

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE SELENIO EN CORDEROS DE RAZA GALLEGA

M. I. Miranda Castañón

C. Castillo Rodríguez

G. Santamarina Pernas

M. López Alonso

J. Hernández Bermúdez

J.L. Benedito Castellote

Departamento de Patología Animal.

Facultad de Veterinaria de Lugo. 27002 Lugo.

RESUMEN

Se ha llevado a cabo un trabajo para evaluar las concentraciones de selenio en corderos de un rebaño raza Gallega. Para ello se determinaron las concentraciones de selenio sérico por espectrofotometría de absorción atómica combinada con generación de hidruros y las enzimas glutatión-peroxidasa (GSH-Px), creatín-fosfoquinasa (CPK) y aspartato-aminotransferasa (ASAT) por técnicas enzimático-colorimétricas.

La concentración media de selenio sérico en el conjunto de los animales fue de 21.86 ± 0.14 ppb, y las actividades medias de las enzimas fueron para la GSH-Px de 107.51 ± 7.6 UI/g Hb, para la CPK de 85.56 ± 9.8 UI/l y para la ASAT de 34.5 ± 2.2 UI/l. Los corderos procedentes de gestación múltiple presentaron menor concentración de selenio sérico y mayor actividad de la enzima CPK que los de gestación sencilla. El sexo de los corderos no influye significativamente sobre los parámetros analizados.

Palabras clave: Corderos, Selenio, Glutatión-peroxidasa, Enzimas musculares.

SUMMARY

EVALUATION OF SELENIUM LEVELS IN GALICIAN OVINE BREED LAMBS

Selenium levels in Galician ovine breed lambs have been studied in one flock. To carry out our purpose the serum selenium concentration was analysed by atomic absorption spectrophotometry with hydride generation, and glutathione peroxidase (GSH-Px), creatine-fosfokinase (CPK) and aspartate-aminotransferase (ASAT) enzymes were analyzed using enzymatic-colorimetric techniques.

The mean serum selenium concentration was 21.86 ± 0.14 ppb and the mean enzyme activity were 107.51 ± 7.6 UI/g Hb of GSH-Px, 85.56 ± 9.8 UI/l of CPK and 34.5 ± 2.2 UI/l of ASAT. Twin lambs had less serum selenium concentration and more CPK activity than single lambs. Sex didn't have any influence on these parameters.

Key words: Lambs, Selenium, Glutathione peroxidase, Muscle enzymes.

Introducción

La carencia de selenio en los animales produce diferentes alteraciones patológicas, de las cuales la más relevante es la Enfermedad del musculo blanco, proceso que afecta principalmente a corderos jóvenes de menos de seis semanas cuando proceden de madres que han recibido una dieta pobre en selenio durante la gestación (JIMÉNEZ y cols., 1991).

El selenio ejerce su papel biológico a través de la seleno-enzima glutatión-peroxidasa (GSH-Px) (ROTRUCK y cols., 1973), que cataliza las reacciones que ayudan a destruir al peróxido de hidrógeno y a los peróxidos de ácidos grasos, evitando así los daños derivados de ellos (RAMÓN-GIMÉNEZ, 1993).

Los dismetabolismos del selenio-GSH-Px desencadenan alteraciones en el mecanismo oxidativo, produciéndose por su deficiencia peroxidación lipídica de las fibras musculares, llegando finalmente a degeneración y necrosis. Como consecuencia de ello se liberan al torrente circulatorio determinados enzimas musculares (BLOOD y cols., 1992).

Son muy numerosos los factores etiológicos que actúan en el desencadenamiento de este proceso nutricional, factores que reducen la concentración de selenio en las plantas y factores que reducen la ingestión y/o aprovechamiento por parte de los animales. Las características climáticas y edafológicas de Galicia determinan suelos ácidos y con escasa aireación, junto con elevadas precipitaciones, lo que conlleva bajas concentraciones de selenio en los suelos, y por tanto en los pastos y en los animales (KOLLER, 1981).

La raza ovina Gallega define animales de pequeño tamaño, bien enlanados, generalmente de color blanco y dedicados a la pro-

ducción cárnica. Están adaptados a una geografía y climatología difícil de soportar por otras razas más seleccionadas. Es característica de esta raza la alta fertilidad y prolificidad, con predisposición de partos gemelares y triples. La explotación de esta raza se realiza en régimen extensivo, con base de pastoreo, siendo su estructura reflejo del minifundismo agrario existente en la provincia de Lugo y en Galicia en general (SÁNCHEZ GARCÍA y cols., 1989).

