

Síntomas de toxicidad de selenio orgánico en ratas

WERNER G. JAFFÉ y MARIA CRISTINA DE MONDRAGON
División de Investigaciones, Instituto Nacional de Nutrición

MIGUEL LAYRISSE y ADELAIDA OJEDA
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas-Venezuela.

RESUMEN

Se estudian los síntomas de toxicidad en ratas alimentadas con dietas elaboradas con torta de ajonjolí de variado contenido de selenio.

En el primer experimento se sometieron ratas a dietas de 10, 4.5 y de 0.5 ppm de selenio y se sacrificaron a diferentes tiempos de ensayo para estudiar los cambios progresivos en valores sanguíneos. Se observó un descenso en hemoglobina, hematocrito, fibrinógeno y actividad protrombínica en las ratas que recibieron las dietas con 4.5 y 10 ppm de selenio. Este descenso era más marcado en las últimas.

En ratas alimentadas con una dieta de 10 ppm de selenio orgánico se observó disminución del crecimiento, alta incidencia de lesiones hepáticas y de hiperplasia del bazo, valores bajos de hemoglobina y hematocrito, disminución de la actividad protrombínica, reducción del fibrinógeno y valores normales de uroporfirina y coproporfirina urinaria.

La incidencia de síntomas patológicos era mayor en ratas alimentadas con una dieta normal en proteína (18%) comparados con los que presentaron los animales que recibieron una dieta alta en proteínas (26%) o que estaban adaptados por haber sido criados con una dieta de 4.5 ppm de selenio.

En otro ensayo sobre los aspectos hematológicos se observó una reticulocitosis moderada y tiempo de supervivencia de los eritrocitos reducido en las ratas que recibieron la dieta de 10 ppm de selenio por 7 semanas.

INTRODUCCION

La toxicidad de alimentos naturales a causa de su alto contenido en selenio se puso de manifiesto por la aparición de ciertos signos patológicos y de alta mortalidad en ganado que

pastoreaba en zonas seleníferas. La patología de los trastornos ocasionados por la ingestión de productos seleníferos por el ganado, a saber "alcali disease" y "blind staggers" ha sido estudiada extensamente (1). Sin embargo, sobre los posibles efectos patológicos producidos por la continua ingestión de alimentos con cantidades elevadas de selenio en humanos se conoce muy poco y mucho menos sobre la relación entre estos efectos y factores como la cantidad de selenio ingerido, calidad de la dieta, adaptación a la ingesta de selenio, etc.

Conocida es la presencia de cantidades elevadas de selenio en muchos alimentos venezolanos (2) y más recientemente en la orina de personas residenciadas en algunas zonas del país (3), lo que deja prever la posibilidad de la existencia de casos de intoxicación crónica (4).

El presente trabajo tiene por objeto estudiar en ratas algunos aspectos de la sintomatología de la intoxicación por selenio con la finalidad de que los resultados pudieran orientarnos en la búsqueda de síntomas similares en humanos residenciados en zonas seleníferas.

MATERIAL Y METODOS

Las ratas usadas provenían de la cría de este laboratorio descendientes de la raza "Sprague Dawley". Previamente a la iniciación de los experimentos se alimentaron con una dieta comercial¹. En cada lote de este producto se determinó selenio, usándose solamente los lotes con un contenido menor de 1ppm. En todos los experimentos se usó igual número de animales machos y hembras de 4 semanas de edad y de 50 ± 10 g de peso inicial. Se mantuvieron en jaulas individuales con fondo de tela metálica, ofreciendo comida y agua "ad libitum".

El primer experimento se efectuó con un total de 110 animales de nuestra colonia los cuales a la edad de 4 semanas se pasaron a las dietas experimentales que contenían 4.5 y 10 ppm de selenio, suplementadas con lisina y se sacrificaron al cabo de los períodos de tiempo señalados en el Gráfico No. 1. Las determinaciones de hemoglobina, hematocrito, fibrinógeno y actividad protrombínica se valoraron en sangre obtenida por punción cardíaca "post mortem". Las desviaciones seña-

1. "Ratarina" alimento comercial para ratas de laboratorio. Protinal, C. A. Valencia, Venezuela.

ladas en dicho gráfico corresponden a los errores estandar de cada promedio.

