

COBALTO EN LA REPRODUCCION DE RATONES Y RATAS.— ENSAYOS CON DIETAS ALTAS Y PROTEINAS

por **WERNER G. JAFFE**

Instituto Nacional de Nutrición

En dos comunicaciones anteriores (1,2) hemos demostrado que suplementos de sales de cobalto tienen un efecto beneficioso sobre la reproducción de ratas y ratones alimentados con dietas bajas en vitaminas B 12. En ratas, la suplementación causó un incremento en el peso de las crías, como también en el número de animales destetados y en el aumento de peso de las madres durante la época de la lactancia, mientras que en ratones se observó una disminución de la mortalidad de las crías y un incremento en el aumento de peso de las madres.

Estos resultados se podrían explicar muy probablemente por un aumento en la síntesis intestinal de vitamina B12, realizada por la flora del tracto gastro-intestinal bajo el estímulo del cobalto, metal que forma parte de la molécula de dicha vitamina.

En otra serie de estudios observamos que el aumentar el contenido protéico de dietas bajas en vitamina B12 tiene un efecto adverso sobre la reproducción de ratones (3) y ratas (2) el cual desaparece con la administración de B12 pura. Una posible interpretación de esta observación es la existencia de una mayor necesidad de vitamina B 12 en animales alimentados con dietas hiperprotéicas. Por esta razón investigamos la influencia de suplementos de cobalto en animales mantenidos con dietas altas en proteína y bajas en vitamina B12.

MATERIAL Y METODOS

Los experimentos se hicieron bajo las mismas condiciones que las anteriormente citadas. Las ratas eran de la cepa "Sprague Dawley" y los ratones de una cepa albina. Todos los animales provenían de nuestra cría que se ha mantenido durante 4 años con una dieta vegetariana a base de harina de soya y maíz y reforzada con vitaminas y minerales. Las hembras preñadas se separaron 2-8 días antes de dar a luz y se pusieron en jaulas individuales con fondo de tela metálica. Comida y agua se dieron "ad libitum". Las crías se separaron de las madres a la edad de 28 días.

Los animales experimentales se dividieron en dos series. Una que recibió la dieta alta en proteína sin otro suplemento y otra que la recibió junto con un suplemento de cobalto, el cual fué administrado en el agua de bebida.

A las hembras preñadas se les cambió la dieta de soya y maíz por la dieta experimental y el agua de chorro de bebida por una solución de cloruro de cobalto al 0,005% el día de su separación de las jaulas comunes, recibiendo tanto la dieta experimental como la solución de cobalto durante todo el período de la lactancia.

La composición de la dieta experimental fué la siguiente:

Harina de soya sin grasa, 46%; Harina de maíz, 21%; Caseína sin vitaminas G.B.I. 25%; Aceite de ajonjolí con 0.2% de aceite de percomorfum y 0.2% de aceite de gérmenes de trigo, 5%; mezcla de sales U.S.P. 2%; mezcla de 10 vitaminas del complejo B, 1%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados aparecen resumidos en la tabla N° 1. Se hicieron 2 experimentos con ratas y uno con ratones, usando un total de 51 crías de ratas y 75 crías de ratones.

Las diferencias observadas entre las series que recibieron la dieta experimental únicamente y las que la recibieron junto con el suplemento de cobalto en el agua de bebida fueron menos marcadas en el presente estudio comparado con los anteriores. Como se ve de los datos presentados en la tabla N° 1 en todos los casos había una mejoría en el peso de las crías y de las madres y en el número de animales que sobrevivieron hasta el des-

tete por número de crías nacidas en las series que recibieron suplemento de cobalto. Sin embargo, el cálculo estadístico revela, que las diferencias no fueron significativas en ningún caso con excepción del crecimiento de las ratas madres en el primer experimento. Por lo tanto, el resultado se puede considerar como sugestivo de una acción beneficiosa del cobalto sobre la reproducción de ratones y ratas bajo las condiciones especiales usadas en los experimentos presentados, sin ser comprobatorio.

Llama la atención el hecho de que en los ensayos del presente trabajo las diferencias entre las series experimentales y las testigos fueron más pequeños que en los experimentos publicados anteriormente sobre el mismo problema pero efectuados con dietas con contenido de proteína menos elevado.

