

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

**ACTIVIDAD ERITROCÍTICA DE GLUTATIÓN PEROXIDASA EN YEGUAS
CRUZADAS CON POTROS Y CON BURROS Y EN SUS CRÍAS**

Memoria de Título presentada como parte
de los requisitos para optar al TÍTULO
DE MÉDICO VETERINARIO.

INA BEATE WEBER KIRCHNER

VALDIVIA-CHILE

2006

ÍNDICE

Capítulo	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
5. RESULTADOS.....	10
6. DISCUSIÓN.....	15
7. BIBLIOGRAFÍA.....	17
8. ANEXOS.....	19
9. AGRADECIMIENTOS.....	20

PROFESOR PATROCINANTE: Dr. Oscar Araya

Firma

PROFESORES CALIFICADORES: Dr. Ricardo Enríquez

Firma

Dr. Jorge Correa

Firma

FECHA DE APROBACIÓN: 20 Enero 2006

1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la actividad eritrocítica de la enzima Glutación-peroxidasa pre- y postparto en yeguas cruzadas con potros y con burros y en sus respectivas crías.

Se emplearon 18 yeguas pertenecientes al Haras Militar Pupunahue, Valdivia (Chile), divididas en tres grupos de 6 animales cada uno de acuerdo a tipo y uso: I yeguas pesadas, II livianas y III multeras. Las yeguas pesadas incluían 2 yeguas Percherón, 2 Belga Ardenés y 2 Bretón de Montaña. En el grupo de yeguas livianas se incluyeron 3 yeguas Hackney y 3 yeguas mestizas. El grupo de las multeras estuvo conformado por 6 yeguas mestizas, las que fueron cruzadas con burros. La totalidad de los animales se mantuvo bajo las mismas condiciones de alimentación.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante venopunción yugular. El primer muestreo de las madres se realizó como mínimo un mes antes del parto, luego dentro de las primeras 48 horas de ocurrido éste y finalmente un mes postparto. A su vez los potrillos se muestrearon como máximo a los 2 días de nacidos y luego a los 30 días postparto.

Los resultados indicaron que la actividad de GSH-Px de las yeguas se encontraba bajo los valores mínimos de referencia en el muestreo preparto, a excepción del grupo II (livianas), las que tenían valores levemente superiores al mínimo de referencia. Estos valores disminuyeron entre el preparto y el parto, manteniéndose valores similares entre éste y los 30 días postparto. Entre los tres grupos de yeguas no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los tres muestreos realizados.

En las crías se observó que éstas presentaron una actividad de GSH-Px mayor que la de sus madres al momento del parto; sin embargo esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($P > 0,05$). Durante el primer mes de vida de las crías se mantuvo el valor de la actividad de GSH-Px.

Al realizar la comparación entre potrillos y mulas dentro de las primeras 48 horas de vida, se evidenció una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$), presentando las mulas en promedio una actividad de GSH-Px mayor que la de los potrillos. Sin embargo, no se alcanzó el valor mínimo de referencia de 130 U/g Hb. Al mes de vida, la diferencia entre ambos grupos continuó siendo significativa, pero en ningún grupo se alcanzó el valor mínimo de referencia. A pesar de esto, mientras las mulas aumentaron la actividad de GSH-Px en este período, los potrillos mantuvieron valores similares a los del nacimiento.

Se concluye que se produjo una disminución de la actividad de GSH-Px en las madres entre el preparto y el parto, al igual que en sus crías desde el nacimiento hasta los 30 días postparto.

Palabras claves: yeguas, potrillos, mulas, glutación peroxidasa.

2. SUMMARY

ERYTHROCYTIC ACTIVITY OF GLUTATHIONE PEROXIDASE IN MARES MATED WITH STALLIONS AND WITH DONKEYS AND IN THEIR FOALS

The purpose of this study was to determine the erythrocytic activity of the enzyme Glutathione peroxidase pre and post partum in mares and their foals.

Eighteen mares belonging to the Military Breeding Farm Pupunahue, Valdivia (Chile) were used. They were divided according type and purpose into three groups of 6 animals each: heavy mares, light mares, both groups mated with stallions, and light mares mated with donkeys. The heavy mares group included 2 Belgian Ardennes, 2 Breton and 2 Percheron. In the light mares group were included 3 Hackney and 3 crossbreed. The total of animals were kept grazing up to 2- 3 weeks before to the possible date of birth, then they were housed by night and fed mix hay and oats, both harvested in the same farm.

