

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS CLÍNICAS VETERINARIAS**

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN PARENTERAL DE SELENATO DE BARIO  
SOBRE LA ACTIVIDAD DE GLUTATION PEROXIDASA ERITROCÍTICA EN  
CABALLOS**

Tesis de Grado presentada como  
parte de los requisitos para optar al  
Grado de LICENCIADO EN  
MEDICINA VETERINARIA

**RENE ALBERTO URZUA SCHWALM**

**VALDIVIA - CHILE**

**2001**



**A mis padres y a mi tata Alberto,  
que en paz descansen,  
con inmensa gratitud y cariño**

## INDICE

1. RESUMEN _____	1
2. SUMMARY _____	2
3. INTRODUCCION _____	3
4. MATERIAL Y METODOS _____	11
5. RESULTADOS _____	16
6. DISCUSION _____	21
7. BIBLIOGRAFIA _____	24
8. ANEXOS _____	27

## 1. RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue medir, en caballos selenio deficientes, la respuesta a la aplicación intramuscular (im.) de una dosis única de selenato de bario (Deposel ®), mediante determinación de la actividad de glutatión peroxidasa (GSH-Px) eritrocítica durante noventa días. Por otra parte, se determinó el grado de reacción tisular local provocado por la inyección.

Como material biológico se utilizaron catorce caballos criollos chilenos, machos y hembras, de entre dos y veinte años de edad, todos selenio deficientes y alimentados únicamente bajo régimen de pastoreo directo. Se dividieron en dos grupos, uno tratado (n=8) con selenato de bario en dosis de 0.5 mg/kg de peso vivo y un grupo control (n=6) al cual se le aplicó agua destilada a modo de placebo.

Se tomó muestras de sangre heparinizada al comienzo de la experiencia, y después, a los treinta, sesenta y noventa días postratamiento. La reacción tisular local fue evaluada según el tamaño de la reacción, dolor a la palpación, temperatura local y claudicación.

A los treinta días post tratamiento, la actividad de GSH-Px eritrocítica del grupo tratado se incrementó, alcanzando en promedio el valor mínimo del rango de referencia, sin que se observaran diferencias estadísticamente significativas ( $p>0.05$ ). No obstante, en este mismo muestreo, existieron diferencias significativas ( $p<0.05$ ) respecto al grupo control. A los sesenta y noventa días post tratamiento, se observaron incrementos significativos ( $p<0.05$ ) en la actividad enzimática del grupo tratado, existiendo también en ambos muestreos diferencias estadísticamente significativas ( $p<0.05$ ) respecto del grupo control.

En los caballos tratados, no se observaron reacciones adversas de importancia en el punto de aplicación, salvo una leve molestia a la palpación y un aumento de temperatura local, desapareciendo ambas reacciones al cuarto día post tratamiento.

Se concluye, que el selenato de bario aplicado a caballos selenio deficientes, vía im. en dosis única de 0.5 mg/kg, logra incrementar y mantener la actividad de GSH-Px eritrocítica dentro del rango de referencia al menos por noventa días posteriores al tratamiento. Además, se concluye que su aplicación intramuscular no produce reacciones adversas clínicamente detectables en el punto de inyección.

Palabras claves: equino, selenio, esteatosis, miodegeneración, selenato de bario

## 2. SUMMARY

The objective of the present study was to measure the response for ninety days to an intramuscularly application of barium selenate (Deposel) using erythrocytic glutathion peroxidase (GSH-Px) activity as indicator on selenium deficient horses. Also degree of local tissue reaction in the injection site was measured.

Fourteen Chilean Horses, between two and twenty years old, low erythrocytic GSH-PX activity and under pasture feeding were used. They were divided into two different groups, the first one (n=8) received a single dose of 0.5 mg/kg bw of barium selenate. To the second group (n=6), a placebo was administered.

Heparinized blood was obtained at the beginning of experiment and thirty, sixty and ninety days after treatment. The local tissue reaction was evaluated using reaction size, discomfort on palpation, local temperature and lameness.

Thirty days after treatment erythrocytic GSH-PX activity of treated group was incremented, reaching the minimum value of the reference range. However, this increment was not statistically significant ( $p>0.05$ ). The difference between treated and non treated groups at this time was statistically significant ( $p<0.05$ ). Sixty and ninety days after treatment, the enzymatic activity in the treated group incremented significantly ( $p<0.05$ ) and differences between treated and non treated groups at these times were also significant ( $p<0.05$ ).

Important adverse reactions in the injection site were not found in treated horses. They only showed a barely discomfort on palpation and a local temperature elevation; both of which disappeared four days after treatment.

It can be concluded that a single intramuscularly administration of barium selenate to horses using a dose of 0.5 mg/kg, can increment and maintain erythrocytic GSH-Px activity in the reference range for at least ninety days. Besides, the intramuscularly application of barium selenate does not produce adverse reactions clinically detected at the injection site.

Key words: equine, selenium, steatitis, myodegeneration, barium selenate

### 3. INTRODUCCION

#### 3.1. SELENIO

Existen en la naturaleza diversos tipos de minerales indispensables para la vida de los animales, dentro de los cuales se encuentran los macrominerales, como el calcio, sodio, fósforo, magnesio y potasio, entre otros; y los llamados minerales traza, tales como, zinc, cobre, cobalto, yodo y selenio (Ceballos y Wittwer, 1996).

El selenio (Se) comenzó a ser estudiado en la década de 1930, donde fueron descubiertos sus efectos tóxicos, asociándosele a la llamada enfermedad por álcali y al vértigo ciego del ganado (Blood y Radostits, 1992). Dos décadas más tarde, Schwartz y Foltz (1957) descubrieron que este micronutriente prevenía la necrosis hepática en ratas con deficiencia de vitamina E, considerándose desde entonces un elemento vital para la vida (Blood y Radostits, 1992). Pero el verdadero papel de este elemento en el organismo, tomó importancia cuando Rotruck y col. (1973) descubrieron su función protectora contra el daño oxidativo, al ser un componente de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px).

Además de formar parte de la enzima GSH-PX, el Se forma parte de la estructura de proteínas similares al citocromo C, está relacionado con la presencia del citocromo P-450, es parte de la selenoproteína P, y regula el metabolismo de algunos aminoácidos. También la conversión de tetraiodotironina a triiodotironina en los tejidos, principalmente hígado, es un proceso catalizado por una enzima selenodependiente, la 5'-deiodinasa (Ullrey, 1992).

Las diferentes formas químicas de selenio suministradas interfieren en su metabolismo. Es así, como las formas de selenato y selenita son más absorbibles para el organismo que el Se elemental y el selenido (Ceballos y Wittwer, 1996). De la misma manera la incorporación de formas orgánicas, es decir, selenio unido a aminoácidos alcanza una mayor concentración tisular que las fuentes inorgánicas (Ullrey, 1987). Existen también otros factores que interfieren en el metabolismo de este mineral, entre los cuales se encuentran: la interacción con otros minerales, tales como azufre, hierro, cobre y zinc (Ceballos y Wittwer, 1996); la cantidad de excipiente empleado, ya que a mayor cantidad de éste, mayor es la cantidad excretada; la cantidad de Se inyectado, ya que a mayor cantidad, mayor es lo excretado (Symonds y col., 1981); la concentración de Se preexistente en los tejidos; y por último, un componente genético que determina la capacidad de absorción y retención de Se en individuos de la misma especie (Ullrey, 1987).