El segundo experimento se realizó con 60 ratas de 4 semanas de edad. Los animales de los Grupos 1-4 consumieron desde su nacimiento hasta el momento de ser tomados para el ensayo, un alimento comercial¹ mientras que aquellos utilizados en el grupo experimental No. 5 se habían gestado y luego fueron criados durante las 4 semanas previas con la dieta No. 834 (Tabla 1) de 4.5 ppm de selenio. De 3-5 días antes de terminar el experimento, se colocaron en jaulas metabólicas por un lapso de 24 horas, con el fin de determinar sopro-y uroporfirinas en las muestras de orina recolectadas, utilizando el método descrito por Natelson (5).

TABLA 1
COMPOSICION DE DIETAS EXPERIMENTALES

	D i e t a No.				
	834	856	868	897	910
Ajonjolif sele- nifero	g 230.8 (Lote 596)	g	g 606.1 (Lote 308)	g 490.2 (Lote 596)	g 490.2 (Lote 596)
Ajonjolif libre de selenio	270.4 (Lote 249)	463.3 (Lote 249)	-	-	-
L-lisina HCl	4.0	4.0	4.0	4.0	-
Sales USP XVI	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
Aceite de maíz	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
Aceite de hígado de bacalao	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Vitaminas (22)	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Almidón	384.8	422.7	279.9	395.8	399.8
Nivel de Selenio	4.5 ppm	0.5 ppm	10 ppm	10 ppm	10 ppm
Nivel de proteína	18.0 %	18 %	26 %	18 %	18 %

Los animales se sacrificaron con cloroformo e inmediatamente se obtuvo sangre por punción cardíaca, se sacaron y se pesaron bazo e hígado. Este último se secó a 80°C durante 24 horas para el análisis del selenio, para el cual se usó el método de Cummings et al (6) modificado por nosotros (3). Finalmente se procedió a la determinación del agua del carcas por desecación del animal a 80°C durante 24 horas.

Para la determinación de hemoglobina se aplicó el método de la cianometahemoglobina (7), para el hematocrito el método de centrifugación en tubos capilares (5), para el tiempo de protrombina se usó el juego DADE-B-4210-2, según la técnica de A. J. Quick (8) y el fibrinógeno se analizó por la reacción de biuret (5).

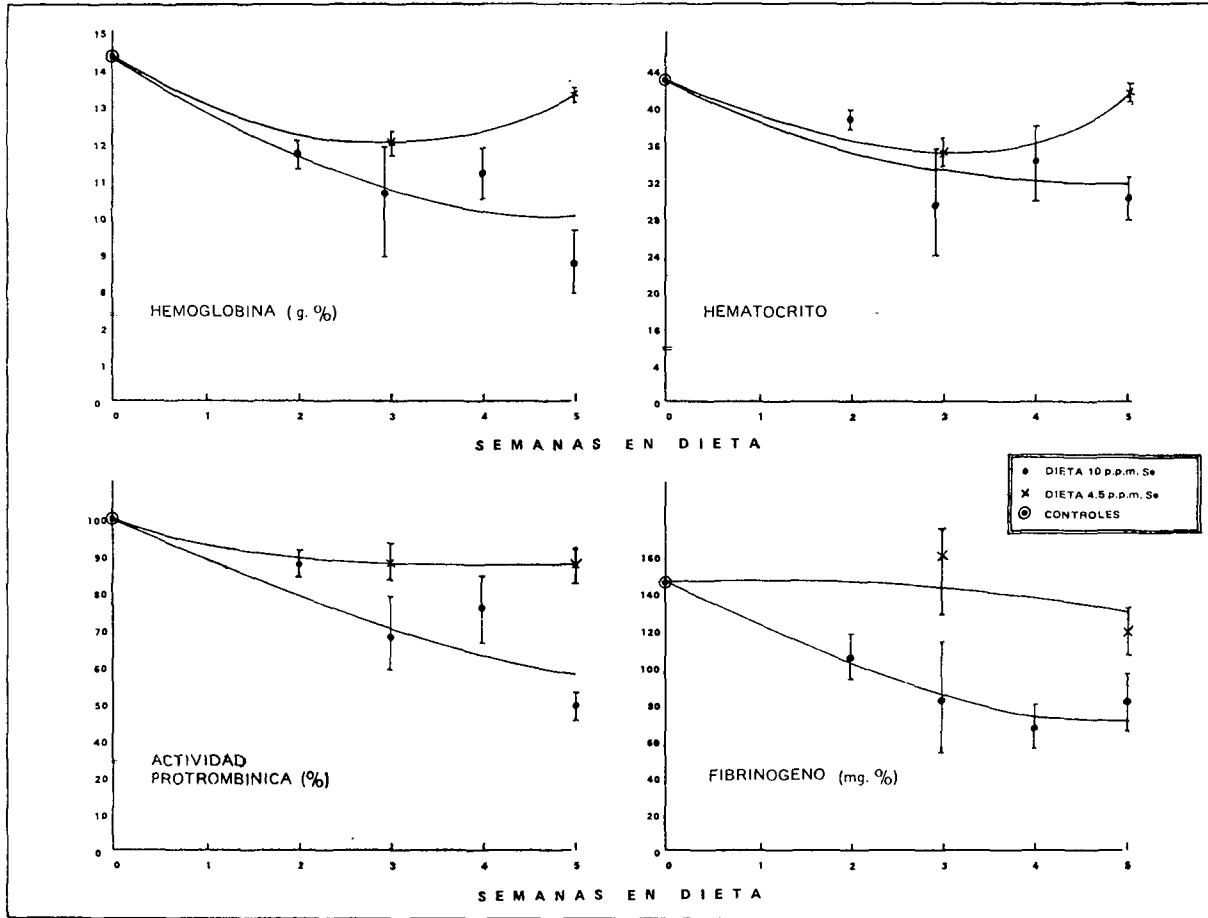
En un tercer experimento se efectuaron determinaciones de fosfatasa alcalina y de las transaminasas glutámico-oxalacética y glutámico-pirúvica en sueros de ratas alimentadas con las dietas seleníferas.