Blood samples were taken from all animals by jugular venopuncture. The first sampling trial was done at least one month pre-foaling; a second sample was obtained within the first 48 hours after delivery and finally one month postpartum. At the same time, foals were sampled at least 2 days after they birth and 30 days postpartum.

The results showed that the erythrocytic activity of Glutathione peroxidase in mares decreased between prepartum and postpartum and these values were maintained 30 days postpartum. There were not significant differences between groups in this study ($P>0.05$).

Foals showed higher activity of the enzyme than their mothers at foaling time; nevertheless, this difference was not statistically significant ($P> 0.05$). These values did not change during the first month foal's life.

Young mules had a higher erythrocytic GSH-Px activity than foals just after birth, but these values did not reach low reference intervals (130 U/g Hb). These differences were similar 30 days after birth. In spite of this, the activity of the enzyme in mules increased in this period, while the activity remains similar at birth in foals.

It could be concluded that all mares showed values of GSH-Px activity below the reference interval during the prepartum period, which also leads to obtain foals with lower levels just after foaling and up to 30 days after.

Key words: mares, foals, mules, glutathione peroxidasa.

3. INTRODUCCIÓN

El Selenio (Se) constituye uno de los micronutrientes esenciales para los animales, siendo necesario un adecuado aporte de este elemento en la dieta para el mantenimiento de la salud y de la reproducción (López Alonso y col 1997). Este mineral se reconoció como tóxico muchos años antes que se descubriera que era necesario para los animales. Su aporte excesivo produce una enfermedad fatal conocida como vértigo ciego o enfermedad por álcali, la que se describió desde 1856 y se caracteriza por enflaquecimiento, pérdida de pelo, ulceración y desprendimiento de pezuñas y erosión de las articulaciones de los huesos largos, lo que lleva a cojeras entre otros (Pond y col 2002). Este mismo autor considera que los suelos que contienen más de 0.5 ppm de Se son peligrosos para las especies que se alimentan de los pastos que crecen sobre esa superficie.

Marco Polo reportó en el año 1295 que sus caballos, luego de ingerir determinadas plantas en el oeste de China, sufrían el desprendimiento de sus cascos. Esto probablemente se debió a la ingestión de plantas que incorporan Selenio y cuyo consumo lleva a intoxicación (por ejemplo *Astragalus spp.*) (Alber 2003).

En el siglo IX se describieron cuadros clínicos de deficiencia de selenio, pero sin relacionarlos con este mineral (Alber 2003). Recién a partir de 1957 se comprobó la importancia de este mineral a partir de investigaciones hechas en ratones (Alber 2003).

Este mineral está presente en forrajes y granos. En alimentos naturales para caballos está normalmente presente como selenioaminoácidos: seleniocisteína y, más frecuentemente, seleniometionina (Gill y Jacques 2004). Estos mismos autores afirman que el selenito de sodio y el selenato de sodio son fuentes comunes de selenio inorgánico. Estudios realizados en caballos demostraron una pequeña diferencia en la absorción entre ambas fuentes cuando se mide la concentración de selenio sanguíneo, pero otros estudios realizados en otras especies señalan que las fuentes orgánicas son más absorbibles que las inorgánicas (Gill y Jacques 2004).

Rotruck y col. (1973), descubrieron la función protectora del selenio contra el daño oxidativo, como componente de la enzima glutatión peroxidasa. La función principal del selenio, como componente de la enzima glutatión peroxidasa, es proteger a la célula frente a los radicales libres (Rammel y col 1989). Este mineral se encuentra en el plasma de distintas formas, la mayor parte de él unido a proteínas. Las únicas selenoproteínas conocidas del plasma son la selenoproteína P y la GSH-Px (Hill y col 1996). El selenio posee un metabolismo sumamente específico centrado alrededor de su incorporación como seleniocisteína en las selenioproteínas (Burk 1991).

