

# **Seleniosis crónica en ratas y factores modificantes en la dieta**

## **I — CALIDAD DE LAS PROTEINAS \***

JOSÉ FÉLIX CHÁVEZ\*\* Y CARL A. BAUMANN\*\*\*

### INTRODUCCION

Hasta hace poco la importancia biológica del selenio estuvo relacionada con los efectos tóxicos en el organismo animal (1, 2). Según investigaciones recientes, este concepto ha sido encauzado de manera diferente al descubrirse su relación funcional con la vitamina E y su posible carácter de elemento traza indispensable en el normal mantenimiento y desarrollo de muchas especies de animales (3).

Aunque los informes de casos comprobados de seleniosis crónica en el hombre son relativamente poco frecuentes (4, 5), la posibilidad de intoxicación en la especie humana por ingestión continua de moderadas dosis de selenio presentes en ciertos alimentos puede llegar a representar un peligro potencial desde el punto de vista de la salud pública (6, 7).

Un conocimiento exacto de las fuentes de selenio y su inmediata eliminación de la dieta (4, 5), la administración oral de substancias tales como bromobenceno (8) y la acción de

---

\* El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Wisconsin, Madison, Wisconsin. Publicado con la aprobación del Director de la Estación Agrícola Experimental de Wisconsin. Financiado parcialmente por el Comité de Investigaciones de la Escuela de Graduados con fondos del Wisconsin Alumni Research Foundation.

\*\* Instituto Nacional de Nutrición, Caracas, Venezuela.

\*\*\* Departamento de Bioquímica, Universidad de Wisconsin, Madison, Wisconsin.

ciertos elementos, principalmente arsénico (9, 10), constituyen recursos efectivos a emplearse para evitar la seleniosis y atenuar sus manifestaciones. Es importante destacar sobre este particular que la suministración de alimentos con un elevado contenido de proteínas desempeña un papel de suma importancia contra la seleniosis (11).

El período de sobrevivencia de ratas blancas sometidas a raciones seleníferas depende en gran parte de la cantidad y calidad de proteínas contenidas en la dieta (11, 12, 13, 14). En la mayoría de los ensayos llevados a cabo en animales de laboratorio en los cuales se investigaba la capacidad variable de protección de las proteínas dietéticas en la toxicidad del selenio, la fuente de este elemento ha sido orgánica, es decir, productos alimenticios tales como trigo y maíz con un alto contenido de selenio o bien en forma de selenito de sodio.

Recientemente se ha informado sobre experiencias que indican una menor toxicidad para el seleniato en comparación al selenito (15, 16). En consecuencia, con objeto de contribuir a uniformizar el criterio referente al grado de toxicidad de los compuestos de selenio más utilizados en ensayos biológicos, se han estudiado sistemáticamente ambas formas de selenio en combinación con raciones isoproteicas elaboradas a partir de diferentes materiales.

La suplementación con DL-metionina de una de las proteínas ensayadas ha sido igualmente estudiada en el presente trabajo, ya que el papel desempeñado por este aminoácido para atenuar la toxicidad del selenio no está todavía bien definido. A este respecto podemos anotar que unos autores le han atribuido efectos positivos (17, 13), no siendo esta opinión compartida por otros (18, 19).

## MATERIALES Y METODOS

Un total de 148 ratas machos Holtzman, de peso entre 40 y 50 gramos, fueron utilizadas en el presente experimento, siendo distribuidas para cada ensayo en la siguiente forma: 8 ratas para las raciones seleníferas y 6 para los grupos control. Los animales fueron mantenidos en jaulas galvanizadas individuales, recibiendo en cada caso agua destilada y dieta "ad libitum".

Se prepararon raciones isoproteicas a un nivel de 18% a partir de los siguientes materiales: harina de semillas de linaza <sup>a)</sup>, albúmina de huevo <sup>b)</sup>, caseína extraída <sup>c)</sup>, "Purina Rat Chow" <sup>d)</sup> y harina de soya purificada <sup>e)</sup>. En la tabla N<sup>o</sup> 1 se presenta la composición porcentual de las dietas empleadas en este ensayo.