Las determinaciones de fosfatasa alcalina se realizaron con el juego de reactivos Sigma (9) y las de las transaminasas con juego de reactivos DADE (10) utilizando la metodología correspondiente.

Con el objeto ahondar sobre los mecanismos que intervienen en la producción de la anemia en las ratas que consumían dietas seleníferas, se determinó en otro grupo, además de la concentración de hemoglobina, el número de reticulocitos en la sangre periférica, la concentración del hierro en el suero por el método de Bothwell y Mallet (11), la capacidad total de saturación de transferrina (12) y la concentración de vitamina B₁₂ en el suero (13). Las últimas cuatro determinaciones se efectuaron de "pools" de suero de 3-4 ratas. La sobrevivencia de los glóbulos rojos fue medida inyectando en la vena dorsal de la cola di-iso-propil-fluor-fosfonato (32P). Se comenzó a tomar las muestras de sangre dos días después de la inyección y se continuó dos veces semanal hasta completar 22 días. Detalles en la preparación del lisado de glóbulos rojos para contar 32P pueden ser revisados en el artículo de Layrisse y col. (14). Al final del experimento se sacrificaron los animales y se tomó médula ósea del esternón para estudio morfológico.

Como fuente de selenio se utilizaron tortas industriales de ajonjolí. La composición de las dietas experimentales se presenta en la Tabla 1. Para obtener el nivel deseado de selenio se mezclaron cantidades apropiadas de dos lotes de harina de ajonjolí uno de los cuales tenía 18 ppm de este elemento y la otra menos de 1 ppm.

GRAFICO Nº 1



RESULTADOS

Los resultados del primer experimento se presentan en la Gráfica No. 1. En los animales alimentados con la dieta a un nivel de 4.5 ppm de selenio se encontraron valores sanguíneos de hemoglobina, hematocrito, actividad protrombínica y fibrinógeno más bajos que en los controles. Las diferencias eran siempre significativas a excepción del fibrinógeno a la tercera semana en dieta, el cual presentaba un promedio más bajo que en el grupo control pero que no era estadísticamente significativo.

El grupo de ratas alimentadas con la dieta de 10 ppm de selenio mostraba valores de hemoglobina y hematocrito reducidos de manera muy significativa. Las diferencias en la actividad protrombínica y en el contenido de fibrinógeno entre estas ratas y las de los controles eran mucho más pronunciadas y persistentes.

Para el segundo experimento se escogió el nivel de 10 ppm de selenio en la dieta para el estudio del efecto de la calidad y cantidad de la proteína dietética y de la adaptación de los animales a la ingesta de selenio. La duración de este experimento fue de 6 semanas. Además de los parámetros determinados anteriormente, se efectuaron determinaciones de porfirinas en la orina de estos animales así como también las medidas correspondientes al peso relativo del bazo, agua en el carcás, lesiones hepáticas macroscópicas y nivel hepático de selenio.