El objetivo del presente trabajo se centra en la evaluación del selenio en corderos, desde el momento del nacimiento hasta el mes de edad; valorando, así mismo, la influencia del nacimiento de parto sencillo o múltiple y del sexo, en un modelo de explotación típica de Galicia. Para ello realizamos la determinación de los niveles séricos de selenio, por ser el parámetro más adecuado para detectar pequeñas variaciones en intervalos breves de tiempo (STOWE y HERDT, 1992). También se valoraron la actividad de la enzima GSH-Px, ya que nos da idea de la protección que presenta el animal frente a daños oxidativos, y las enzimas marcadoras de alteración muscular creatín-fosfoquinasa (CPK/CK) y aspartato-amino-transferasa (ASAT/GOT).

Material y métodos

La toma de muestras se realizó en una explotación de ganado ovino de raza Gallega situada en la provincia de Lugo. Los animales eran explotados en régimen de semiestabulación, la base de la alimentación la constituía el pastoreo en praderas polifíticas naturales, recibiendo además una complementación de la ración con heno (primavera y verano) y ensilado (otoño), no teniendo suplementación mineral. El estado

general de los animales era satisfactorio, no presentando ninguna manifestación sintomatológica durante toda la experiencia.

Se seleccionaron 10 hembras de primer parto, que fueron sometidas a un proceso de sincronización de celo (Abril 1994), empleando acetato de fluorogestona (Cronolone®) (30mg/esponja intravaginal) y PMSG (300 UI), con el propósito de sincronizar los partos. Durante el 2º y 3º mes de preñez (Junio-Julio) se realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonidos, apreciando a su vez las hembras que mantenían una gestación simple o múltiple.

En el mes de Septiembre tuvo lugar el parto de las hembras, con un total de 15 corderos, a los que se les tomaron muestras de sangre hasta el mes de edad (5 tomas), a intervalos de tiempo semanales, extrayendo paralelamente muestras a las madres. Del total de los corderos, 5 eran procedentes de parto sencillo y 10 de parto doble; 7 hembras y 8 machos. Se extrajeron 10 ml de sangre venosa de la yugular a cada animal, de los cuales 2.5 ml se depositaron en tubos con EDTA dipotásico para la determinación de la hemoglobina, 2,5 ml en tubos con heparina para la actividad glutatión-peroxidasa, y del resto se obtuvo suero para la cuantificación de los niveles de selenio sérico y las actividades enzimáticas creatín-fosfoquinasa y aspartato-aminotransferasa.

Los niveles séricos de selenio (ppb), se cuantificaron por espectrofotometría de absorción atómica combinada con generación de hidruros. La actividad glutatión-peroxidasa (UI/g Hb) se determinó mediante el empleo del kit comercial (Ransel® Randox. U.K.), basado en el método de Plagia y Valentine (1967), leyendo las absorbancias a 340 nm y a temperatura estable de 37°C en un espectrofotómetro de luz UV/Vis. La hemoglobina se midió por el

método de la cianmetahemoglobina (HAINLINE, 1958). La cuantificación de las enzimas creatín-fosfoquinasa y aspartato-aminotransferasa (UI/l) se determinó con kits (Knickerbocker), realizándose las lecturas de las absorbancias a 340 y 505 nm respectivamente, en el citado espectrofotómetro.

El procesamiento estadístico de los datos se realizó por análisis de varianza de una vía (F de Fisher), valorando la evolución de los parámetros estudiados en los corderos desde el nacimiento al mes de vida, además de la influencia del tipo de nacimiento (sencillo o múltiple) y del sexo, considerando una probabilidad del 95% ($p < 0,05$).

Resultados

Se ha observado una evolución opuesta de la concentración de selenio entre los corderos y sus madres (figura 1). Durante la primera semana postparto se produce un descenso estadísticamente significativo ($p < 0,05$) de la concentración de este mineral en las madres, produciéndose paralelamente un incremento en los corderos. Al cabo de unos días, los niveles maternos se van recuperando y los corderos bajan sus reservas.

En el cuadro 1 aparecen representadas las actividades enzimáticas GSH-Px, CPK, ASAT y las concentraciones de selenio sérico en el conjunto de los corderos, representadas como medias $\pm$ e.s. y rangos de valores mínimo y máximo.

