi*. Biochemical Pharmacology 33: 955-959, 1984.
7. Montamat EE, Burgos C, Gerez de Burgos NM, Rovai LE, Blanco A, Segura EL. Inhibitory action of gossypol on enzymes and growth of *Trypanosoma cruzi*. Science 218: 288-289, 1982.
8. National Coordinating Group on Male Fertility. A new male contraceptive drug- cotton phenol gossypol. Chinese Medical Journal 4: 417-428, 1978.
9. Zatchni GI, Osborn CK. Gossypol: A possible male antifertility agent. Research Frontiers in Fertility Regulation. Northwestern University Press, Chicago, Vol. I(4) 1981.

Antonio Blanco

Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias
Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.
5016 Córdoba, Argentina.