La mayor parte del selenio se encuentra contenido en el interior de las células rojas de la sangre como componente de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), jugando esta enzima un

papel central en los procesos de óxido-reducción (López Alonso y col 1997). Según Ruz (1997) la enzima glutatión peroxidasa ejerce su acción antioxidante al transformar, con la asistencia de glutatión reducido, los peróxidos en agua más glutatión oxidado. Existen varias especies de glutatión peroxidasa dependientes de selenio, las que difieren tanto en su ubicación como en la especificidad de sustrato. Estas son la citosólica, la plasmática y la de hidroperóxidos de fosfolípidos (Ruz 1997).

En situaciones donde ocurre una mayor actividad metabólica se produce una mayor demanda tisular de oxígeno, metabolizándose parte de él por la vía univalente, generándose una gran cantidad de radicales libres. Si la carga de éstos supera las defensas antioxidantes, se producen lesiones tisulares al fijarse a los componentes estructurales de la célula, tales como ácidos nucleicos, carbohidratos y lípidos, desencadenando una peroxidación lipídica responsable de la ruptura de las membranas celulares (López Alonso y col 1997).

Según Pond y col (2002), el sitio principal donde se absorbe selenio es el duodeno, tanto en rumiantes como en monogástricos. Después de la absorción, los mismos autores afirman que el Se es transportado en el plasma en asociación con una proteína plasmática y entra en todos los tejidos en donde es almacenado principalmente como seleniometionina y seleniocisteína. En cuanto a la excreción, ésta se realiza a través de los pulmones, el excremento y la orina. La proporción que cada una de estas vías excreta depende de la vía de administración, los valores tisulares y la especie de que se trate (Pond y col 2002).

Según Rotruck y col (1973), la determinación de GSH-Px en sangre es de utilidad para definir los requerimientos de selenio y la identificación de deficiencia del mismo en animales y humanos. Una disminución de la concentración de selenio en sangre y de la actividad de la GSH-Px en potrillos o adultos débiles o en decúbito, puede sugerir una miopatía selenio-deficiente (Rose y Hodgson 1999). Además, se puede observar pelaje hirsuto y quebradizo, rigidez de miembros posteriores y mayor susceptibilidad a infecciones (Alber 2003).

La deficiencia de selenio puede producir en las especies domésticas distintas patologías tales como miodistrofia nutricional (rumiantes y monogástricos jóvenes, aves de corral), diátesis exudativa (aves de corral), necrosis hepática (cerdos y ratas) (Pond y col 2002) y esteatosis nutricional (equinos) (Araya 2003).

El aporte insuficiente de selenio y vitamina E en la alimentación de los equinos produce un cuadro clínico conocido como enfermedad del músculo blanco, la cual corresponde a una miopatía nutricional que afecta principalmente a animales jóvenes, caracterizada por una miodegeneración no inflamatoria de los músculos esqueléticos y del corazón. Su frecuencia de presentación en potrillos es baja comparada a la que se observa en terneros y cerditos (Araya 1988), pero la presentación parece haber aumentado en el último tiempo, lo que Alber (2003) atribuye a que el aporte a través de la placenta de la yegua es insuficiente.

En un estudio realizado por Balogh y col (2001), se demostró que la actividad de GSH-Px en equinos disminuye 24 horas después de realizado un ejercicio intenso (pentatlón). Esta

tendencia puede denotar el efecto del estrés oxidativo en los glóbulos rojos y explica el tardío aumento de GSH-Px.

Según Colahan y col (1998), la enfermedad del músculo blanco es una miodegeneración nutricional que se produce con mayor frecuencia en potrillos jóvenes, aunque se pueden afectar animales adultos en forma esporádica. Según los mismos autores, el estrés, como la realización de un ejercicio al que no se está acostumbrado, puede precipitar los signos clínicos de la enfermedad.

Los signos clínicos se pueden separar en dos síndromes: degeneración miocárdica aguda y miodegeneración esquelética subaguda (Colahan y col 1998). Los potrillos con miodegeneración miocárdica pueden ser encontrados muertos, padecer muerte súbita o estar muy débiles. El estrés, especialmente el provocado por el ejercicio, es un factor que precede con frecuencia la aparición de los signos. Se observa un incremento de la frecuencia cardíaca y disnea, pudiendo tener los potrillos grandes dificultades para levantarse y terminan por morir (Colahan y col 1998).