La concentración media de selenio sérico en los corderos fue de $21,86 \pm 0,1$ ppb, oscilando entre 19,11 y 23,76 ppb (ambas durante la toma 3). La actividad media de la enzima GSH-Px fue $107,51 \pm 7,6$ UI/g Hb, observándose grandes fluctuaciones. A par-

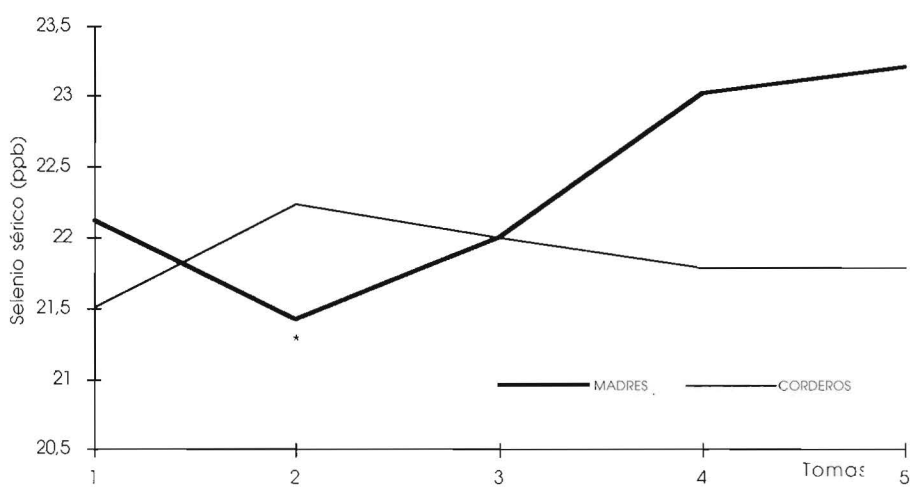


Figura 1. Evolución de la concentración de selenio sérico (ppb) en madres y sus corderos. * ($p<0,05$)
(*Evolution of serum selenium concentration (ppb) in ewes and their lambs*)

CUADRO I
CONCENTRACIÓN DE SELENIO SÉRICO Y ACTIVIDADES GSH-Px, CPK Y ASAT
EN EL CONJUNTO DE LOS CORDEROS (MEDIAS±E.S. Y MÍNIMO Y MÁXIMO)
(*SERUM SELENIUM LEVELS AND GSH-Px, CPK AND ASAT ACTIVITIES IN ALL
LAMBS (MEAN±S.E AND MINIMUM-MAXIMUM)*)

	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5	Media
Selenio (ppb)	21.51±0.2 (20.07-22.14)	22.24±0.3 (20.76-23.16)	22.00±0.4 (19.11-23.76)	21.79±0.4 (20.46-23.64)	21.78±0.3 (20.34-23.52)	21.86±0.1 (19.11-23.76)
GSH-Px (UI/g Hb)	90.13±26.5 (11.38-292.95)	80.46±7.8 (45.73-126.15)	108.56±9.0* (44.32-143.31)	151.54±18.3* (73.31±243.74)	106.86±8.4 (44.32-132.31)	107.51±7.6 (11.38-292.85)
CPK (UI/l)	85.57±9.8 (52.34-158.20)	58.85±8.1* (23.38-110.05)	58.03±10.3 (24.28-112.19)	51.35±9.5 (9.63-93.54)	51.39±8.8 (15.13-93.13)	61.04±4.4 (9.63-158.20)
ASAT (UI/l)	51.1±4.2 (16-62)	47.4±1.9 (39-57)	17.8±3.0* (6-40)	23.1±1.6 (16-31)	33.1±1.6 (26-41)	34.5±2.2 (6-62)