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos. Los valores observados en las ratas del Grupo No. 1 que se alimentaron con la dieta control elaborada con harina de ajonjolí desgrasado, de menos de 1 ppm de selenio, sirvieron de referencia. En comparación con estos valores se observa que los animales de los Grupos No. 2 y No. 3, alimentados con las dietas a un nivel de 18% de proteína con o sin suplemento de lisina respectivamente, mostraron diferencias significativas con respecto a los controles en todos los signos estudiados menos la cantidad de uro- y copro-porfirinas en la orina. Se observó una reducción estadísticamente significativa en la velocidad de crecimiento, concentración de hemoglobina, valor de hematocrito, contenido de fibrinógeno y en la actividad protrombínica sanguínea y un aumento en la tasa de mortalidad,

lesiones hepáticas macroscópicas, cantidad de agua en el carcas, peso relativo del bazo y en el contenido de selenio en el hígado. No se observaron diferencias de importancia entre los dos grupos que recibieron las dietas con o sin un suplemento de lisina respectivamente.

Los animales del Grupo No. 4, que se alimentaron con una dieta del mismo contenido en selenio, pero con 26% de proteína de ajonjolí, presentaron signos de toxicidad del selenio menos acentuados que los grupos anteriores. La disminución de la actividad protrombínica sanguínea, así como la depresión del crecimiento, la incidencia de lesiones hepáticas, el aumento del peso relativo del bazo y de la cantidad de agua en el carcas, eran menores si se comparan con las ratas alimentadas con las dietas de 18% de proteínas, siendo el valor de hematocrito significativamente mayor que en el grupo control.

La última serie experimental, Grupo No. 5, estaba compuesta de animales que fueron criados con una dieta de 4.5 ppm de selenio y cuyas madres habían ingerido esta misma dieta desde antes de la concepción y después del nacimiento de las crías hasta que una vez destetadas, estas se pasaron a la dieta de 10 ppm de selenio y 18% de proteínas. La incidencia de síntomas de intoxicación era intermedia. El porcentaje de agua en el carcas, crecimiento, y los valores de hematocrito y fibrinógeno no se distinguían significativamente del grupo control. La actividad protrombínica disminuída, el alto número de animales con lesiones hepáticas y el aumento en el peso del bazo demostraron la existencia de una acción tóxica. El nivel del selenio hepático era prácticamente igual en las ratas de todos estos grupos experimentales.

Para las cifras promedio señaladas en la Tabla 2 referente al Grupo No. 5, no se tomaron en cuenta dos animales que murieron al cabo de 22 y 28 días con síntomas de ascitis hemorrágica, hipertrofia del bazo y necrosis hepática y otro que se sacrificó a los 40 días con ascitis, necrosis y valores muy anormales para todos los síntomas estudiados menos los de las porfirinas urinarias, a saber: aumento de peso 63 g, agua en el carcas 72.8%, relación bazo/cuerpo 2.34 g %, hemoglobina 2.70 g %, hematocrito 15.0, actividad protrombínica 47% y fibrinógeno 26.9 mg %.

Un animal del Grupo No. 2 se murió y tres se sacrificaron en condiciones moribundas, en estos últimos se efectuaron de-