La absorción intestinal de selenio en monogástricos se lleva a cabo principalmente en el yeyuno (Wright y Bell, 1966). Según MConell y Cho (1965), el Se en forma de selenometionina se absorbe mediante un mecanismo de transporte activo, demostrado en estudios realizados en intestino delgado de hámster. De igual forma, estos mismos autores determinaron que la selenocisteína y el selenita se absorben por difusión pasiva, mientras que el selenato es absorbido mediante transporte activo por la bomba Na/K ATPasa. La absorción de Se en rumiantes es menor que en monogástricos debido a la reducción de formas biológicamente activas en su paso por el rumen (Ceballos y Wittwer, 1996). Sin embargo, en caballos, la absorción de Se inorgánico después de una suplementación oral no surte grandes efectos (Witchel, 1998).

Después de ser absorbido, el selenio se une a proteínas transportadoras para ser llevado al hígado, siendo la albúmina la principal proteína transportadora, ligándose a ella un 80% de la cantidad de Se administrado (Jenkins y Hidiroglou, 1988). Para lograr una adecuada absorción y transporte de este mineral se requiere una concentración sanguínea de Se que oscile entre 0.47 y 1.4  $\mu\text{mol/l}$  (Stowe y Herdt, 1992).

Después de ser llevado al hígado, ligado a globulinas y volver a la circulación sanguínea, el selenio es distribuido para almacenarse principalmente en tejidos de composición proteica (Krishnamurti y col., 1989). Previa incorporación del mineral a los diferentes tejidos donde ejerce su acción, es reducido a selenido e incorporado a selenocisteína, aminoácido que forma parte de la estructura de la enzima GSH-Px (Gerloff, 1992).

El proceso de incorporación del Se en el aminoácido y luego en las selenoproteínas, está mediado por cuatro factores genéticos identificados como sel A, sel B, sel C y sel D, cada uno de los cuales cumple una función específica para incorporar el mineral en las proteínas (Burk, 1991).

La excreción de selenio se realiza por las vías fecal, urinaria, biliar, salival, pulmonar y láctea (Krishnamurti y col., 1989).

Por último, el contenido, forma y disponibilidad del Se en el pasto, depende de algunas características del suelo, tales como acidez, humedad y variedad de suelo entre otras condiciones, siendo los alcalinos y húmedos las mejores fuentes de Se solubles (Moore y Kohn, 1991). De la misma manera suelos ácidos y de origen volcánico normalmente son deficientes en Se. Suelos con un alto contenido de azufre o suelos altamente fertilizados con productos azufrados, contribuyen a la deficiencia de Se en los animales ya que el azufre inhibe la incorporación de Se a la planta y su absorción en los animales (Lofstedt, 1997).

Por otra parte las leguminosas contienen niveles más bajos de Se que las gramíneas, siendo además muy probable encontrar niveles más bajos de Se en épocas de gran crecimiento de los pastos (Lofstedt, 1997).



### 3.2 GLUTATION PEROXIDASA (GSH-Px)

Esta metaloenzima se encuentra en distintos tejidos de diversas especies animales. Está conformada por cuatro subunidades y contiene cuatro átomos grammo de Se por cada mol de enzima. Además, tiene un peso molecular de ochenta mil daltons. Esta enzima contiene el 75% del Se sanguíneo, estando contenida en el interior de los glóbulos rojos a los que se incorpora sólo durante la eritropoyesis (Oh y col., 1974).

Existe una alta correlación ( $r=0.94$ ) entre el contenido de Se sanguíneo y la actividad de GSH-Px en caballos, por ende, la determinación de esta enzima permite un adecuado diagnóstico del balance de Se en el animal (Maylin y col., 1980).

La GSH-Px participa activamente en los procesos de oxido reducción, catalizando las reacciones que destruyen el agua oxigenada y los peróxidos de ácidos grasos o hidroperóxidos orgánicos, que se generan en el organismo (López Alonso y col., 1997). Interviene también en la cascada de reacciones que catalizan la formación de prostaglandinas, leucotrienos, prostaciclina y tromboxanos a partir de ácido araquidónico (Miller y col., 1993). Además, está relacionada con el funcionamiento inmunológico y con la integridad funcional del tracto reproductivo en machos y hembras (Hurley y Doane, 1989).

### 3.3. EI DAÑO OXIDATIVO

La producción endógena de radicales libres ocurre durante el metabolismo aerobio habitual. Normalmente la células metabolizan el 95% del oxígeno hasta agua mediante una vía de reducción tetravalente, mientras que el 5% restante lo hace mediante una reacción univalente, formándose productos tóxicos como anión superóxido, hidroperóxido y peróxido de hidrógeno (López Alonso y col., 1997). Para combatir estas formas de oxígeno reactivas existen mecanismos antioxidativos enzimáticos y no enzimáticos. Dentro de los enzimáticos, se encuentran la superóxido dismutasa en sus formas mitocondrial y plasmática, la catalasa y la GSH-Px, acelerando todas ellas la transformación de estos radicales libres en agua. Dentro de los no enzimáticos, se encuentran algunas macromoléculas, como transferrina, albúmina o ceruloplasmina (López Alonso y col., 1997). Por otra parte, ascorbatos solubles en agua, glutatión, urato, vitamina E, ubiquinona y  $\beta$  caroteno, actúan rompiendo las cadenas de peroxidación (Maas y col., 1990).

En situaciones donde ocurre una mayor actividad metabólica, tales como crecimiento, ejercicio, procesos inflamatorios y estrés, se produce una mayor demanda tisular de oxígeno, metabolizándose parte de él por la vía univalente y generándose una gran cantidad de radicales libres nocivos. Si la carga de estos últimos supera las defensas antioxidantes, se lesionan los tejidos al fijarse a los componentes estructurales de la célula, tales como ácidos nucleicos (con producción

de tumores y enfermedades autoinmunes), carbohidratos (en patologías asociadas a diabetes, cataratas y enfermedades reumáticas), y lípidos desencadenando peroxidación lipídica responsable de la rotura de membranas celulares (López Alonso y col., 1997).

Este tipo de alteraciones anteriormente señaladas, desencadenan una serie de patologías en animales con bajas concentraciones de Se, dentro de las cuales resalta la miodegeneración nutricional y la esteatosis en caballos (Taylor y col., 1988).

### **3.4. MIODEGENERACIÓN NUTRICIONAL**

Esta enfermedad también conocida como enfermedad del músculo blanco o miodegeneración distrófica, es una enfermedad degenerativa no inflamatoria que afecta la musculatura esquelética y cardíaca de caballos con bajos niveles de Se y/o vitamina E (Lofstedt, 1997). Fue descubierta por Jones y Reed (1948), y desde entonces, ha sido diagnosticada en numerosos países, tales como Holanda, Inglaterra, Finlandia, Alemania, Polonia, Canadá, Australia, Nueva Zelanda (Ronéus y Jónsson, 1984) y Chile (Araya y Vits, 1998).