El inicio de los signos de la miodegeneración esquelética suele ser más lento que el de la forma miocárdica. Los signos primarios incluyen falla para succionar, debilidad muscular, rigidez, temblores y posiblemente decúbito. Los músculos afectados parecen “hinchados” y es factible que se observe mioglobinuria. La taquicardia y la taquipnea son hallazgos frecuentes, así como también el incremento del esfuerzo respiratorio. En los animales adultos se observa depresión, incapacidad para comer, deformación de la cabeza y el cuello, mioglobinuria y signos compatibles con un compromiso muscular difuso, como marcha envarada (Colahan y col 1998).

Tal como se ha indicado, otra patología producida por la deficiencia de selenio en potrillos es la esteatosis, la cual incluye degeneración del tejido adiposo, el cual es reemplazado por tejido conectivo con depósitos de calcio. La primera manifestación de este cuadro es un mal desarrollo y pérdida de peso (Wintzer 1986). Este mismo autor considera además otros signos, que incluyen aumento de la frecuencia respiratoria (sobre 70 ciclos/min), taquicardia (sobre 80 lat/min), pirexia y edema abdominal ventral. El ligamento nugal se encuentra engrosado, sensible a la palpación y con nódulos. La pérdida de peso curiosamente no incluye disminución del contenido de grasa. En un estudio realizado por Araya y col (2004) se evidenciaron signos clínicos de deficiencia de selenio, caracterizados por marcha envarada y aumento de volumen a nivel del ligamento nugal, lo cual genera mucha dificultad para mamar en potrillos (Araya 2003).

Contreras y col (1991) describieron la presentación de enfermedad del músculo blanco en 2 equinos de 10 y 20 días de edad, señalando como signología relevante: letargia, dificultad para mamar y deglutir, aumento de volumen en el borde superior del cuello y sensibilidad de los músculos esqueléticos a la presión. Sin embargo, de acuerdo a antecedentes más recientes estos signos corresponden más bien al cuadro de esteatosis nutricional (Araya y col 2004). Además Contreras y col (1991) indicaron que en la necropsia se observó intensa coloración amarilla y aumento en la cantidad de grasa de la zona perirrenal, cardíaca y mesentérica, en la cavidad torácica y especialmente en la zona dorsal del cuello, lo que probablemente estaría

indicando que la principal lesión correspondía a esteatosis. Histológicamente el tejido adiposo y muscular estriado presentaban severos trastornos inflamatorios, degenerativos y necróticos.

La prevención de estos cuadros se realiza mediante la suplementación con selenio, siendo muy importante preocuparse de las yeguas gestantes, especialmente aquellas que pastan en zonas deficientes en Se (Ceballos y col 1996). Se describen tres estrategias de suplementación con selenio en caballos: administración a las yeguas gestantes en el último tercio de la gestación vía oral, a las madres durante este mismo período vía parenteral y la administración por vía parenteral a potrillos recién nacidos (Araya 2003). Las diferentes formas químicas de selenio suministradas difieren en su metabolismo, siendo las sales de selenito o selenato más absorbibles para el organismo que el selenio elemental y el selenido (Ceballos y Wittwer 1996).

En atención a que existe una transferencia placentaria limitada de selenio, es importante asegurarse de un adecuado estado del selenio en la yegua para optimizar las concentraciones tisulares y sanguíneas del mineral en los potrillos. La transferencia lactogénica de selenio es mayor que la placentaria; por lo tanto, la suplementación durante el período de amamantamiento puede ser importante (Colahan y col 1998).

En un estudio realizado por Ishii y col (2002), la administración de vitamina E y selenio a yeguas pesadas en el parto aumentó los valores de selenio en el posparto, pero los valores de vitamina E y selenio no aumentaron a un nivel adecuado en los potrillos. Sin embargo, los potrillos de yeguas que recibieron E-Se tres semanas antes de la fecha probable de parto presentaron una concentración sérica de selenio mayor que la de los potrillos cuyas madres fueron suplementadas con el mismo producto solo dos semanas antes de la fecha probable de parto.

La ración para los caballos debería contener entre 0,10-0,15 ppm de selenio, teniendo en cuenta que contenga además suficiente vitamina E (*). Esta recomendación es para todo tipo de caballos, pero actualmente es reconocido que ciertas clases de caballos, tales como yeguas madres, potros, caballos en crecimiento y caballos en competencia, se ven enormemente beneficiados con una mayor inclusión de selenio en sus dietas (Gill y Jacques 2004).