Todas las dietas seleníferas contenían 10 ppm. de selenio como selenito o seleniato de sodio, según el caso, incorporadas a la dieta en la forma de una premezcla elaborada con una modificación de las sales de Wesson (20) preparadas en este laboratorio y descrita con anterioridad ("sales libres de sulfato") (15).

La harina de soya purificada fue suplementada con dos diferentes porcentajes de DL-metionina: al comienzo del experimento se añadió 0,92% de este aminoácido con el objetivo de igualar el contenido de metionina presente en la harina de soya con el de la albúmina de huevo (21). El segundo nivel de 0,60% fue arbitrariamente seleccionado con fines comparativos.

Las dietas se suministraron por períodos de 4 ó 6 semanas. Sin embargo, la información presentada en las tablas 2, 3 y 4 corresponden a un tiempo más corto, ya que las variaciones en los aumentos de peso de las ratas sometidas a las diferentes dietas fueron más representativas al cabo de 21 ó de 28 días. Asimismo, gran número de ratas alimentadas con raciones seleníferas murieron en el curso de las primeras 6 semanas.

Es interesante indicar, además, que el aumento de peso observado en algunas ratas intoxicadas con selenio es en gran parte atribuible a edema subcutáneo en la cavidad abdominal y/o a líquido ascítico, síntomas que responden a manifestaciones de seleniosis crónica en esta especie. Ello ha sido constatado por nosotros en base a la observación diaria de estos animales y a los resultados correspondientes al examen macroscópico de los animales fallecidos.

a) "Old Process", expeller type (Spencer - Kellogg).

b) National Biochemical Inc.

c) Caseína comercial extraída con alcohol en caliente.

d) Una fórmula comercial constante. Ralston Purina Company, Checkerboard Square, St. Louis 2, Mo.

e) Assay Protein C-1 (Drackett). Archer Daniels Midland Company, 733 Marquette Ave., Minneapolis 40, Minn.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Para evaluar tanto el grado de toxicidad de los compuestos de selenio utilizados como la capacidad de protección de las proteínas, se contemplaron los criterios siguientes: variaciones en el peso, tasa de sobrevivencia y manifestaciones externas de seleniosis. En la tabla N<sup>o</sup> 2 puede apreciarse el promedio de la ganancia de peso de cada grupo de ratas y el número de sobrevivientes a 21 días.

El análisis estadístico correspondiente al aumento de peso de los animales en los diferentes grupos que recibieron albúmina de huevo, caseína extraída, "Purina Rat Chow" y harina de soya purificada no reveló diferencias entre las dos formas de selenio, poniéndose en evidencia, en cambio, diferencias altamente significativas entre las raciones seleníferas y su grupo control respectivo, según puede inferirse de la información presentada en el análisis de variancia (Tabla N<sup>o</sup> 6). Ello patentiza el marcado efecto depresor que sobre el crecimiento tienen indistintamente el selenito o el seleniato de sodio al ser administrados en combinación con las proteínas enumeradas anteriormente.

Los resultados obtenidos cuando el selenio es dado en dietas que contienen albúmina de huevo como fuente de proteínas sugieren una toxicidad más elevada para el selenito que para el seleniato de sodio cuando se usa como criterio la mortalidad a 28 y a 42 días (Tabla N<sup>o</sup> 3).

Las ratas alimentadas con caseína extraída acusaron a los 21 y 28 días un aumento de peso ligeramente mayor, aunque no significativo, favorable al grupo que recibía selenito sódico. Esta discrepancia ya había sido observada por nosotros en ensayos anteriores. Basándose en el período de sobrevivencia a 28 y a 42 días, no puede decirse que existen diferencias en el grado de toxicidad de estas sales de selenio cuando son administradas en combinación con caseína como único material proteico en la dieta.

Con respecto a la harina de soya purificada, la tasa de sobrevivencia, según puede observarse en la Tabla N<sup>o</sup> 3, sugiere una toxicidad menor para el seleniato de sodio.