La miodegeneración afecta principalmente a potrillos desde el nacimiento hasta los once meses de edad (Lofstedt, 1997); sin embargo esporádicamente se han reportado casos en caballos adultos (Owen y col., 1977); también se ha descrito el desarrollo in útero de esta patología (Hodgson, 1998).

La deficiencia de Se es la causa determinante en la presentación de la enfermedad, sin embargo existen animales setenio deficientes que no presentan signos clínicos, lo que indica que se requieren también otros factores, tales como crecimiento excesivo, estrés, ejercicio desacostumbrado, deficiencia de vitamina E y dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados, para que se desencadene la patología (Lofstedt, 1997).

Los radicales libres ejercen su acción patógena dañando la integridad de las membranas celulares, puesto que se fijan a un carbono de la cadena alquilo ( $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-}$ ) de un ácido graso, iniciando la peroxidación lipídica. Los ácidos grasos poliinsaturados se fragmentan debido al carbono que se ha transformado en radical libre, con lo cual las estructuras fosfolipídicas de las membranas se desorganizan y destruyen (López Alonso y col., 1997).

Rammell y col. (1989), demostraron el incremento de la peroxidación lipídica en el músculo antes y después del desarrollo de lesiones visibles en la distrofia muscular enzootica de terneros, con lo cual se confirma que la destrucción de células musculares debido a la peroxidación lipídica es la principal causa de esta miopatía.

El resultado de este daño muscular es la liberación de sustancias al torrente sanguíneo tales como mioglobina, creatin quinasa (CK), aspartato amino transferasa (AST), y lactato deshidrogenasa (LDH), las cuales cobran importancia en el diagnóstico de la enfermedad (Lofstedt, 1997).

La miodegeneración puede desencadenarse en forma hiperaguda, subaguda e insidiosa, siendo la forma subaguda la más comúnmente reportada (Moore y Kohn, 1991). Según Hodgson (1998), las dos principales alteraciones producidas por esta patología en animales jóvenes, son la degeneración miocárdica aguda y la miodegeneración esquelética subaguda. Los potrillos con degeneración miocárdica habitualmente son encontrados muertos debido a muerte súbita, o bien, pueden estar muy débiles, siendo la neumonía por aspiración y la imposibilidad de mamar las principales complicaciones. Factores como el crecimiento y el estrés producido principalmente por el ejercicio, desencadenan los signos clínicos, entre los cuales se incluyen, aumento de la frecuencia cardíaca y respiratoria, y gran dificultad para levantarse, constituyendo la muerte un hecho casi seguro (Wilson y Judson, 1976).

El inicio de los signos de la miodegeneración esquelética suele ser más lento, e incluyen dificultad para mamar, debilidad muscular, rigidez, temblores musculares e incluso, decúbito (Hodgson, 1998). Esto se diagnosticó en potrillos chilenos ingresados al Hospital Veterinario UACH. el año 1999, en cuyas madres se observó el cuadro clínico caracterizado por una baja actividad de GSH-Px.\*

Tanto en animales adultos como jóvenes, se presentan signos de compromiso muscular difuso, como marcha envarada y musculatura rígida. Se observa además, depresión, dificultad para comer, mioglobinuria y deformación de cabeza y cuello (Maylin y col., 1980).

El diagnóstico definitivo se establece determinando la actividad de GSH-Px eritrocítica, siendo de gran ayuda la evidencia de los signos clínicos y la elevación en la actividad sanguínea de enzimas, tales como CK, AST y LDH. Otros hallazgos de laboratorio incluyen anomalías como hemoglobinuria, hiperkalemia, hiponatremia e hipocloremia (Hodgson, 1998).

Los hallazgos de necropsia también contribuyen al diagnóstico. A menudo, los músculos afectados presentan un aspecto seco y pálido, con presencia de bandas blancas; de aquí el nombre de enfermedad del músculo blanco (Dill y Rebhun, 1985).

Histológicamente, la fibra muscular afectada muestra fragmentación y mineralización con necrosis coagulativa, siendo común encontrar macrófagos y células mononucleares. También ocurren lesiones renales, como nefritis supurativa y glomerulonefritis necrotizante con focos de mineralización. Ocasionalmente, se

---

\* Comunicación personal (Dr. Oscar Araya, Hospital Veterinario, Universidad Austral de Chile)

presenta necrosis tubular producto del efecto tóxico de la mioglobina sobre las células epiteliales renales (Dill y Rebhun, 1985).

Por constituir este un problema asociado principalmente al periodo neonatal, se recomienda la elaboración de un plan de suplementación con selenio en yeguas gestantes, sobre todo en el último tercio de la preñez ( Moore y Kohn, 1991).

### **3.5. ESTEATOSIS**

Esta enfermedad conocida también como esteatitis, necrosis grasa o enfermedad de la grasa amarilla, es un afección de los equinos, producida por una deficiencia de selenio y/o vitamina E en la dieta (Moore y Kohn, 1991).

Es una condición poco usual, ya que las enfermedades de la grasa son infrecuentes en los equinos (Taylor y col., 1988). Afecta principalmente a potrillos menores de dos meses; sin embargo, también se describen casos en animales mayores (Taylor y col., 1988; Foreman y col., 1986 ; Ceballos y col., 1996)

Según Foreman y col. (1986), el cuadro se presenta en potrillos como dos síndromes básicos: El primero como una caquexia generalizada solamente con esteatosis, y el segundo, como una miopatía con compromiso adiposo secundario.

La enfermedad se caracteriza por una degeneración del tejido adiposo, el cual es reemplazado por tejido conectivo con depósitos de calcio (Wintzer, 1986). La oxidación del tejido graso conlleva a la producción de peróxidos, los cuales producen necrosis acompañada de la subsecuente inflamación (White, 1993).

Los animales afectados presentan depresión, anorexia, fiebre e hiperestesia. El dolor abdominal puede ser intenso. A medida que progresa el cuadro, la grasa subcutánea e intraabdominal se torna dolorosa, firme y nodular (White, 1993) Estos nódulos subcutáneos de alrededor de cuatro centímetros de diámetro, es factible encontrarlos en cualquier parte del cuerpo; el cuello sufre un gran engrosamiento, acompañado de un marcado edema ventral que va desde el pecho hasta el prepucio. La frecuencia cardíaca aumenta y la respiración se torna dificultosa (Taylor y col., 1988; Araya y Vits, 1998).

La necrosis de las células adiposas está acompañada por una marcada inflamación y degeneración del tejido vascular. Histológicamente el tejido adiposo afectado se caracteriza por depósitos intersticiales de pigmentos ceroides originados de la peroxidación lipídica, condición que da el aspecto amarillo anaranjado a la grasa. Las células inflamatorias infiltradas consisten en neutrófilos y macrófagos que ingieren los pigmentos. Linfocitos, células plasmáticas y células gigantes, acompañado de fibrosis también están presentes (White, 1993).

Al realizar la necropsia, es posible encontrar extensas áreas de grasa subcutánea endurecida, de color amarillo con áreas necróticas. El tejido graso se encuentra fibrosado, acompañado de lesiones con material color rojo-café de consistencia semilíquida en su interior. Edema subcutáneo está presente en toda la zona ventral del cuerpo y rodeando estos focos necróticos (Taylor y col., 1988). La llamada necrosis de Zenker de la lengua es otro hallazgo bastante común de encontrar en esta patología (Ceballos y col., 1996).