Comparando las cifras respectivas se observa que el crecimiento y mortalidad no eran diferentes en grado estadísticamente significativo entre los grupos de control de ratas del presente trabajo y del estudio anterior (2) mientras que en el anterior el efecto del Cobalto fué más marcado, resultando una diferencia significativa entre la serie N° 4 de este trabajo y la 2 y 3 del anterior que recibieron el suplemento de Cobalto. En los ensayos con ratones se observa que, aunque la diferencia entre el peso de las crías testigos y las que recibieron el suplemento de Cobalto es considerable, el error estandard del primer valor es tan elevado que la diferencia carece de significación. En el estudio anterior tampoco había diferencia significativa en este aspecto, en realidad los pesos de los dos grupos respectivos eran casi iguales, pero se observó un efecto sobre la mortalidad y el aumento de peso de las madres durante la lactancia que no se observó en los experimentos presentados ahora. Esta observación tiene varias posibles explicaciones: podría tratarse de que la utilización de Cobalto dietético fuera igual con ambas raciones, pero que la cantidad de vitamina B12 formada tuviera un efecto más marcado con la dieta usada anteriormente y con un contenido menor en proteínas, porque, como ya hemos mencionado, parece que dietas altas en proteínas aumentan los requerimientos en vitamina B12. Otra explicación sería la posibilidad de que la adición de caseína y la disminución de maíz en la dieta usada en el presente trabajo disminuyera la utilización del Cobalto para la formación de vitamina B12 u otros fines desconocidos.

Una tercera posibilidad en la explicación de la diferencia entre los resultados anteriores y presentes sería la posible existencia de una diferencia en el contenido de Cobalto en las dos dietas usadas. Para investigar esta posibilidad se analizaron todos los ingredientes de las dos dietas acerca de su contenido en Cobalto, encontrándose para ambas dietas valores idénticos de 0.2 p. p. m.

Este valor de cobalto en las dietas es relativamente alto, debido al alto contenido de este metal en la harina de soya. En la mayoría de los cereales y otros productos alimenticios se encontraron valores entre 0.03 y 0.12 p.p.m. (3). Como la dieta a base de maíz y soya, usada en los experimentos anteriores, en los cuales el suplemento de cobalto dió un efecto mayor, es igualmente alto, se puede concluir que, por lo menos bajo las condiciones experimentales usadas, la utilización de cobalto es poco efectiva en ratones y ratas. Es interesante notar que en ovejas que desarrollan una enfermedad carencial si consumen pasto de un contenido en cobalto menos de 0.07 p.p.m., la cantidad de 0.2 p.p.m. en el peso seco del alimento es considerada suficiente para prevenir dicha deficiencia (4). Ultimamente, se ha demostrado (5) que en ratas que recibieron cobalto, se encuentra un compuesto en las heces que tiene acción de vitamina B12 en microorganismos pero no en las mismas ratas. Se ha postulado que se trata de una nueva forma de vitamina B12, posiblemente sintetizada por los microorganismos intestinales. Posiblemente este compuesto o uno de características parecidas tiene acción en ovejas, puesto que se ha demostrado que el contenido de la panza de esta especie de animal tiene tres veces la acción de vitamina B12 para microorganismos que para ratas. De todas estas observaciones se podría postular la hipótesis de que el efecto tan poco eficiente del cobalto dietético en ratas deficientes en vitamina B12, para vencer esta deficiencia, se deba a que el cobalto dietético fuera usado principalmente por la flora intestinal para sintetizar la forma inactiva de la vitamina B12 y sólo una pequeña parte en la formación de la vitamina B12 activa o bien que la forma inactiva tenga cierta actividad en concentraciones altas.

Estamos estudiando actualmente la acción cuantitativa del cobalto sobre la reproducción de ratones y ratas.