En contraste con la escasa capacidad de protección de las raciones comentadas, el aumento de peso de las ratas que recibieron selenio, bien como selenito o como seleniato en com-

binación con la harina de semillas de linaza, es prácticamente el mismo que el del grupo control después de 21 días de ensayo, como puede apreciarse en la Tabla N° 2. No se encontró diferencia significativa entre el aumento de peso de estos animales y el de su respectivo grupo control. Esto confirma el efecto protector de la harina de linaza reportado en 1941 por Moxon (22) y más recientemente por Halverson y colaboradores (23). Presumiblemente, el proceso de detoxificación se realice por los riñones o a nivel del tracto gastrointestinal, toda vez que la harina de linaza es relativamente inactiva en comparación con otros productos comerciales o naturales (24, 25), para promover la detoxificación del organismo por las vías respiratorias al ser eliminado el selenio bajo la forma de selenuro de dimetilo (26). Esto se halla en marcado contraste con la efectividad de la "Purina Rat Chow" en inducir la volatilización de dosis aisladas y subtóxicas de selenito (15, 25).

En el caso del producto comercial "Purina Rat Chow", la toxicidad del selenio puede apreciarse tal vez con más claridad según puede comprobarse de la tasa de sobrevivencia a 28 días (Tabla N° 3). En la Tabla N° 2 podemos ver que a los 21 días la ganancia en peso de los animales que recibían selenito y seleniato es, respectivamente, de apenas 16,6% y 20,5% en relación a su grupo control. Estos porcentajes correspondientes a la ganancia de peso de ratas selenizadas con respecto al control positivo son, con excepción de las dietas suplementadas con metionina, los más bajos hallados en el presente experimento. En consecuencia, podemos considerar al producto comercial en referencia como el de menor efectividad entre los materiales ensayados para prevenir las manifestaciones de seleniosis crónica en ratas.

Merecen especial atención los resultados obtenidos al suplementar con metionina la harina de soya. En la Tabla N° 4 podemos apreciar la ganancia de peso y la tasa de sobrevivencia a 21 y a 28 días de los animales que recibían la harina de soya suplementada con 0,92% de DL-metionina. De la observación de los aumentos de peso y de la sobrevivencia a 21 días vemos que, sin haber diferencias significativas, la adición de metionina no confirió efecto protector contra el selenito de sodio y en algunos casos agravó su toxicidad. En cambio, cuando el selenio se hallaba presente bajo la forma de seleniato, la presencia de metionina en la dieta originó

diferencias significativas en la ganancia de peso, lo cual indica que los efectos de la suplementación con metionina no son los mismos, dependiendo en este caso del compuesto de selenio usado.

En la misma Tabla N<sup>o</sup> 4 puede verse que, aun a los 21 días, el aumento de peso de los animales control que recibían la soya con adición de metionina es mayor que el del grupo de ratas correspondiente al control positivo sin suplementación, debido a la deficiencia de metionina en la soya.

Asimismo, existen diferencias significativas entre el aumento de peso de los animales que eran alimentados con dietas seleníferas suplementadas con metionina, es decir, entre las dos formas de selenio. Según se aprecia en la Tabla N<sup>o</sup> 4, el aumento de  $27,6 \pm 7,2$  gr. en las ratas que recibían selenito difiere significativamente de  $43,7 \pm 12,3$  gr. correspondiente a los animales que ingerían seleniato. La tasa de sobrevivencia sugiere igualmente cierto efecto atenuante cuando el selenio se encuentra como seleniato de sodio.

El cuadro que presentaban los animales a los 28 días puede también ser estudiado en la Tabla N<sup>o</sup> 4. Aunque el escaso número de sobrevivientes no nos permitió efectuar los cálculos estadísticos correspondientes, es posible, sin embargo, destacar algunos hechos de interés: en primer lugar, la tasa de sobrevivencia corrobora el hecho de que la toxicidad del selenito de sodio aparentemente era incrementada por la suplementación con metionina, al menos cuando la fuente de proteínas la constituye harina de soya purificada. Comparando el período de sobrevivencia de las ratas que recibían seleniato de sodio más metionina a 28 días con el del mismo grupo a 21 días, podemos apreciar que sólo en el lapso de 7 días murieron 6 animales, lo que nos permite llegar a conclusiones similares a las anotadas para el selenito.