Al igual que en la miodegeneración el diagnóstico definitivo se establece determinando la actividad de GSH-Px eritrocítica (Foreman y col., 1986).

### **3.6. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN**

La prevención y tratamiento de ambos cuadros, se realiza mediante la suplementación con Se, siendo muy importante controlar a las yeguas gestantes, sobre todo aquellas que pastan en zonas deficientes de selenio y que están cultivadas con forrajes con un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (Ceballos y col., 1996). Las concentraciones de selenio en el neonato dependen de los niveles maternos durante la gestación. De la misma manera el traspaso de selenio en el calostro y la leche no son suficientes para prevenir la miodegeneración, es por ello que al nacimiento debe haber una concentración suficiente de Se, dado por una adecuada suplementación a la madre durante la gestación (Lofstedt, 1997).

Existen principalmente tres estrategias de suplementación con Se:

- A las madres durante el último tercio de gestación vía oral, realizándose de manera más eficaz la transferencia de selenio hacia el feto utilizando selenoaminoácidos que compuestos inorgánicos (Dill y Rebhun, 1985).
- A las madres durante el último tercio de preñez vía parenteral, describiéndose distintos protocolos para la administración de selenita de sodio (Lofstedt, 1997).
- A los portillos recién nacidos vía parenteral usando también selenito de sodio (Lofstedt, 1997).

Existen en el mercado una diversidad de alternativas para la suplementación de Se, entre las cuales se cuentan: bloques de sal y polvos que incluyen Se orgánico o inorgánico, fertilización de praderas con Se (Hintz, 1999), inyecciones de selenita de sodio (Dill y Rebhun, 1985) y selenato de bario (Witchel y col., 1998). La dosis recomendada de Se para caballos es de 2.4pg/kg de peso vivo, considerándose inadecuado en granos y forrajes un contenido de Se inferior a 0.1 mg/kg (Boold y Radostits, 1992).

La mayoría de los productos comerciales de suplementación oral contienen selenito de sodio, siendo ésta una forma inorgánica del mineral y requiriendo un largo y constante tiempo de suplementación para no siempre obtener buenos resultados (Witchel y col., 1998). De la misma manera muchos productos inyectables contienen Se en forma de selenito de sodio (Hintz, 1999), requiriendo de varias aplicaciones para proveer una adecuada protección contra la deficiencia de Se en caballos y presentado algunas efectos colaterales no deseados (Moore y Khon, 1991).

### **3.7. Hipótesis**

"La aplicación de selenato de bario vía intramuscular en dosis única en caballos selenio deficientes, logra incrementar y mantener la actividad de GSH-Px eritrocítica dentro del rango de referencia al menos por noventa días posteriores a la suplementación sin producir una reacción tisular clínicamente detectable tras su aplicación".

### **3.8. Objetivos**

Evaluar el efecto de la administración parenteral de selenato de bario (Deposel), aplicado en dosis única en caballos selenio deficientes, mediante determinación de la actividad de GSH-Px eritrocítica a los treinta, sesenta y noventa días posteriores a la suplementación.

Determinar clínicamente el grado de reacción tisular local provocado por la aplicación intramuscular del medicamento.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1. Materia

De un total de treinta y dos caballos, se seleccionó de manera dirigida una muestra de catorce animales criollos, chilenos finos y mestizos, todos los cuales resultaron selenio deficientes, condición manifestada por una baja actividad de GSH-Px al examen de sangre.

Los catorce equinos, de ambos sexos, de entre dos y veinte años de edad, pertenecían a dos predios vecinos ubicados en la comuna de Los Lagos, provincia de Valdivia, 35 Km. en dirección Sur-Este de la ciudad de Los Lagos. Ambos predios con antecedentes de casos de Esteatosis y Miodegeneración\*.

Se estableció dos grupos de animales en forma aleatoria: Grupo A (Tratados), conformado por ocho caballos y Grupo B (Control), formado por los seis restantes caballos seleccionados, todos selenio deficientes. (Tabla 1).

Tabla 1. Valores individuales de GSH-Px eritrocítica al inicio de la experiencia (Día 0) en grupo tratado con selenato de bario (A) y grupo control (B)

<b>Grupo tratado (A)</b>		<b>Grupo control (B)</b>	
<b>N<sup>a</sup> Animal</b>	<b>Actividad de GSH-Px (U/gHg)</b>	<b>N<sup>a</sup> Animal</b>	<b>Actividad de GSH-Px (U/gHb)</b>
1	14	1	60
2	34	2	61
3	41	3	64
4	41	4	72
5	43	5	84
6	45	6	92
7	48	-	-
8	60	-	-
<b>Media Aritmética</b>	<b>40,75</b>		<b>72,3</b>

\* Comunicación personal ( Dr. Oscar Araya, Hospital Veterinario UACH)

El medicamento a utilizar está formulado en base a selenato de bario a razón de 50 mg/ml en suspensión de liberación lenta ( Deposel ®).(Figura 1)

Para aplicar el producto se utilizó un dosificador diseñado para tal fin y agujas estériles calibre 14G/1% pulgada (Figura 1).

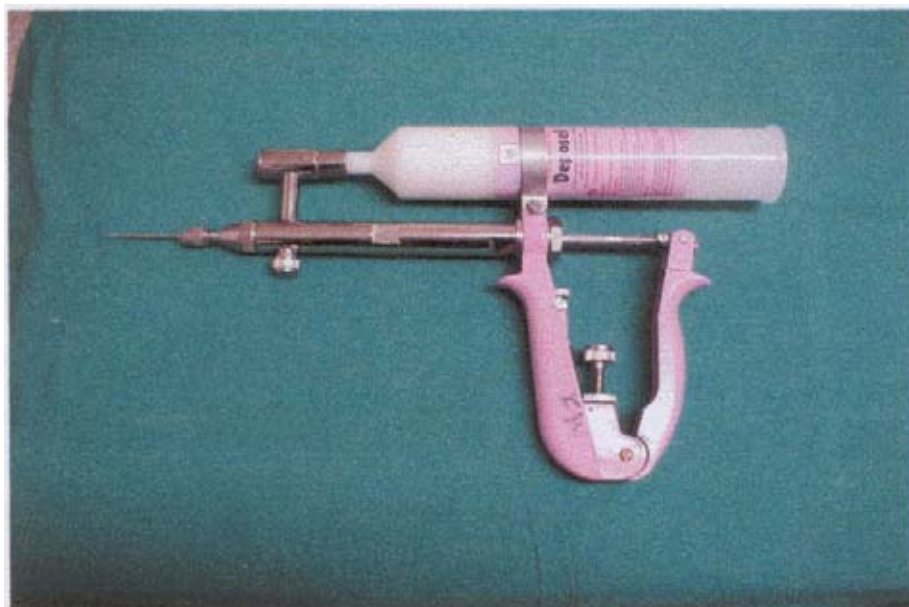


Figura 1. Dosificador y envase Deposel

#### 4.2. Métodos

Se efectuó examen clínico del aparato músculo esquelético a los catorce caballos, tendiente a determinar signos de deficiencia de Se, con la siguientes secuencia: 1) Antes de la aplicación del producto. 2) Veinticuatro horas después de la aplicación. 3) Posteriormente, al cuarto, al séptimo y al décimo día post tratamiento. 4) Finalmente, el mencionado examen se repitió a los treinta, sesenta y noventa días post aplicación.