* ($p<0,05$) diferencias significativas respecto a las tomas anteriores

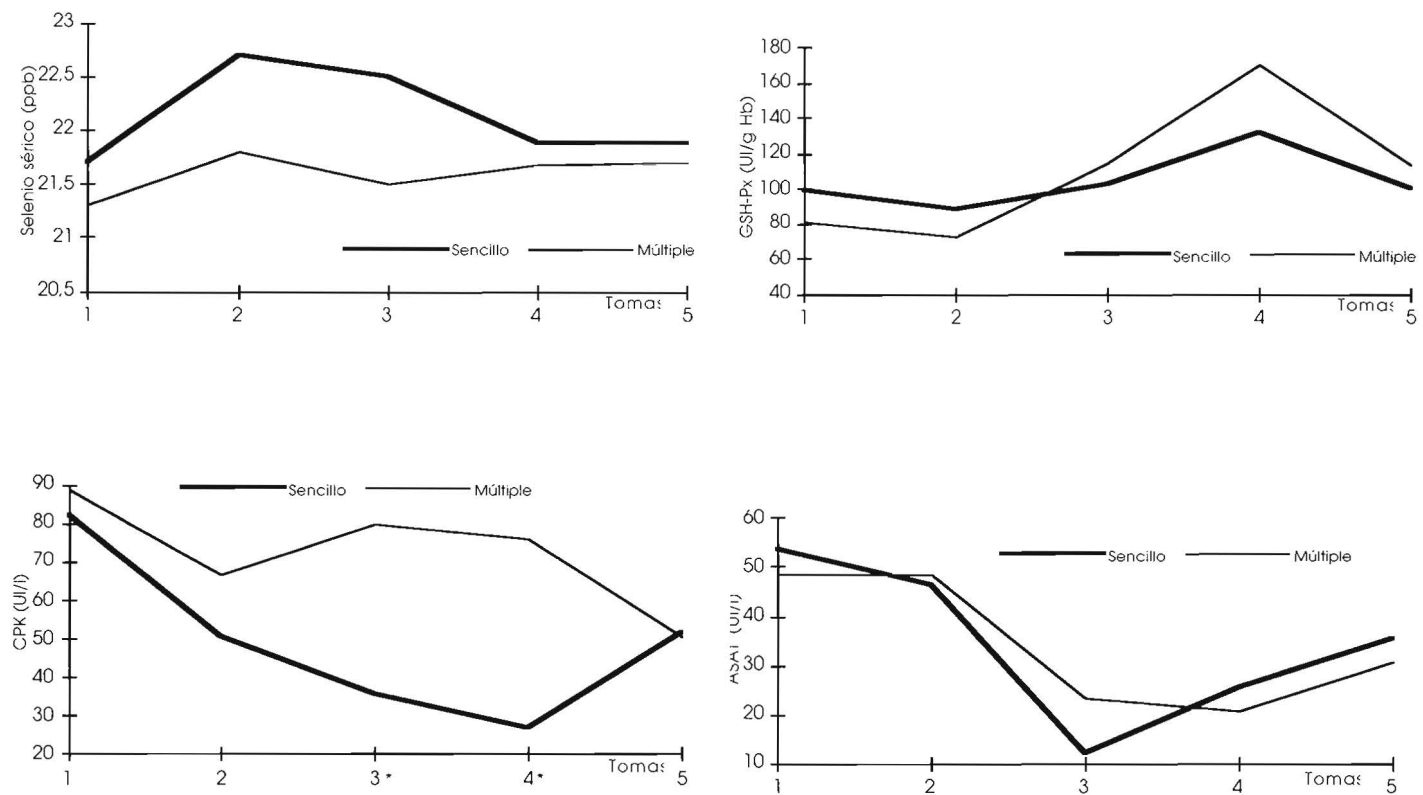


FIGURA 2: Evolución de los niveles de selenio, GSH-Px, y enzimas musculares (CPK y ASAT) en los corderos según nacimiento de parto sencillo o múltiple * ($P < 0,05$)

(Evolution of selenium levels, GSH-Px and muscle enzymes (CPK and ASAT) depending on the type of birth (single or multiple))