TABLA I

REPRODUCCION DE RATAS Y RATONES ALIMENTADAS CON UNA DIETA ALTA EN PROTEINA Y BAJA EN VITAMINA B12 CON Y SIN COBALTO EN EL AGUA DE BEBIDA

R A T A S						
Serie N°	Suplemento	N° de crías nacidas	N° de crías muertas	N° de animales sobrevivientes por crías nacidas	Peso medio a la edad de 28 días.	Cambio de peso de las madres
1	—	12	4	3.33	36.4 ± 4.8	8.1 ± 8.9
2	CoCl ₂	14	2	4.43	44.2 ± 3.7	11.2 ± 3.8
3	—	11	5	2.09	30.8 ± 5.2	5.7 ± 6.3
4	CoCl ₂	14	3	3.07	33.5 ± 2.3	1.7 ± 4.2
R A T O N E S						
1	—	43	24	1.56	9.0 ± 0.79	0.9 ± 0.95
2	CoCl ₂	32	17	1.66	10.4 ± 0.34	0.1 ± 0.57

R E S U M E N

En un estudio efectuado con ratones y ratas criadas por varias generaciones con una dieta vegetariana, baja en vitamina B12 se cambió la alimentación a las hembras preñadas por una dieta alta en proteínas (40 %) y baja en vitamina B 12; en otro grupo se ofreció una solución de cloruro de cobalto al 0.005% como agua de bebida junto con la misma dieta alta en proteínas. En la serie que recibió el suplemento de cobalto se observó menor mortalidad de las crías, mejor crecimiento de las mismas y un manifiesto aumento de peso de las madres durante la lactancia. Sin embargo, con una excepción, las diferencias no fueron estadísticamente significantes y menos acentuadas que en estudios anteriores. Se discuten algunas de las posibles razones por qué con la dieta alta en proteína usada en el presente estudio las diferencias fueron menos marcadas que en los ensayos anteriores.

Los contenidos en cobalto de la dieta usada en el presente estudio y en el trabajo anterior fueron 0.2 p.p.m.

S U M M A R Y

A study is presented on the reproduction of mice and rats raised for several generations on a fortified all plant ration, low in B12 and kept during lactation on a diet high in protein (Soy bean meal-casein-corn) and fortified with all the vitamins except B12. The effect of a cobalt supplement (0.005% CoCl_2), given in the drinking water, was studied. Survival, weaning weight of the young, and weight gain of the mothers was better in all groups receiving the Co-supplement, although the differences were not significant except in one case. Some possible reasons why the Co-effect was less marked on the high protein diet as compared with previous experiments are discussed. The cobalt content of the unsupplemented diet used in the present and in previous studies were both 0.2 p.p.m.

ZUSAMMENFASSUNG

In einer Untersuchung über die Fortpflanzung von Mäusen und Ratten, die für mehrere Generationen mit einer pflanzlichen Diät mit sehr geringem Vitamin B₁₂ Gehalt er-

nährt worden waren, wurden die trächtigen Weibchen auf eine ähnliche Diät mit hohem Eiweissgehalt (40 %) gesetzt und in 2 Gruppen unterteilt; eine davon erhielt eine 0.005% CoCl_2 -Lösung statt Trinkwasser und die andere wurde als Kontrolle benutzt. Die Sterblichkeit der Jungen, aus den Serien die das Cobalt Supplement erhielten war geringer, ihr Wachstum sowie das der Muttertiere während der Säuageperiode besser als das der Kontrollen; trotzdem waren die Einzelunterschiede mit einer Ausnahme nicht statistisch gesichert. Es werden einige der möglichen Gründe besprochen, warum im vorliegenden Falle die Unterschiede zwischen den experimentellen und Kontrollgruppen geringer waren als in früheren Arbeiten mit Diäten mit normalem Proteingehalt.

Der Cobalt-Gehalt der in der vorliegen sowie der der früheren Diät waren beide 0.2 p. p. m.

B I B L I O G R A F I A

- 1) W. G. Jaffé.— Arch. Venez. Nutr. 2,20 (1951).
- 2) W. G. Jaffé.— Science 115, 2984 (1952).
- 3) L. M. Bianchi.— Datos no publicados.
- 4) H. R. Marston.— Physiol. Rev. 32, 69 (1952).
- 5) U. J. Lewis, D. V. Tappan y C. A. Elvehjem.— J. Biol. Chem. 94, 539 (1952).