En la misma tabla N<sup>o</sup> 4 pueden apreciarse los resultados de la suplementación de la harina de soya con adición de selenito de sodio, pero esta vez con 0,60% de DL-metionina. Las tasas de sobrevivencia observadas y presentadas en esta tabla confirman el aparente aumento en la toxicidad de esta sal de selenio, cuando la soya es suplementada con metionina aun a niveles menores.

Todo esto sugiere que el aminoácido en referencia, al ser incorporado simultáneamente con selenito o seleniato de sodio

en dietas que contienen harina de soya purificada de un tenor proteico de 18%, no sólo carece de efecto protector alguno contra la toxicidad de estas sales de selenio, sino que aparentemente es capaz de agravarla en ciertos casos.

Finalmente, en la Tabla N<sup>o</sup> 5 es presentado el período de sobrevivencia de todos los animales que fueron alimentados con las raciones seleníferas indistintamente de la fuente de proteínas, pero distribuidos de acuerdo al compuesto de selenio dado. Esta tabla sugiere a grandes rasgos una toxicidad mayor para el selenito de sodio tanto a 28 como a 42 días.

Además de la calidad y cantidad de proteínas en la dieta, otros factores pueden modificar la toxicidad del selenio, tales como el compuesto de selenio utilizado, cantidad administrada y período de tiempo que se mantiene la suministración. Son asimismo importantes las alteraciones del mecanismo de detoxificación en el organismo y la propia capacidad genética del animal para soportar y asimilar una ingestión moderada, pero continua, de pequeñas cantidades de selenio.

## CONCLUSIONES

De todas las proteínas ensayadas, la harina de semillas de linaza es la más efectiva para contrarrestar la toxicidad de 10 ppm. de selenio bajo la forma de selenito o de seleniato de sodio. Con excepción de la harina de linaza, ambas sales de selenio causan una depresión altamente significativa del crecimiento en relación al grupo control respectivo. El producto comercial "Purina Rat Chow" se evidenció como el material menos eficaz para atenuar la toxicidad del selenio.

La influencia del aminoácido DL-metionina es aparentemente afectada por el compuesto de selenio administrado y también por la calidad de la proteína. Los resultados obtenidos en estos experimentos indican que la toxicidad del selenito y del seleniato de sodio es incrementada si la dieta es suplementada con DL-metionina.

## RESUMEN

Se presenta un estudio comparativo en ratas sobre la toxicidad del selenito y del seleniato sódico contenido en dietas isoproteicas elaboradas con los siguientes materiales: harina de semillas de linaza, albúmina de huevo, caseína extraída, "Purina Rat Chow" y harina de soya purificada. La harina de linaza confiere protección completa y el producto comercial "P.R.C." se evidenció incapaz para evitar la intoxicación por selenio.

La suplementación de harina de soya con 0,92% y 0,60% de DL-metionina no tiene efecto atenuante sobre la toxicidad de 10 ppm. de selenio como selenito o seleniato de sodio.

## SUMMARY

Rats were fed sodium selenate or selenite for 6 weeks in isonitrogenous diets containing 18% of protein as egg white, casein, soy bean meal or linseed oil meal. A commercial feed, Purina Rat Chow, was also diluted to 18% protein and selenized.

Growth and survival of the selenized rats were best on the linseed meal, and poorest on the diluted Chow; performance was intermediate on the other proteins. The addition of methionine to soy bean meal increased weight, but failed to increase survival.

In general, selenate and selenite were roughly equivalent in suppressing growth, but survival was significantly better on selenate.

TABLEA N° 1  
COMPOSICION PORCENTUAL DE LAS DIETAS

Fuente proteica . . . . .	18%
"Sales libres de sulfato" (1) . . . . .	3
Premezcla de selenio (2) . . . . .	1
"Mazola" (3) . . . . .	5
Mezcla de vitaminas (4) . . . . .	0,2
Solución de colina (5) . . . . .	0,1
Sucrosa . . . . . c. s. p.	100

- (1) Ver referencia (15).  
 (2) 1 gr. = 1 mg. de selenio.  
 (3) Marca registrada de aceite de maíz comestible.  
 (4) Ver referencia (15).  
 (5) Preparada en agua destilada, 1 ml. = 0,5 gr.