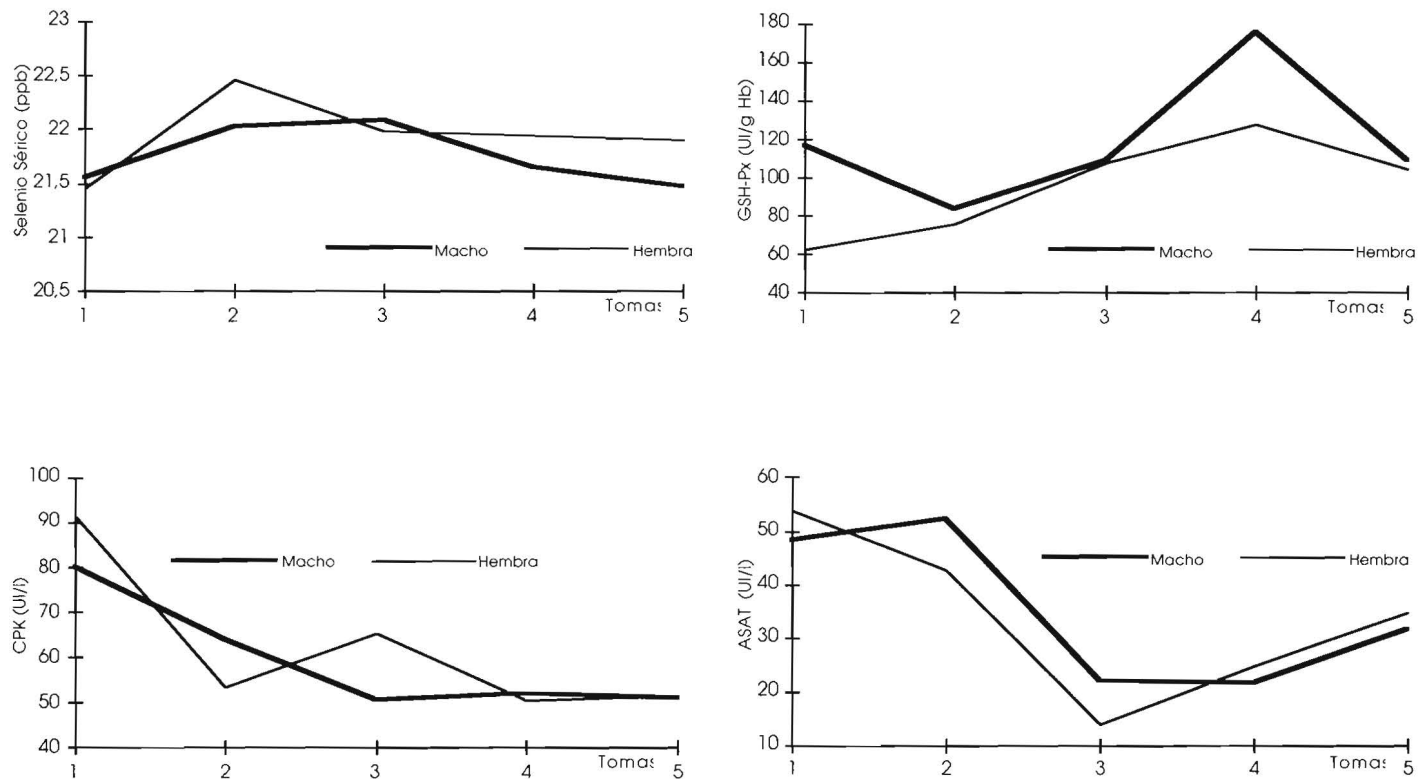


Figura 3. Comparación de los niveles de selenio, GSH-Px y enzimas musculares (CPK y ASAT) según el sexo de los corderos.
(Evolution of selenium levels, GSH-Px and muscle enzymes (CPK and ASAT) depending on the sex)

tir de la segunda semana de vida (toma 3), se produce un incremento de la actividad de esta enzima, siendo esta elevación significativa desde un punto de vista estadístico ($p < 0.05$). En cuanto a las enzimas marcadoras de daño muscular (CPK y ASAT), ambas presentan la actividad más elevada en el momento del nacimiento, produciéndose una caída de sus actividades estadísticamente significativa ($p < 0.05$), a partir de ese momento.

En la figura 2 se representan los resultados obtenidos al estudiar independientemente los parámetros según el tipo de nacimiento de los corderos. Hemos observado concentraciones inferiores de selenio y actividades superiores de la CPK ($p < 0.05$) en los corderos nacidos de parto múltiple, respecto a los nacidos de parto simple. Para la GSH-Px y ASAT los resultados fueron similares entre ambos grupos.

En una evaluación global del estudio de la influencia del sexo de los corderos sobre los parámetros estudiados (figura 3), apreciamos para el selenio y para la enzima ASAT resultados similares entre ambos lotes, de manera que podemos señalar que ambos parámetros no se ven influenciados por este factor. No ocurre así con la enzima GSH-Px, que es superior siempre en los machos, y la CPK que generalmente presenta mayores niveles en las hembras; si bien estas diferencias carecen de significación estadística.

Discusión

– Evolución en función de la edad:

Los niveles de selenio sérico en los corderos de este estudio se sitúan dentro de los márgenes considerados como adecuados

según los estudios de FRASER (1982), TURNER (1982), DIXON y DUNNER (1983) y ZACHARA y cols. (1989), considerando estos autores como adecuados aquellos que superan las 20 ppb. No obstante, en los estudios efectuados por WHELAN y cols. (1994) los niveles de normalidad se establecen a partir de los 40 ppb; en base a lo cual estos animales podían ser considerados como deficitarios en este oligoelemento.