En la circunstancia que los caballos se encuentren con deficiencia de selenio se puede suplementar vía intramuscular. En un estudio realizado por Araya y col (2004) se concluyó que el selenato de bario aplicado a caballos selenio deficientes, vía i.m. 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 180 días posteriores al tratamiento. Wichtel y col (1998) en Nueva Zelanda, concluyeron que la inyección de selenato de bario, aplicada asépticamente por vía intramuscular profunda, fue eficaz para aumentar hasta valores mínimos de referencia el nivel de selenio en yeguas madres selenio deficientes mantenidas a potrero.

En un estudio realizado por Vervuert y col (2000), se concluyó que la actividad de GSH-Px en sangre y la concentración de selenio en plasma deben ser considerados por separado para evaluar el nivel del mineral y que la relación de la actividad de GSH-Px con el contenido de selenio en sangre tiene un valor limitado. Además, existe una amplia variabilidad de los niveles de selenio dentro de una manada aunque los caballos se mantengan bajo iguales condiciones de alimentación y manejo. El control sólo de un caballo para evaluar la situación de toda la manada es de baja representatividad.

El presente estudio se realizó en atención a no existir antecedentes en la literatura referente a la relación de la actividad de la enzima GSH-Px (E.C.1.11.1.9) en yeguas pre- y postparto y sus crías productos de cruce con potros y burros.

La hipótesis que se plantea en este estudio es la siguiente: “La actividad eritrocítica de las crías (mulitas y potrillos) al nacimiento, depende de la actividad de la enzima en sus respectivas madres durante el parto.

Los objetivos del trabajo fueron:

- Determinar la actividad sérica de la enzima Glutación-peroxidasa eritrocítica, pre- y postparto en yeguas cruzadas con potros, y en yeguas cruzadas con burros y sus crías.
- Establecer diferencias de acuerdo a tipo y especie en cuanto a estos mismos valores.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Material Biológico:

Se emplearon 18 yeguas gestantes de raza Belga Ardenés, Percherón, Bretón de Montaña, Hackney y mestizas. Las yeguas fueron seleccionadas según tipo y uso, tratando de elegir aquellas con fechas probables de parto más cercanas unas de otras, para así tener los partos lo más concentrados posibles. Sin embargo, se produjo una gran dispersión en los partos de las yeguas, debido a la poca cantidad de ejemplares gestantes de algunas razas.

Todos los equinos pertenecían al Haras Militar Pupunahue, ubicado en la comuna de Los Lagos, provincia de Valdivia, de propiedad del Ejército de Chile.

Los animales se mantuvieron bajo condiciones de alimentación similares en praderas, recibiendo además heno mixto y grano de avena cosechados en el mismo predio.

4.1.2. Material Laboratorio:

Para la obtención de las muestras de sangre se emplearon jeringas de 5 ml y agujas de 18G desechables para el caso de las yeguas y de 21G para los potrillos. La sangre se depositó en tubos de 5 ml con heparina a una concentración de ésta de 15 U/ml.

Las diluciones se realizaron en tubos Eppendorf y luego en envases Cobas Mira. Para la lectura se empleó el autoanalizador bioquímico COBAS MIRA PLUS*.

Para la determinación de hemoglobina se empleó reactivo Drabkin y un fotómetro semiautomático Hitachi 4010.

4.2. MÉTODO

Las yeguas fueron divididas en tres grupos, de seis individuos cada uno, de acuerdo a su tipo y cría:

- Grupo 1: 6 yeguas pesadas (2 Percherón, 2 Belga Ardenés y 2 Bretón de Montaña)
- Grupo 2: 6 yeguas livianas (3 Hackney y 3 mestizas)
- Grupo 3: 6 yeguas mestizas

Las del grupo 1 y 2 fueron yeguas cruzadas con potros y las del grupo 3 fueron cruzadas con burros, por lo tanto sus crías fueron mulas.

A cada yegua se le tomó una muestra de 3-5 ml de sangre con heparina mínimo 30 días antes de la fecha probable de parto. Los potrillos y sus madres fueron muestreados dentro de un tiempo máximo de 48 horas del nacimiento. El procedimiento se repitió 30 días después, tanto en madres como en crías.