TABLA 2
SINTOMAS PATOLOGICOS EN RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS SELENIFERAS

Grupo	Dieta	Condición experimental	Sobrevivientes 6 sem.	Hemoglobina g %	Hematocrito	Fibrinógeno mg %	Actividad protrombinica	Animales con lesiones hepáticas macroscópicas	Agua en carcás	Peso bazo g / 100 gr peso rata	Copropropirina Unidades arbitrarias	Uroporfirinas	Selenio en hígado mcg / g	Aumento de peso g/42 días
1	856	Sin Selenio 18 % proteína	12/12	14.7±0.21	43.9±0.61	166.4±7.8	96.3±0.05	0/12	67.1±0.30	0.207±0.01	38.6±2.1	42.3±3.2	0.72±0.14	156.8±7.2
2	897	10 ppm Selenio 18% proteína	8/12	12.3±0.35 ^{3/}	40.8±0.82 ^{3/}	65.5±7.8 ^{3/}	71.3±7.66 ^{3/}	10/12	70.6±0.67 ^{3/}	0.544±0.09 ^{3/}	31.8±2.9	25.4±3.8	7.34±0.97 ^{3/}	61.2±7.43 ^{3/}
3	910	10 ppm Selenio 18% proteína sin lisina	9/12	12.1±0.43 ^{3/}	41.2±1.29 ^{3/}	75.9±3.6 ^{3/}	62.9±5.09 ^{3/}	12/12	69.6±0.46 ^{3/}	0.547±0.07 ^{3/}	33.3±2.2	34.1±1.6	7.06±0.28 ^{3/}	71.9±6.2 ^{3/}
4	868	10 ppm Selenio 26% proteína	11/12 ^{1/}	13.8±0.30 ^{3/}	46.6±0.87	93.2±3.2 ^{3/}	84.7±4.88 ^{3/}	5/12	69.5±0.43 ^{3/}	0.390±0.04 ^{3/}	32.9±6.3	37.4±5.5	6.72±0.81 ^{3/}	85.7±9.9 ^{2/}
5	897	10 ppm Selenio 18% proteína Animales adaptados ^{2/}	9/12	13.1±0.48 ^{3/}	44.1±0.84	162.2±18.1	71.3±4.13 ^{3/}	10/12	65.9±0.86	0.514±0.06 ^{3/}	36.9±1.5	38.1±1.6	7.33±0.35 ^{3/}	131.0±8.1

^{1/} Animal muerto a los 15 días en dieta, sin lesiones aparentes

^{2/} Animales gestados y criados en dieta de 4.5 ppm

^{3/} Diferencias con respecto a los controles estadísticamente significativas $p < 0.05$

terminaciones de hemoglobina y hematocrito, encontrándose valores de 6.7, 9.4 y 7.3 g % de hemoglobina y 27, 34 y 28 de hematocrito respectivamente, los cuales no se incluyeron en los promedios.

Finalmente en el Grupo No. 3 murieron dos animales que se perdieron para los análisis y otro animal sacrificado en estado moribundo mostró valores extremos de 3.8 g % de hemoglobina, 17.5 de hematocrito, 19% de actividad protrombínica, 59 mg % de fibrinógeno, 1.41 g % de relación bazo/cuerpo y 37.0 g de aumento de peso, valores que no se tomaron en cuenta para el cálculo del promedio de ese grupo.

Es evidente que al incluir estos animales en los cálculos de los promedios, las diferencias entre los controles y los grupos experimentales hubieran resultado mayores con la excepción del grupo No. 4 alimentado con la dieta selenífera de alto contenido proteico, en el cual se excluyó un solo animal que había muerto por causas aparentemente no relacionadas con el tratamiento experimental.

La Tabla 3 muestra las características hematológicas observadas en otro grupo de ratas sometidas a la dieta No. 897 que contenía 10 ppm de selenio durante 4 y 7 semanas.

En el grupo control las cifras promedio de hemoglobina fueron de 13.3 g % y 13.7 g % a las 4 y 7 semanas en dieta respectivamente, habiendo solo un caso con cifras inferiores a 12 g; en cambio, en el grupo tratado con la dieta selenífera las cifras promedio fueron de 11.5 g % y 12.8 g % para los mismos tiempos en dieta y hubo 6 casos con cifras menores a 12 g %. Se notó que las cifras de hemoglobina en los animales que consumieron la dieta selenífera durante mayor tiempo tienden a mejorar.

La morfología de la sangre periférica muestra discreta anisocitosis pero no se vieron microcitos hipocrómicos, macrocitos ovalados, ni tampoco esferocitos. Las cifras promedio de reticulocitos fueron 4.4%. En los grupos experimentales a las 4 y 7 semanas en dieta respectivamente fueron más altos, encontrándose 3 casos con cifras mayores de 20%. La médula ósea del grupo experimental mostró hiperplasia de la serie eritroblástica; las series de granulocitosis y megacariocitos fueron normales. Las cifras de concentración de hierro y vitamina B₁₂ estuvieron dentro de los límites normales en ambos grupos.