Se determinó el peso individual de cada caballo mediante pesaje en romana mecánica, para posteriormente, al Grupo A, aplicarle Deposel, en dosis de 1 ml/100 kg. de peso vivo, vía intramuscular profunda en el músculo semitendinoso izquierdo a cuatro caballos (Figura 2) y en el músculo glúteo medio izquierdo a los cuatro restantes (Figura 3). Por otra parte, a modo de placebo, al Grupo B, se inyectó agua bidestilada (1 ml/100 kg.) de la misma forma que a los animales del Grupo A.





Figura 2. Aplicación de Deposeal en músculo semitendinoso



Figura 3. Aplicación Deposeal en músculo glúteo medio

Se obtuvo muestras de sangre heparinizada de cada caballo mediante venopunción yugular al inicio de la experiencia (Día 0), y luego, a los treinta, sesenta y noventa días post tratamiento. Las muestras fueron llevadas al laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Austral de Chile dentro de las primeras cuatro horas posteriores a su recolección, en un envase de plumavit con hielo. Se diluyeron y congelaron a  $-25^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

La actividad de GSH-Px eritrocítica se determinó mediante una técnica cinética NADPH-dependiente (Pagua y Valentine, 1967) usando un reactivo comercial\*. Los análisis de hemoglobina se realizaron en un fotómetro semiautomático Hitachi 4020 con una longitud de onda de 546 nanómetros.

La reacción tisular local fue evaluada de acuerdo a la siguiente pauta:

<b>Grado</b>	<b>Tamaño de la reacción</b>
0	Reacción no palpable
1	Detectable sólo a la palpación
2	Detectable a la inspección minuciosa sin palpación
3	Reacción obvia a una distancia de dos metros
4	Absedación o celulitis

<b>Grado</b>	<b>Dolor a la palpación</b>
0	No hay dolor
1	Leve molestia
2	Dolor moderado
3	Severo dolor

<b>Grado</b>	<b>Claudicación</b>
0	No hay
1	Leve
2	Moderada
3	Grave
4	Muy grave

<b>Grado</b>	<b>Temperatura local</b>
0	No hay aumento
1	Aumento leve
2	Aumento marcado

\* Ransel ®, Laboratorio Randox.

Al momento de la aplicación del fármaco, todos los caballos se encontraban desde al menos un año, bajo régimen alimenticio de pastoreo directo, y permanecieron en las mismas condiciones durante todo el estudio sin recibir ningún tipo de alimentación extra.

El manejo sanitario de los caballos consistía en desparasitaciones cada cuatro meses. Durante el ensayo no se realizó este procedimiento.

#### **4.2.1. Método estadístico**

Los datos se ordenaron en base a tablas y gráficos. Se utilizaron métodos de estadística descriptiva no paramétricos calculando media aritmética y desviación estándar. Para la determinación de significancia estadística entre medias dentro de cada grupo se realizó análisis de varianza de Kruskal Wallis. Las diferencias entre muestreos se determinaron mediante el post-test de Dunn. Para la determinación de significancia entre grupos se utilizó el test de Mann Whitney.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. EXAMEN CLÍNICO

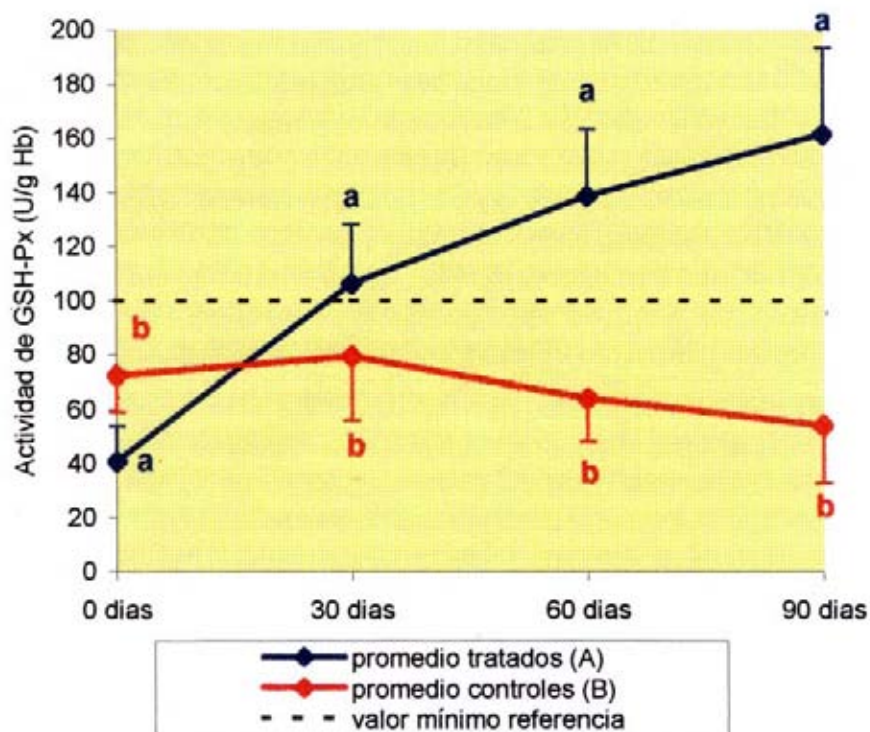
Al inicio de la experiencia, seis de los ocho caballos del Grupo A, presentaban signos clínicos de deficiencia de Se, caracterizados principalmente por marcha envarada y aumento de volumen a nivel del ligamento nuchal. En el control del décimo día se observó una notable mejoría, desapareciendo en todos ellos la alteración de la marcha al día treinta post tratamiento.

### 5.2. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE GSH-Px

A los treinta días post tratamiento, la actividad de GSH-Px eritrocítica del grupo tratado se incrementó, alcanzando en promedio el valor mínimo del rango de referencia, sin que se observaran diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) (Tabla 2). No obstante, en este mismo muestreo, existieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) respecto al grupo control (Gráfico 1). A los sesenta y noventa días post tratamiento, se observaron incrementos significativos ( $p < 0.05$ ) en la actividad enzimática del grupo tratado (Tabla 2), existiendo también en ambos muestreos diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) respecto del grupo control (Gráfico 1).

En el grupo control no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en la actividad de GSH-Px eritrocítica a los treinta, sesenta y noventa días respecto al día de la aplicación, como tampoco se observaron aumentos o disminuciones estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre uno y otro muestreo (Tabla 2).

Al comienzo de la experiencia, se observó que, a pesar de encontrarse ambos grupos bajo el mínimo del rango de referencia, existían diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre ellos, siendo mayor el valor de GSH-Px en el grupo control (Gráfico 1). Sin embargo, al día treinta, esta situación se invirtió, pasando a ser mayor el promedio de GSH-Px del grupo tratado, existiendo diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) respecto al grupo control (Gráfico 1).