Las muestras de sangre heparinizadas se obtuvieron mediante venopunción yugular y fueron llevadas al laboratorio dentro de las primeras cuatro horas siguientes a la recolección. En el laboratorio se realizó una dilución de eritrocitos y luego las muestras se congelaron a -23° C hasta su análisis.

El análisis de cada muestra se realizó en el Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, donde se empleó una técnica cinética NADPH-dependiente descrita por Paglia y Valentine (1967) para determinar la actividad eritrocítica de la enzima Glutación- peroxidasa (E.C.1.11.1.9). La técnica consiste en diluir en un tubo Eppendorf 20 ul de sangre heparinizada en 0,8 ml de diluyente del Kit comercial Ransel®. Luego se traspasan 500 ul de la dilución a un envase Cobas Mira y se introduce en el autoanalizador bioquímico COBAS MIRA PLUS, junto a un blanco, para que se realice la lectura. Además de la muestra de sangre heparinizada, se obtuvieron 20 ul de sangre, los que se diluyeron con 5 ml de reactivo Drabkin, determinándose la concentración de hemoglobina en un fotómetro semiautomático Hitachi 4020. Finalmente, para determinar la actividad de GSH-Px se realizó un cálculo matemático según la siguiente fórmula:

$$\text{Valor GSH-Px equino} = \frac{(\text{Valor Blanco} - \text{Valor Muestra}) \times 41}{\text{Valor Hemoglobina} \times 10}$$

Como valor de referencia se empleó el establecido por el laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Austral de Chile.

4.2.1. Análisis Estadístico:

La determinación de normalidad se realizó mediante histogramas, debido al reducido número de individuos en cada grupo. Para determinar los valores P se empleó el programa estadístico SPLUS 6.2, realizándose la prueba estadística T para comparar los resultados de las yeguas y sus crías, al igual que para comparar los resultados entre los diferentes muestreos y entre los dos tipos de crías. Se trabajó con un nivel de confianza del 95%.

(*) Ransel® (Artículo RS506, Laboratorio RANDOX).

5. RESULTADOS

Durante el desarrollo del estudio se produjo la muerte de tres potrillos, correspondiendo uno a cada grupo de yeguas.

5.1. COMPARACIÓN ENTRE YEGUAS PESADAS, LIVIANAS Y MULATERAS

Al comparar las tres categorías de yeguas (Figura 1) en tres momentos distintos del estudio, se observó que en los tres grupos se produjo una fuerte disminución de la actividad de GSH-Px entre el muestreo 30 días preparto y el del parto. La muestra preparto indicó que las yeguas del grupo II (livianas) son las únicas que alcanzaron, en promedio, el valor mínimo de referencia de 130 U/g Hb. En este grupo se observó una yegua con una actividad de GSH-Px sobre el valor máximo de referencia (270 U/g Hb) y otras dos yeguas dentro del rango, debido a lo cual se obtuvo un promedio dentro del rango de referencia (130-270 U/g Hb). Las yeguas pesadas en promedio se encontraron levemente bajo el mínimo de referencia, lo cual se debió a que solo una de ellas presentó una actividad de GSH-Px muy por debajo el valor mínimo de referencia, mientras las cinco restantes se encontraron dentro del rango de referencia para la especie, cercanas al valor mínimo aceptado para la especie. Finalmente, las yeguas cruzadas con burro (mulateras) son las que presentaron la actividad enzimática más baja (116 U/g Hb). Sin embargo, las diferencias observadas en estos tres grupos en el preparto no son significativas ($P > 0.05$). En este mismo gráfico se observa que las yeguas livianas son las que evidenciaron el descenso más fuerte en la actividad de GSH-Px eritrocítica desde los 30 días preparto hasta el parto, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$). La disminución en la actividad de GSH-Px hasta el mes postparto fue de menor magnitud y no tuvo significancia estadística ($P > 0.05$).

Las yeguas pesadas también sufrieron un descenso en la actividad de la enzima GSH-Px estadísticamente significativo ($P < 0.05$) desde la muestra preparto hasta la muestra al parto. Además, también se observó un descenso desde este momento hasta el muestreo 30 días postparto, pero sin significancia estadística ($P > 0.05$).