TABLA 3
CARACTERISTICAS HEMATOLOGICAS DE RATAS ALIMENTADAS
CON DIETA CONTENIENDO 10 ppm DE SELENIO

RATAS ALIMENTADAS CON DIETA CONTROL No. 856 (0.25 ppm Selenio)							
	Peso g	Hemoglobina g %	Reticulocitosis %	Hierro sérico ug % (pool)	Transferrina saturada (pool) %	Vit. B12 g/cc (pool)	Sobrevida glob. roj. DFP32 días
Grupo A-1 4 sem. en dieta	190+12 (156-213)	13.3+0.12 (12.9-13.5)	4.4+0.83 (2.4-6.4)	183	41.7	586	-
Grupo A-2 6-7 sem. en dieta	177+16 (140-225)	13.7+0.50 (11.5-15.2)	5.5+0.85 (1.6-7.8)	156	28.6	358	40.6+1.5
RATAS ALIMENTADAS CON DIETA No. 897 (10 ppm Selenio)							
Grupo B-1 4 sem. en dieta	72+4 (64-78)	11.5+0.84 (10.5-14.0)	6.3+1.22 (3.0-8.8)	177	37.4	487	-
Grupo B-2 6-7 sem. en dieta	116+6 (64-148)	12.8+0.41 (9.7-14.6)	11.1+3.30 (3.0-41.0)	204	33.3	342	25.7+2.7 ^{1/}

^{1/} Diferencia con respecto a los controles estadísticamente significativa $p < 0.01$

La sobrevida de glóbulos rojos estuvo definitivamente disminuída en el grupo tratado; sin embargo, la reducci3n no es tan acentuada como para provocar anemia por incapacidad de la médula ósea por destrucci3n exagerada de glóbulos rojos. En efecto, sobrevidas de 19 y 20 días fueron observadas en animales con cifras normales de hemoglobina.

En el último experimento se hicieron determinaciones de fosfatasa alcalina y de transaminasas en sueros de ratas alimentadas con dietas de 0,5, 4,5 y 10 ppm de selenio durante 6 semanas. Las ratas en la dieta de 10 ppm muestran un aumento altamente significativo de fosfatasa alcalina y de las dos transaminasas, registrándose un ligero aumento de fosfatasa alcalina y de la transaminasa glutámica-pirúvica, con respecto a los controles, en aquellos animales que se alimentaron durante el mismo tiempo con la dieta de 4.5 ppm.

En todos los grupos se observaron animales con lesiones hepáticas visibles a simple observaci3n macroc3pica. La frecuencia de estas lesiones se indica en la Tabla 2. No se efectuaron investigaciones histopatológicas, porque este aspecto ha sido estudiado recientemente en un gran número de animales (19).

TABLA 4
FOSFATASA ALCALINA Y TRANSAMINASAS EN SUEROS DE RATAS
ALIMENTADAS DURANTE SEIS SEMANAS CON DIETAS
SELENIFERAS

Dieta No.	Selenio ppm	No. de animales	Fosfatasa alcalina U / ml	Transaminasas glutámicas	
				Oxalacética U / ml	Pirúvica U / ml
856	0.25	6	6.3±0.2	66±3	20±1
834	4.5	10	8.8±1.3 ^{1/}	59±2	26±2 ^{1/}
897	10.0	8	18.9±2.3 ^{1/}	77±5 ^{1/}	43±6 ^{1/}

^{1/} Diferencias con respecto a los controles estadísticamente significativas p < 0.05

DISCUSION

La producción de lesiones hepáticas y de anemia en ratas alimentadas con dietas seleníferas observadas en los presentes experimentos ya habían sido descritos por Smith (15) utilizando trigo selenífero como fuente de selenio. Entre los otros síntomas encontrados por nosotros, el aumento del peso del bazo y del agua en el carcas fue observado por Halverson *et al*, en condiciones experimentales comparables (16) y un aumento en la fosfatasa sérica fue señalado por Ermakow en ovejas expuestas a pastos con alto contenido de selenio (17).

Nuevos son los hallazgos sobre la reducción de la actividad de protrombina, la disminución del fibrinógeno y el aumento de las transaminasas séricas como efecto de la ingestión de una dieta selenífera, todos estos síntomas son relacionados con las lesiones hepáticas. Llama la atención la falta de una excreción aumentada de uro y coproporfirinas en la orina, ya que se ha recomendado el estudio de la excreción urinaria de estos pigmentos en humanos sospechosos de haber sufrido intoxicación de este elemento (18).

Los datos de la Gráfica No. 1 demuestran que los síntomas de intoxicación por selenio en ratas bajo las condiciones experimentales usadas, se presentan ya a los 15 días con la dosis de 4.5 ppm en la dieta, nivel que se ha encontrado en diversos alimentos venezolanos (2). Es de esperar, por lo tanto, que dosis más bajas, aplicadas por mayor tiempo, puedan producir lesiones patológicas, como lo indican algunos estudios publicados en los cuales se observaron lesiones hepáticas en ratas alimentadas durante largo tiempo con una dieta de solo 2 ppm de selenio (19).