TABLEA N° 2  
GANANCIA DE PESO Y SOBREVIVENCIA A 21 DIAS

Fuente de proteínas y compuesto de selenio	Aumento de peso en gr.	Sobrevivencia
Albúmina de huevo + selenito	16,5 ± 3,0 **	7/8
" " " + seleniato	20,6 ± 6,1 **	8/8
" " " _____	81,3 ± 10,7	6/6
Caseína extraída + selenito	36,4 ± 7,7 **	8/8
" " + seleniato	24,3 ± 6,7 **	8/8
" " _____	112,0 ± 10,7	6/6
"Purina Rat Chow" + selenito	18,2 ± 8,9 **	8/8
" " " + seleniato	23,1 ± 9,3 **	8/8
" " " _____	112,5 ± 34,7	6/6
Harina de soya + selenito	35,4 ± 9,8 **	8/8
" " " + seleniato	30,5 ± 9,6 **	8/8
" " " _____	86,0 ± 25,8	6/6
Harina de linaza + selenito	87,2 ± 9,1	8/8
" " " + seleniato	87,6 ± 8,7	8/8
" " " _____	96,4 ± 14,3	6/6

\*\* Significativo a un nivel de 1% con respecto a su grupo control.

TABLA N° 3

## GANANCIA DE PESO A 28 DIAS Y SOBREVIVENCIA A 28 Y A 42 DIAS

Fuente de proteínas y compuesto de selenio	28 D I A S		42 días Sobre- vivencia
	Aumento de peso en gr.	Sobre- vivencia	
Albúmina de huevo + selenito	23,8 ± 10,2	6/8	0/8
" " " + seleniato	28,1 ± 5,3	8/8	4/8
" " " _____	91,6 ± 13,1	6/6	6/6
Caseína extraída + selenito	47,2 ± 14,3	6/8	1/8
" " + seleniato	41,3 ± 8,3	5/8	0/8
" " _____	153,0 ± 20,5	6/6	6/6
"Purina Rat Chow" + selenito	_____	0/8	0/8
" " " + seleniato	28,8 ± 0,71	2/8	0/8
" " " _____	138,2 ± 36,5	6/6	6/6
Harina de soya + selenito	58,5 ± 19,5	6/8	1/8
" " " + seleniato	49,0 ± 12,1	6/8	5/8
" " " _____	123,9 ± 33,1	6/6	6/6
Harina de linaza + selenito	121,5 ± 16,8	8/8	8/8
" " " + seleniato	118,8 ± 11,2	8/8	8/8
" " " _____	132,3 ± 19,8	6/6	6/6

TABLA N° 4

GANANCIA DE PESO Y SOBREVIVENCIA DE RATAS ALIMENTADAS CON HARINA DE SOYA  
SUPLEMENTADA CON 0,92% Y 0,60% de DL-METIONINA

21 DIAS					
Compuesto de selenio	Ganancia de peso en gramos	Sobrevivencia	% DL-metion	Ganancia de peso en gramos	Sobrevivencia
Selenito	35,4 ± 9,8	8/8	0,92	27,6 ± 7,2	7/8
Selenito	28,8 ± 10,0	8/8 (1)	0,60	34,3 ± 12,8	6/8 (2)
Seleniato	30,5 ± 9,6	8/8	0,92	43,7 ± 12,3 *	8/8
Control	86,0 ± 25,8	6/6	—	115,8 ± 10,2	6/6
28 DIAS					
Selenito	58,5 ± 19,5	6/8	0,92	68,6	1/8
Seleniato	49,0 ± 12,1	6/8	0,92	76,9 ± 13,3	2/8
Control	123,9 ± 33,1	6/6	—	158,3 ± 13,3	6/6

(1) Supervivencia a 28 días: 5/8

(2) Supervivencia a 28 días: 3/8

\* Significativo a un nivel de 5% con respecto al mismo grupo sin metionina y al grupo de selenito con metionina (primer valor de arriba a abajo).