Tras el parto (figura 1), existe una fuerte eliminación de selenio, a través del calostro. Esta circunstancia desencadena una caída de la concentración del mineral en suero materno y un incremento en el de los corderos. Posteriormente, el calostro será reemplazado por la leche que contiene menor concentración de este mineral, recuperándose en este momento los valores en la hembra ovina (KOLLER y cols., 1984, PHERSON y cols., 1990). Al mismo tiempo, los corderos desprovistos de una fuente de selenio tan abundante como el calostro, inician un descenso en las concentraciones de este oligoelemento. Parece claro, pues, el papel desempeñado por la secreción calostrual en lo que respecta al primer aporte de selenio al animal recién nacido, tal y como ya señalaban KOLLER y cols. (1984), VAN DAEL y cols. (1991), BENEMARIYA y cols. (1993).

La actividad de la enzima GSH-Px se encuentra dentro de los límites fisiológicos según SAÉZ y cols. (1995) (60-120 UI/g Hb). Esta actividad enzimática se va incrementando según avanza la edad de estos animales, lo que nos indica que adquieren una buena defensa frente a daños oxidativos, coincidiendo con los estudios de STOWE y HERDT (1992).

Las enzimas marcadoras de daño muscular (CPK y ASAT), muestran en el momento del nacimiento una actividad más elevada, tras el cual se produce un declive de la

misma. La evolución de la CPK coincide con lo descrito por BOSTEDT y SCHRAMMEL (1990) y BRAUN y cols. (1993), permaneciendo dentro de los límites descritos como fisiológicos (<100 UI/l). La enzima ASAT se mantiene, igualmente, dentro de los rangos fisiológicos descritos por KANEKO (1989) y PERNTNER y cols. (1993) (<100 UI/l). En base a estos resultados, debemos señalar que los niveles de selenio y GSH-Px, no parecen ser desencadenantes de daños musculares. No obstante, creemos que el comportamiento de estas enzimas musculares obedece al nacimiento en sí mismo, lo que provoca un estrés oxidativo que origina la salida de estas enzimas citosólicas al espacio extracelular. En el caso de la ASAT permanece elevada durante la primera semana de vida de los corderos, debido a la elevada vida media de esta enzima que se mantiene en suero sanguíneo de 3 a 10 días en ganado ovino (BLOOD y cols., 1992).

– Evolución según tipo de gestación:

Los corderos hasta el mes de edad se sustentan a partir de sus madres. Las hembras que han mantenido una gestación múltiple han sufrido un mayor consumo de selenio ya que se debe repartir a ambos fetos (LANGLANDS y cols., 1991), y por ello presentan menor nivel del mineral los corderos procedentes de parto múltiple. Estos animales a su vez, presentaron una menor protección frente a daños oxidativos y como consecuencia se produjo liberación al torrente circulatorio de CPK (BLOOD y cols., 1992). No obstante, en este grupo de animales la concentración del mineral parece ser adecuada, ya que la actividad de esta enzima se encuentra dentro de los límites fisiológicos (<100 IU/l). Las actividades GSH-Px y ASAT se presentaron muy homogéneas para ambos grupos.

– Evolución según sexo:

Los corderos macho presentan generalmente mayor desarrollo corporal que las hembras, y como consecuencia un desarrollo superior de la placenta, lo que conduce a una mayor vehiculación de GSH-Px de la madre al feto (BOSTEDT y SCHRAMMEL, 1990). Este aporte superior de GSH-Px proporciona una fuerte protección frente a daños oxidativos y consecuentemente una menor liberación de CPK.

Conclusión

Los niveles de selenio en este grupo de corderos de raza Gallega parecen ser adecuados, ya que tanto los niveles de selenio, como el resto de parámetros indicativos de patologías oxidativas (GSH-Px) y muscular (CPK y ASAT) se mantienen dentro de la normalidad, observando a su vez que la gestación múltiple condiciona las reservas de selenio en la descendencia.