Los resultados de los estudios hematológicos de la Tabla 3 indican que en las ratas tratadas con selenio, se desarrolla un proceso hemolítico moderado, el cual es responsable de la reticulocitosis, hiperplasia de la médula ósea y reducción de la sobrevida de los glóbulos rojos. No se efectuaron pruebas adicionales encaminadas a determinar el mecanismo de la hemolisis en estos casos.

Consideramos de especial importancia los resultados del Grupo No. 4 del segundo experimento, presentado en la Tabla 2, porque demuestra que un aumento en la ingesta de proteínas reduce notablemente la gravedad de la intoxicación con

dietas seleníferas y abre así una posible vía de prevención para las poblaciones expuestas a la intoxicación con selenio, aunque el mejor crecimiento de este grupo puede reflejar simplemente una ligera deficiencia en proteína de la dieta basal. Igualmente es de interés el hecho de que las lesiones producidas en animales criados con dietas seleníferas, eran menos graves que en aquellos que se criaron con la dieta normal. Este hecho confirma nuestros resultados anteriores sobre la adaptación de ratas a la ingesta crónica de selenio (20).

La suplementación con lisina de la dieta a base de ajonjolí no causó ninguna disminución en la severidad de la intoxicación por selenio, como fue el caso en un estudio anterior de este laboratorio sobre aumento de peso de ratas jóvenes con dietas de ajonjolí de diferentes contenidos de selenio, con o sin agregado de lisina (21). En el trabajo citado se demostró que en condiciones de una ingestión moderada de selenio, mediante la suplementación con lisina, se logra un crecimiento muy superior comparado con los animales que no recibieron dicho suplemento. En el presente diseño experimental el nivel de selenio era probablemente demasiado elevado para poder observar este efecto de la suplementación con el amino ácido limitante de la dieta.

El resultado del último ensayo demostró un marcado aumento en la fosfatasa alcalina y en las transaminasas séricas en las ratas alimentadas con dietas de 10 ppm de selenio.

Al comparar los resultados de los experimentos Nos. 1, 2 y 3 entre si se notan diferencias notables en los promedios de algunos de los parámetros estudiados, exhibiendo los del primer ensayo síntomas patológicos más marcados que los de los otros dos ensayos. Esta diferencia se debe a una modificación en el procedimiento. En el primer ensayo para sacrificar los animales se escogían aquellos que parecían encontrarse en peor estado de salud. En el segundo y tercer ensayo se esperó hasta el final del experimento para sacrificar los animales, omitiéndose de los cálculos aquellos que fallecieron antes de terminar el ensayo o que se sacrificaron en estado moribundo. Es de interés destacar la diferente resistencia individual de los animales contra el efecto de la intoxicación por selenio.

Los resultados más notables del presente estudio son los relacionados con los aumentos de la actividad protrombínica

y de la disminución del contenido de fibrinógeno en el suero sanguíneo de las ratas, los cuales no han sido descritos en la literatura y que podrían ser síntomas útiles para la detección de la intoxicación con selenio en humanos. Además, llama la atención la ausencia de una excreción aumentada de copro y uroporfirina en la orina, parámetros cuyo estudio se ha recomendado en casos de sospecha de la existencia de intoxicación por selenio (18).

SUMMARY

Toxicity symptoms in rats fed organic selenium

The toxicity symptoms in rats fed different diets prepared with selenium-containing sesame press-cake were studied. In a first experiment with 110 rats, the animals were fed diets of 4.5 or 10 ppm of selenium respectively and were killed after 2-6 weeks. Hemoglobin, hematocrit, protrombin activity and fibrinogen decreased progressively with the time of feeding the seleniferous diets. The decrease was much more manifest in the animals receiving the diet containing 10 ppm of selenium as compared with those receiving the low selenium diet.

In a second experiment high values of the amount of water in the carcass, a high ratio of spleen weight to body weight, a high incidence of fibrosis of the livers, and high selenium levels in the livers were found in rats fed a 10 ppm selenium diet as compared to the controls. Hemoglobin, hematocrit, protrombin activity and fibrinogen were again low as was the growth rate. When the diet contained 26% of protein instead of 18% most of these effects were less severe. The same was true for a group of rats which had been born from mothers fed a diet containing 4.5 ppm of selenium and which had been kept on this diet until the start of the experiment. This result was probably due to adaptation to selenium intake. Urinary uro- and coproporphirin levels were similar in the animals of all these experimental groups.