TABLA N° 5  
 SOBREVIVENCIA DE TODOS LOS ANIMALES SOMETIDOS  
 A DIETAS SELENIFERAS

Duración del ensayo	Selenito	Seleniato
Inicial	48 ratas	48 ratas
28 días	27 ratas	31 ratas
42 días	10 ratas	18 ratas

TABLA N° 6  
 ANALISIS DE VARIANCIA CORESPONDIENTE A LAS  
 TABLAS 2, 3 y 4

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F
Tratamientos	17	161.750,57	9.514,74	55,48 **
Fuentes de selenio	2	102.462,31	51.231,15	298,74 **
Proteínas	5	37.495,24	7.499,05	43,72 **
Interacción	10	21.793,02	2.179,30	12,71 **
Error	112	19.207,28	171,49	—
Total	129	180.957,85	—	—

\*\* Significativo a un nivel de 1%.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Trelease, S. F., y Beath, O. A.—“Selenium”, publicado por los autores. New York (1949).
- (2) Chávez, J. F.—Arch. Venez. Nutr. XIII, 139 (1963).
- (3) Schwarz, K.—Nutr. Rev. 18, 193 (1960).
- (4) Lemley, R. E.—J. Lancet 60, 528 (1940).
- (5) Lemley, R. E., y Merryman, M. —Ibid. 61, 435 (1941)
- (6) Smith, M. I.; Frank, K. W., y Westfall, B. B.—U. S. Pub. Health Repts. 51, 1496 (1936). C. A. 31, 492-5
- (7) Smith, M. I., y Westfall, B. B.—Ibid. 52, 1375 (1937). C. A. 31 8699/1.
- (8) Moxon, A. L.; Schaefer, A. E.; Lardy, H. A.; DuBois, K. P., y Olson, O. E.—J. Biol. Chem. 132, 785 (1940).
- (9) Moxon, A. L.—Science 88, 447 (1939).
- (10) Du Bois, K. P.; Moxon, A. L., y Olson, D. E.—J. Nut. 19, 477 (1940).
- (11) Moxon, A. L.—S. Dakota Agr. Expt. Sta. Bull. 311, 50 (1937).
- (12) Smith, M. I.—U. S. Pub. Health Repts. 54, 1441 (1939).
- (13) Lewis, H. B.; Schultz, J., y Gortner, R. A.—J. Pharm. Exptl. Therap. 68, 292 (1940).
- (14) Gortner, R. A.—J. Nut. 19, 105 (1940).
- (15) Ganther, H. E., y Baumann, C. A.—Ibid. 77, 408 (1962).
- (16) Smith, M. I.; Stohlman, E. F., y Lillie, R. D.—J. Pharmacol. Exptl. Therap. 60, 449 (1937).
- (17) Mc Connell, K. P.—Fed. Proc. 11, 255 (1952).
- (18) Klug, H. L., y Harshfield, R. H.—Proc. S. Dakota Acad. Sci. 28, 99 (1949). C. A. 45, 8099.
- (19) Klug, H. L.; Harshfield, R. H.; Pengra, R. M., y Moxon, A. L.—J. Nutr. 48, 409 (1952).
- (20) Wesson, L. G.—Science 75, 339 (1932).
- (21) “Amino acid content of foods” Home Economic Research, Report No. 4, U. S. Dept. of Agriculture (1957).
- (22) Moxon, A. L.—Ph. D. Thesis, Univ. of Wisc. (1948).
- (23) Halverson, A. W.; Hendrick, C. M., y Olson, O. E.—J. Nut. 56, 51 (1955).
- (24) Levander, O. A.—M. S. Thesis, Univ. of Wisc. (1963).
- (25) Ganther, H. E.; Levander, O. A., y Baumann, C. A.—Fed. Proc. 22, 377 (1963).
- (26) Mc Connell, K. P., y Portman, O. W.—J. Biol. Chem. 195, 277 (1952).