Letras diferentes en sentido **vertical**, indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre grupos

Gráfico 1. Actividad promedio de GSH-Px eritrocítica y diferencias entre grupo tratado y grupo control al inicio de la experiencia, a los treinta, sesenta, noventa días post tratamiento.

Tabla 2. Valores promedio  $\pm$  de y significancia estadística de las diferencias en la actividad de GSH-Px dentro de cada grupo para cada muestreo.

	0 días	30 días	60 días	90 días	significancia
<b>Tratados (A)</b>	40,7 $\pm$ 13,1 a	106,1 $\pm$ 24,9 ab	138,5 $\pm$ 24,9 b	161,8 $\pm$ 31,9 b	P<0.001
<b>Control (B)</b>	72,3 $\pm$ 13,2 a	79,3 $\pm$ 23,4 a	63,8 $\pm$ 15,8 a	54,0 $\pm$ 21,2 a	n.s*

Letras distintas en sentido horizontal, indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre muestreos

\*Sin diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ )

Al analizar las variaciones individuales experimentadas en el grupo tratado (Tabla 3), se aprecia que el 50% de los caballos alcanza el valor mínimo de referencia a los 30 días y el 100% lo hace a los 60 días. De la misma manera, el 100% de los animales de este grupo experimenta un aumento en la actividad de GSH-Px entre muestreos.

Tabla 3. Variaciones individuales en la actividad de GSH-PX eritrocítica en los caballos tratados con selenato de bario (grupo A)

Número Animal	0 días (U/g Hb)	30 días (U/g Hb)	60 días (U/g Hb)	90 días (U/g Hb)
1	14	91	163	214
2	34	93	103	116
3	41	90	132	153
4	41	105	154	156
5	43	89	114	129
6	45	154	170	190
7	48	111	119	157
8	60	116	153	179
<b>Media Aritmética</b>	<b>40,7</b>	<b>106,1</b>	<b>138,5</b>	<b>161,8</b>
d.e. *	±13,1	±21,9	±24,9	±31,9
v. *		100 -260		

En el muestreo a los noventa días, la totalidad de los animales no tratados presentó un valor de GSH-Px inferior al mínimo de referencia, incluso la mayoría disminuyó la actividad de GSH-Px en relación al inicio de la experiencia. (Tabla 4)

---

\* de: Desviación estándar

\* v.r: Valores de referencia

Tabla 4. Variaciones individuales en la actividad de GSH-Px eritrocítica en el grupo control (B)

	Número	O días	30 días	60 días	90 días
Animal		(U/g Hb)	(U/g Hb)	(U/g Hb)	(U/g Hb)
1		60	50	45	36
2		61	58	57	45
3		64	78	55	33
4		72	90	88	90
5		84	115	61	64
6		92	85	77	56
<b>Media Aritmética</b>		<b>72,3</b>	<b>79,3</b>	<b>63,8</b>	<b>54,0</b>
d.e		±13,2	±23,4	±15,8	±21,2

### 5.3. EVALUACIÓN DE LA REACCION LOCAL

Tabla 5. Criterio utilizado para establecer la reacción a la aplicación de selenato de bario en ambos grupos.

Grado	Tamaño de la reacción	Tratados	Control
0	Reacción no palpable	8	6
1	Detectable sólo a la palpación	0	0
2	Detectable a la inspección minuciosa sin palpación	0	0
3	Reacción obvia a una distancia de dos metros	0	0
4	Absedación o celulitis	0	0
Grado	Dolor a la palpación		
0	No hay dolor	0	6
1	Leve molestia	8	0
2	Dolor moderado	0	0
3	Dolor severo	0	0
Grado	Claudicación		
0	No hay dolor	8	6
1	Leve	0	0
2	Moderada	0	0
3	Grave	0	0
4	Muy grave	0	0
Grado	Temperatura local		
0	No hay aumento	0	6
1	Aumento leve	8	0
2	Aumento marcado	0	0

En todos los animales del grupo tratado se presentó una leve molestia a la palpación y un leve aumento de temperatura local, desapareciendo ambas

reacciones al cuarto día post tratamiento. No hubo diferencia entre ambos sitios de aplicación.

No se observó un aumento de tamaño palpable en el área inyectada, como tampoco claudicación en ninguno de ambos grupos.(Tabla 5)



## 6. DISCUSIÓN

La deficiencia de Se predispone a la presentación de signos de miodegeneración y/o esteatosis, condición manifestada por seis de los ocho caballos del grupo tratado. Concordantemente estos seis animales presentaban la actividad más baja de GSH-Px.

El selenato de bario aplicado en caballos por vía i.m. en dosis única de 0.5 mg/kg de peso vivo incrementó la actividad de GSH-Px eritrocítica en el grupo tratado respecto al grupo control, concordando este resultado con lo expresado por Witchel y col. (1998), quienes determinaron un incremento en las concentraciones sanguíneas y plasmáticas de Se durante 365 días, inyectando Deposel en caballos, por vía i.m. en dosis de 0.5, 0.75, 1.0 y 1.5 mg/kg de peso vivo. Según el mismo autor, la concentración de Se sanguíneo alcanzó el valor mínimo de referencia utilizando dosis de 0.5 mg/kg a los 30 días post tratamiento, situación igualmente observada en el grupo tratado del presente trabajo midiendo actividad de GSH-Px, similitud que se explicaría principalmente porque la concentración de selenio sanguíneo está influenciada por el contenido de GSH-Px de los eritrocitos (Stowe y Herdt, 1992).

Treinta días posterior a la suplementación existiría una renovación bastante considerable de eritrocitos que han incorporado selenio durante la eritropoyesis, fenómeno que explicaría el incremento en la actividad de GSH-Px eritrocítica en este mismo muestreo. Además con el transcurrir de los días aumenta aún más el número de eritrocitos que han incorporado selenio (Moore y Kohn, 1991), lo que explicaría las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) observadas a los 60-días post tratamiento.

Según Witchel y col. (1998), la concentración máxima de selenio en las células sanguíneas utilizando la dosis de 0.05 mg/kg de selenato de bario se alcanzó alrededor de los 170 días posterior a la suplementación, situación que se explicaría porque al ser este un producto de liberación lenta proporcionó selenio hasta que se produjera el recambio de la totalidad de la población de glóbulos rojos (Maas y col., 1990). En este mismo sentido, en la presente experiencia, se observó un aumento en la actividad de GSH-Px de cada muestreo en el grupo tratado, alcanzándose los valores más altos en el último de ellos (90 días).

Para evaluar en el corto plazo un programa de suplementación de Se, es útil estimar la concentración de éste plasma (Thompson y col., 1980), puesto que variaciones en su concentración se detectan antes de 48 horas, teniendo la desventaja de incrementar artificialmente el nivel de selenio cuando hay hemólisis (Moore y Kohn, 1991). En este mismo sentido, la concentración de Se sanguíneo es un buen indicador del balance actual de selenio, situación que pudiera llevar a

confusión cuando se recolecta una muestra cercana a una suplementación, mientras que GSH-Px es un excelente indicador del balance de Se existente, semanas, o bien meses, precedentes a la recolección de la muestra (Lofstedt, 1997).