Bibliografía

- BENEMARIYA H., ROBBERECHT H., DEELSTRA H., 1993. Zinc, copper, and selenium in milk and organs of cow and goat from Burundi, Africa. *Sci. Total Environ.* 128 (1). 83-98.
- BLOOD D.C., RADOSTITS O.M., ARUNDEL J.H., GAY, C.C. 1992. *Medicina Veterinaria*. 7ª ed. Vol I. Ed. Interamericana. Madrid.
- BOSTEDT H., SCHRAMMEL., 1990. The importance of selenium in the prenatal and postnatal development of calves and lambs. *Biol. Trace Elem. Res.* 24 (2). 163-171.
- BRAUN J.P., LEFEBVRE H.P., HAMLIRI A., KESSABI., TOUTAIN P.L., 1993. La créatine kinase du mouton: une revue. *Revue Méd. Vét.* 144 (8-9). 659-664.

- DIXON R., DUNNER K., 1983. Unit changes in trace element analyses. *Surveillance*. 10 (2), 6-8.
- FRASER A., 1982. Production related reference ranges. *Surveillance*. 9, 4-7.
- HAINLINE, A., 1958. Hemoglobin in standard methods of clinical chemistry. D.Seligson. Vol. 2. Academic Press. New York.
- JIMENEZ A., GONZÁLEZ M., ANDRÉS S., 1991. La deficiencia de selenio. Importancia de la Enfermedad del músculo blanco en las producciones ovinas. *Tratado de Patología y Producción ovina (OVIS)*. 12, 9-18.
- KANEKO J.J., 1989. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4th ed. Ed. Academic Press. Inc. London.
- KOLLER L.D., 1981. Influence of selenium on livestock. *Mod. Vet. Proc.* 62:25.
- KOLLER L.D., WHITBECK G.A., SOUTH P.J., 1984. Transplacental transfer and calostrical concentrations of selenium in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 45, 2507-2510.
- LANGLANDS J.P., DONALD G.E., BOWLES J.E., SMITH A.J., 1991. Subclinical selenium insufficiency 3. The selenium status productivity of lambs born to ewes supplemented with selenium. *Aust. J. Exp. Agric.* 31 (1), 37-43.
- PERNTHANER A., BAUMGARTNER W., JAHN J., PLAUTZ W., ANGEL T., 1993. Investigations of haematological parameters, mineral and metabolite concentrations, and enzyme activities in sheep. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*. 106 (3), 73-79.
- PHERSON B., HAKKARAINEN J., BLOMGREN L., 1990. Vitamin E status in newborn lambs with special reference to alfatosopherol acetate supplementation in late gestation. *Acta Vet. Scand.* 31 (3), 359-367.
- PLAGIA D.E., VALENTINE W.N., 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 70, 158.
- RAMÓN-GIMENEZ J.R., 1993. Radicales libres y antioxidantes en clínica humana. Ed. IDEPSA, Madrid.
- ROTRUCK J.T., POPE A.L., CANTHER H.E., 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*. 179, 588-590.
- SAEZ T., MARCA M.C., RAMOS J.J., VERDE M.T., FERNÁNDEZ, SANZ M.C., 1995. Detección de carencias de selenio en el ganado ovino de la provincia de Zaragoza mediante la medición de la actividad glutatión-peroxidasa seleno-dependiente. *ITEA, Prod. An.* Vol.91A, (1), 5-11.
- SÁNCHEZ GARCÍA L., IGLESIAS A., VALLEJO M., 1989. Raza Ovina Gallega. Diputación Provincial de Lugo.
- STOWE H.D., HERDT T.H., 1992. Clinical assessment of selenium status of livestock. *J. Anim. Sci.* 70, 3928-3933.
- TURNER K., 1982. Molecular units and significant figures in trace elements analysis. *Surveillance*. 9, 17-20.
- VAN DAEL P., VLAEMYNCK G., VAN RENTERGHEM R., DEELSTRA H., 1991. Selenium content of cows milk and its distribution in protein fractions. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 192, 422-425.
- WHELAN B.R., PETER D.W., BARROW N.J., 1994. Selenium fertilizers for pastures grazed by sheep. 1. Selenium concentration in whole blood and plasma. *Aust. J. of Agric. Res.* 45 (4), 863-875.
- ZACHARA B.A., BOROWSKA K., ZAMORSKI R., KAPTUR M., 1989. Blood selenium status, glutathione peroxidase, and creatine kinase activities in ewes during pregnancy and lactation and in lambs. 6th International Trace Element Symposium, Leipzig. 3, 813-821.

(Aceptado para publicación el 1 de julio de 1996)