In a third experiment on the hematological aspect of selenium toxicity moderate reticulocytosis, hyperplasia of the bone marrow, and reduced survival time of erythrocytes were found in rats fed the diet with 10 ppm of selenium. Serum iron levels, transferrin saturation and vitamin B₁₂ blood levels were normal.

The last experiment showed that blood levels of alkaline phosphatase, glutamic-pyruvic, and glutamic-oxalacetic transaminases were high in the rats fed the high selenium diet.

BIBLIOGRAFIA

1. Rosenfeld, J. and O. A. Beath. Selenium, Geobotany, Biochemistry, Toxicity and Nutrition. Academic Press, New York, 1964.
2. Jaffé, W. G., J. F. Chávez y M. C. Mondragón. Contenido de selenio en alimentos venezolanos. Arch. Latinoamer. Nutr. 17, 59-68, 1967.

3. Mondragón, M. C. y W. G. Jaffé. Selenio en alimentos y en orina de escolares de diferentes zonas de Venezuela. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 21, 185-195, 1971.
4. Smith, M. I. and R. D. Lillie. Part 1. The chronic toxicity of naturally occurring food selenium. U. S. Public Health Serv., Nat. Inst. Health *Bull.* 174, 1-13, 1940.
5. Natelson, S. V. "Microtechnique of Clinical Chemistry". Second Edition 1961. Charles C. Thomas Publisher. Springfield, Illinois, U. S. A.
6. Cummings, L. M., J. L. Martin & D. Maag. An Improved Method for Determination of Selenium in Biological Material. *Anal. Chem.* 37, 430-431, 1965.
7. Hainline, A. Standard Methods of Clinical Chemistry, Vol. II, 49-60. Academic Press, New York, 1958.
8. Quick, A. J. Hemohagic Disease, Philadelphia, Lea & Febiger, 1957.
9. Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo. U. S. A. The Colorimetric Determination of Phosphatase.
10. DADE División. American Hospital Supply Corporation Miami, Fla. 33152. Determination of serum glutamate oxalacetate (SGOT) y serum glutamate pyruvate transaminase (SGPT).
11. Bothwell, T. H. and B. Mallet. The determination of iron in plasma or serum. *Biochem. J.* 59: 599-602, 1955. Modified by Iron Panel (International Committee for Standardization in Hematology). In press.
12. Ramsay, W. N. M.: The determination of the total iron binding capacity of serum. *Clin. Acta* 2: 221-226, 1957. Modified by Iron Panel International Committee for Standardization in Hematology). Unpublished.
13. Anderseon, B. B. Investigaciones into the Euglena method for the assay of the vitamin B₁₂ in serum. *J. Clin. Path.* 17: 14-26, 1964.
14. Layrisse, M., J. Linares and M. Roche. Excess hemolysis in subjects with severe iron deficiency anemia associated and nonassociated with hookworm infection. *Blood* 25: 73-91, 1965.
15. Smith, M. I. Effect of diet on the cronic toxicity of Se. *U. S. Pub. Health Repts.* 54, 1441, 1939.
16. Halverson, A. W., I. S. Palmer, & P. L. Guss. Toxicity of Selenium to post-weanling rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 9, 477-484, 1966.
17. Zalkind, F. L. & V. V. Ermakov. Selenium content of the seeds of grain crops and lathyrism. *Agrophimiya* 6, 98-107, 1968. *Chem. Abstr.* 69, 5742, 1968.
18. Plumbet, E. R. "Manual de toxicología Industrial". Edif. URMO, Bilbao, 1968.
19. Harr, J. R., J. F. Bone, I. J. Finsley, P. H. Weswig & R. S. Jamamoto. "Selenium in Biomedicine". The Avi. Pul. Com. Westport. Connecticut P. 153. O. H. Huth, J. E. Oldfield W P. H. Weswig, edit.
20. Jaffé, W. G. y M. C. Mondragón. Adaptation of rats to selenium intake. *J. Nutr.* 97, 431-436, 1969.
21. Chávez, J. F. y W. G. Jaffé. Nivel tóxico de selenio en dietas para ratas. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 17, 69-76, 1967.
22. Jaffé, W. G. & C. L. Vega Lette. Heat labile growth inhibiting factors in beans. (*Phaseolus vulgaris*). *J. Nutr.* 94, 203-210, 1968.