Según Witchel y col. (1998) el selenato de bario en dosis de 0.5 mg. /Kg incrementa en un 75 % los valores de Se en suero a los diez días post tratamiento, mientras que GSH-Px eritrocítica demora un tiempo mayor en incrementar su actividad, debido a que debe esperar la eritropoyesis para incorporar selenio a los nuevos eritrocitos. Sin embargo GSH-PX de otros tejidos como hígado, riñón y músculos responden rápidamente a la suplementación con Se, situación que ha sido demostrada en plaquetas cuya actividad de GSH-PX se incrementó a pocas horas de la suplementación (Lofstedt, 1997). Este fenómeno explicaría la notoria mejoría de los signos clínicos de los animales enfermos al décimo día post aplicación del fármaco. Según Witchel y col. (1998), este medicamento aplicado en dosis de 1,5 mg/kg permite alcanzar, en promedio, una concentración adecuada de Se en sangre a los diez días post tratamiento.

El grupo control no experimentó mayores variaciones en la actividad de GSH-Px, siendo incluso al día 90 el valor promedio de GSH-Px más bajo que al día 0; condición que se explicaría por la época del año en que se realizó el estudio (otoño-invierno), existiendo en ésta una menor disponibilidad de pradera conforme avanza el invierno. Según Rioseco (2001), la actividad de GSH-PX eritrocítica en caballos criollos chilenos en la época de otoño es inferior a la observada en primavera.

Según Rioseco (2001), la suplementación con selenio en forma de selenito de sodio en dosis única y repetida a los quince días vía parenteral incrementa la actividad de GSH-Px eritrocítica a partir del día treinta post aplicación, alcanzando su máxima actividad el día noventa, sin embargo con este tratamiento no se logra un adecuado balance de selenio en el animal. Basado en estos antecedentes, según lo descrito por Witchel y col. (1998) y conforme a los resultados obtenidos en la presente experiencia, la suplementación con selenio en forma de selenato de bario presentaría ciertas ventajas sobre el selenito de sodio, puesto que todos los caballos tratados con Deposel se incrementó actividad de GSH-Px, se alcanzó el rango de referencia y se logró un adecuado balance del mineral en el organismo.

Por otra parte las inyecciones de selenito de sodio deben repartirse en dos o más puntos de aplicación, observándose en ocasiones reacciones inflamatorias locales y/o sistémicas, tal como shock anafiláctico (Moore y Kohn, 1991). En la presente experiencia no se observaron este tipo de reacciones utilizando selenato de bario.

En cuanto al punto de inyección, no se encontraron diferencias entre ambos lugares respecto a la reacción tisular. Sin embargo, es más fácil y más seguro para el operador la aplicación en el músculo glúteo medio; no obstante, en caso de una infección en que se requiera drenaje, es más fácil realizarla en la zona del músculo

semitendinoso (Moore y Khon, 1991).

A diferencia de lo observado por Witchel y col.(1998), quienes aplicaron el producto en los músculos pectorales, en esta experiencia no se observaron reacciones inflamatorias, como tampoco edema ni infecciones. Dicho autor realizó el traspaso del fármaco desde el dispositivo original a jeringas individuales, a lo que se puede atribuir cierto grado de contaminación ambiental, situación evitable usando el dosificador diseñado para este producto. Sin embargo, el mismo autor señala que a la aplicación de 0.5 mg./ kg se detectó cierto grado de inflamación y fibrosis en todos los caballos, y a medida que se incrementó la dosis a 0.75, 1,0 y 1.5 mg/kg, las reacciones inflamatorias también aumentaron. En la presente experiencia sólo se observó una leve molestia a la palpación y un aumento de temperatura local, desapareciendo éstas al cuarto día. Este hecho, podría deberse al uso del dosificador adecuado y al calibre de la aguja (14 G /1.5"), inusual en caballos, lo que evitaría una presión extra sobre el tejido, y por ende una menor destrucción de fibras musculares.

En la utilización de Deposel (selenato de bario) en bovinos y ovinos, animales para los cuales el fabricante recomienda su uso, se indica la aplicación por vía subcutánea, no apreciándose alteraciones tisulares posteriores al tratamiento.

## **6.1. Conclusiones**

- El selenato de bario aplicado a caballos selenio deficientes, vía intramuscular en dosis única de 0.5 mg/kg, incrementa y mantiene la actividad de GSH-Px eritrocítica dentro del rango de referencia, al menos por noventa días posteriores a la suplementación.
- La aplicación de Deposel por vía intramuscular en caballos no produce reacciones tisulares adversas, clínicamente detectables, en el punto de inyección

## 7. BIBLIOGRAFIA

**ARAYA, O., L. VITS.** 1998. Esteatosis en caballos en el sur de Chile. Tercer coloquio internacional sobre équidos de trabajo, Div. Educ. Cont., México: 329-332.

**BLOOD, R., F. RADOSTITS.** 1992. Medicina Veterinaria., 7<sup>a</sup>ed., Ed. Interamericana, Madrid. 2: 1277-1292.

**BURK, R.F.** 1991. Molecular biology of selenium with implications for its metabolism, FASEB J. 5: 2274-2279.

**CEBALLOS, A.; O. ARAYA, E. PAREDES.** 1996. Aspectos clínico-patológicos de la esteatosis del equino: descripción de un caso, Arch. Med. Vet. 28: 125-130.

**CEBALLOS, M. A., F.G. WITWER.** 1996. Metabolismo del selenio en rumiantes Arch. Med. Vet. 28 (2): 5-18.

**DILL, S., REBHUN, W.** 1985. White Muscle Disease in Foals, Compend. Cont. Educ. Prac. Vet. 7: 627-635

**FOREMAN, J. H., K. POTTER, W. BAYLY, D. LIGGITT.** 1986. Generalized steatitis associated with selenium deficiency and normal vitamin E status in a foal, JAVMA 189(1): 83-87.

**GERLOFF, B.** 1992. Effect of selenium supplementation on dairy cattle, J. Anim. Sci. 70: 3934-3940.

**HINTZ, H.F.** 1999. Sources of selenium for grazing horses, Equine Pract. 21(5): 6.

**HODGSON. A.** 1998. Enfermedades musculares, En: Colahan. P, J. Moore, A. Merritt, I. Mayhew. Medicina y Cirugía equina, 4<sup>a</sup> Ed , Ed. Intermédica, Buenos Aires, 2: 1276-1278.

**HURLEY, W.L., R.M. DOANE.** 1989. Resent development in the roles of vitamins and minerals in reproductions, J. Dairy Sci. 72: 784-804.

**JENKINS, K.J., M. HIDIROGLOU.** 1988. Binding of selenium-75 to blood and liver cytosolic proteins in the preruminant calf, J. Dairy Sci. 71: 442-451.