Las yeguas mulateras también evidenciaron un fuerte descenso de la actividad de GSH-Px entre las muestras preparto y el parto, existiendo en este caso una significancia estadística ($P < 0.05$) entre ambos muestreos. Estas yeguas son las únicas que manifestaron un aumento leve al momento de la tercera muestra, no siendo sin embargo esta diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$).

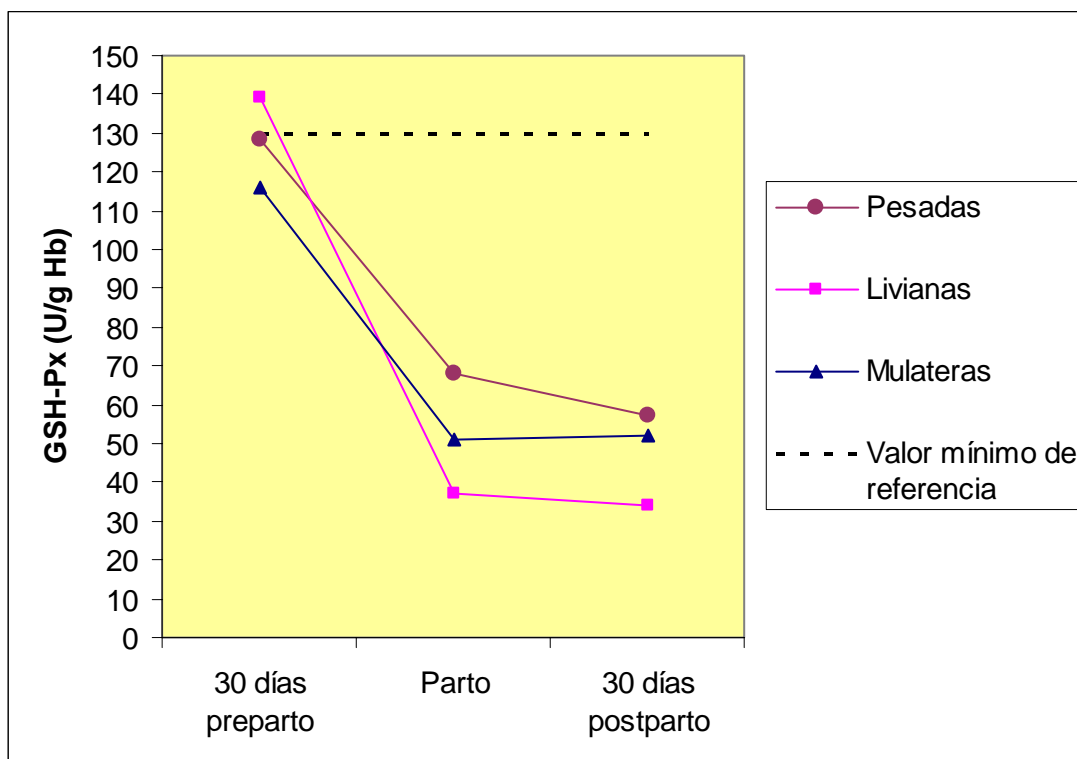


Figura 1. Actividad GSH-Px eritrocítica promedio en tres categorías de yeguas en los 3 períodos del muestreo (preparto, parto y postparto).

Los valores de actividad de GSH-Px eritrocítica de cada una de las yeguas y sus crías en las distintas muestras, se detalla en el Anexo 1.

5.2. COMPARACIÓN ENTRE YEGUAS Y CRÍAS

Al comparar los valores entre las madres y las crías (Figura 2), se pudo observar en general que en las yeguas se produjo un fuerte descenso en la actividad de GSH-Px entre la muestra preparto y al parto, siendo éste estadísticamente significativo ($P < 0,05$). En el período siguiente, nuevamente se produjo una disminución en la actividad de la enzima en relación a la muestra al parto; sin embargo esta disminución carece de significancia estadística ($P > 0,05$). En ambos muestreos todas las yeguas se encontraron bajo los rangos mínimos de referencia.

Por otra parte, como se aprecia en la figura 2, las crías no presentaron variación en la actividad de GSH-Px promedio entre el nacimiento y el mes de vida, pero en ambos muestreos todos los animales estaban muy por debajo del valor mínimo de referencia.