**JONES, T. C., W. O. REED.** 1948. White muscle disease, JAVMA 113: 170.

- KRISHNAMURTI, C.R., C.F RAMBERG, M.A SHARIFF.** 1989. Kinetic modeling of selenium metabolism in nonpregnant ewes, *J. Nutr.* 119:1146-1155.
- LOFSTEDT, J.** 1997. White muscle disease of foals, *Eq. pract.* 13(1): 169-183.
- LOPEZ ALONSO, M., M. MIRANDA, J. HERNANDEZ, C. CASTILLO, J.L. BENEDITO.** 1997. Glutathione peroxidase (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes, *Arch. Med. Vet.* 29 (2): 171-180.
- MAAS, J., S. PARISH, D, HODGSON.** 1990. Nutritional myodegeneration, *Large Anim. Int'l Med.*, 1352-1357.
- MAYLIN, G. A., D. RUBIN, D. LEIN.** 1980. Selenium and vitamin E In horses, *Coraell Vet.*, 70: 272-289.
- McCONNELL, K.P., G.J. CHO.** 1965. Transmucosal movement of selenium, *Am. J. Physiol.* 208: 1191-1195.
- MILLER, J.K., E. BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, F.C. MADSEN.** 1993. Oxidative stress, Antioxidants, and animal function, *J. Dairy.Sci.* 76: 2812-2823.
- MOORE, R.M., C.W. KOHN.** 1991. Nutritional Muscular Dystrophy in Foals., *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 13: 343-349.
- OH, S., H.E. GANTHER, W.G. HOEKSTRA.** 1974. Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes, *Biochemistry* 13: 1825-1829.
- OWEN, R., J. MOORE, J. HOPKINS, D. ARTHUR.** 1977. Dystrophic myodegeneration in adult horses, *JAVMA* 171(4): 343-349.
- PAGLIA, D. E; VALENTINE, W. N.** 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, *J. Lab. Clin. Med.* 70: 158-169.
- RAMMELL, C.G., K.G. THOMPSON, G.R. BENTLEY, M.W. GIBBSONS.** 1989. Selenium, vitamin E and polyunsaturated fatty acid concentrations in goat kids with and without nutritional myodegeneration, *N.Z. Vet. J.* 37:4-10.
- RIOSECO, M.** 2001. Actividad de GSH-Px en caballos criollo chilenos y su respuesta a una suplementación con selenio. Tesis de Magíster, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- RONÉUS, B., L. JÓNSSON.** 1984. Muscular dystrophy in foals, *Nord. Vet. Med. A.* 31:441-453.

**ROTRUCK, J. T., A. L. POPE, H. E. GANTHER, A. B. SWANSON, D. G. HAFEMAN, W. G. HOEKSTRA.** 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase, *Science* 179: 588-590.

**SCHWARTZ, K., C. M. FOLTZ.** 1957. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration, *J. Amer. Chem. Soc.* 79: 3292-3293.

**STOWE, H.D., T.H. HERDT.** 1992. Clinical assesment of selenium status of livestock, *J.Anim.Sci.* 70: 3928-3933.

**SYMONDS, H.W., D.L. MATHER, MJ. VAGG.** 1981. The excretion of selenium in bile and uriñe of sters: the influence of form and amount of Se salt, *Br. J. Nutr.* 46: 487-493.

**TAYLOR, F. G., T. S. MAIR, P. J. BROWN.** 1988. Generalised steatitis in a adult pony mare, *Vet. Rec.* 122: 349-351.

**THOMPSON, K.G., A.J. FRASER, B.M. HARROP, J.A. KIRK.** 1980. Glutathione peroxidase activity in bovine serum and erythrocytes in relation to selenium concentration of blood, serum and liver, *Res.Vet. Sci.* 28: 321-324.

**ULLREY, D.E.** 1987. Biochemical and physiological indicators of selenium status in animals, *J.Anim. Sci.* 65: 1712-1726.

**ULLREY, D.E.** 1992. Basis for regulation of selenium supplements in animal diets, *J. Anim. Sci.* 70: 3922-3927.

**WHITE, S.L.** 1993. Fat necrosis in horses, *J. Eq. Vet. Sci.* 13 (11): 615-616

**WILSON, P. S., G. P. JUDSON.** 1976. Glutathione peroxidase activity in bovine and ovine erythrocytes in relation to blood selenium concentration, *Br. Vet. J.* 132: 428.

**WINTZER, HJ.** 1986. *Equine disease*, Verlag Paul Parey, Berlin, 1:315-316.

**WITCHEL, J.J., N. D. GRACE, E. C. FIRTH.** 1998. The effect of inyectable barium selenate on the selenium status of horses on pasture. *N. Zeland Vet. J.* 46: 186-190.

**WRIGHT, P.L., M.C. BELL.** 1966. Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine, *Am. J. Physiol.* 211:6-10.

## 8 ANEXOS

Tabla 6. Valores individuales en grupo tratado con selenato de bario

Nombre	Edad (años)	Sexo	Peso (Kgs)	Actividad de GSH-Px			
				0 días (U/g Hb)	30 días (U/g Hb)	60 días (U/g Hb)	90 días (U/g Hb)
bamboleo	8	M	400	14	91	163	214
Pata Inca	20	M	490	34	93	103	116
jalea	8	H	390	41	90	132	153
reparona	15	H	510	41	105	154	156
estruendo	2	M	310	43	89	114	129
bamba	7	H	400	45	154	170	190
zafari	20	M	520	48	111	119	157
estallido	3	M	380	60	116	153	179
<b>Media Aritmética</b>	<b>10,3</b>	<b>/</b>	<b>425,0</b>	<b>40,8</b>	<b>106,1</b>	<b>138,5</b>	<b>161,8</b>
d.e	±7,1	/	±73,9	±13,1	±21,9	±24,9	±31,9

d.e: desviación estándar

Tabla 7. Valores individuales en grupo control

Nombre	Edad (años)	Sexo	Peso (Kgs)	Actividad de GSH-Px			
				O días (U/g Hb)	30 días (U/g Hb)	60 días (U/g Hb)	90 días (U/g Hb)
Barquinazo	4	M	350	60	50	45	36
Florinata	18	H	515	61	58	57	45
Perla	15	H	500	64	78	55	33
Escrutador	6	M	380	72	90	88	90
Coral	20	M	550	84	115	61	64
Vaquero	14	M	490	92	85	77	56
<b>Media Aritmética</b>	<b>12,8</b>	<b>/</b>	<b>464,1</b>	<b>72,3</b>	<b>79,3</b>	<b>63,8</b>	<b>54,0</b>
d.e	±6,5	/	±80,0	±13,2	±23,4	±15,8	±21,2

d.e: desviación estándar

## AGRADECIMIENTOS

Deseo hacer una mención especial a todos quienes me apoyaron de una u otra manera en la realización esta tesis, me refiero a :

Mi profesor patrocinante, por el tiempo dedicado y por sus sabios consejos que han sabido motivarme durante todo este tiempo.

Don Carlos Mondaca y Don Roberto Kunstmann quienes gentilmente facilitaron los caballos utilizados en este estudio.

Alejandra, quien con su inmensa paciencia y amor, me acompañó y alentó durante muchísimas horas.

Mis amigos Miguel, Charlie, Max y Rodrigo por su incondicional amistad y apoyo.

Mis vecinos y amigos Rafa, Tobi y Osear, muchas gracias

A Hedio Bustamante por su constante apoyo y preocupación.

Tío Ricardo y tía Beatriz, por todo el cariño y las facilidades que me han brindado durante mis estadías en Valdivia.

Finalmente a mis padres y hermanas, gracias por todos estos años de amor y sabiduría.