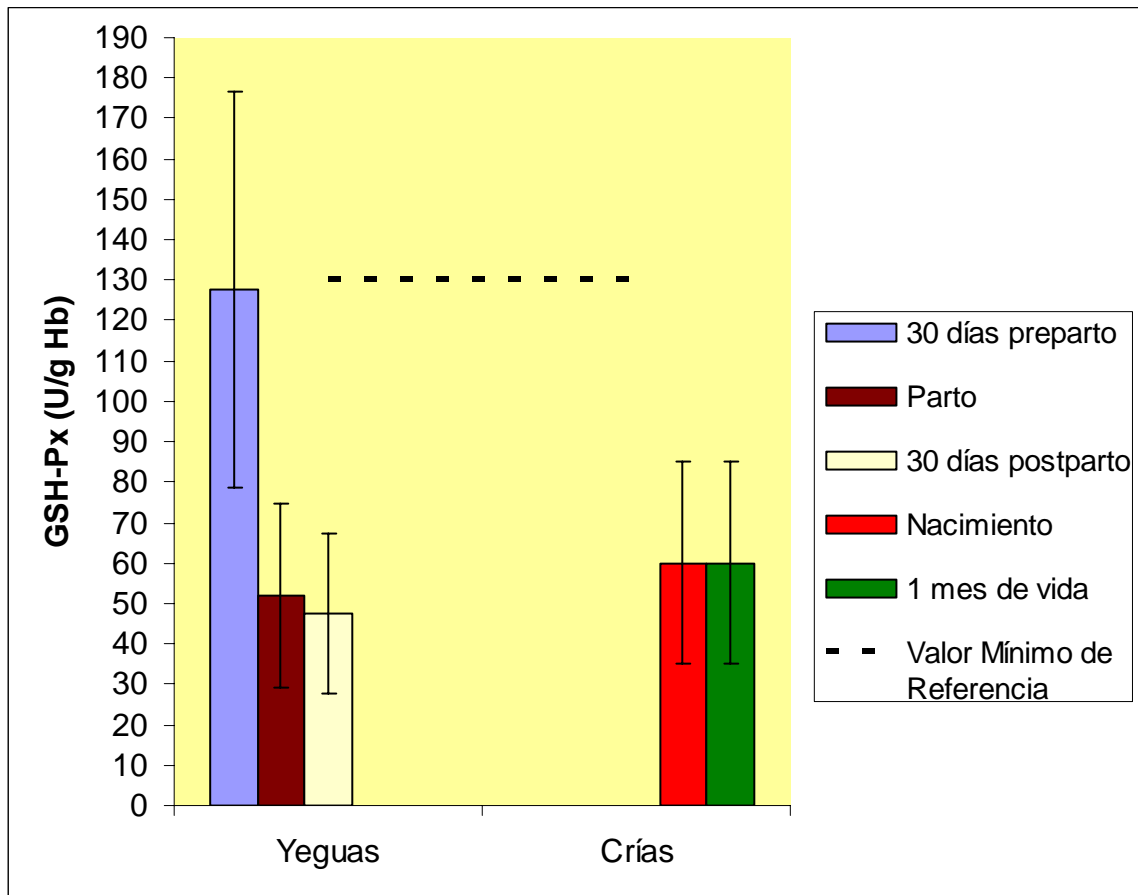


Figura 2. Valores promedio (\pm D.E.) de la actividad eritrocítica de GSH-Px de yeguas al preparto, parto y postparto, y sus crías al momento de nacer y al mes de vida.

Al momento del parto se observó que las crías presentaron una mayor actividad de GSH-Px en sangre que sus madres (Figura 3); sin embargo estos valores están muy por debajo del valor mínimo de referencia y la diferencia observada entre ambos grupos no es estadísticamente significativa ($P > 0,05$). Se debe tomar en consideración que en la categoría de crías se incluyeron tanto las mulas como los potrillos.

La diferencia entre crías y yeguas persistió a los 30 días postparto, y aunque en las yeguas se observó una leve disminución en la actividad de GSH-Px, la diferencia entre madre y cría en este período no fue estadísticamente significativa ($P > 0,05$).

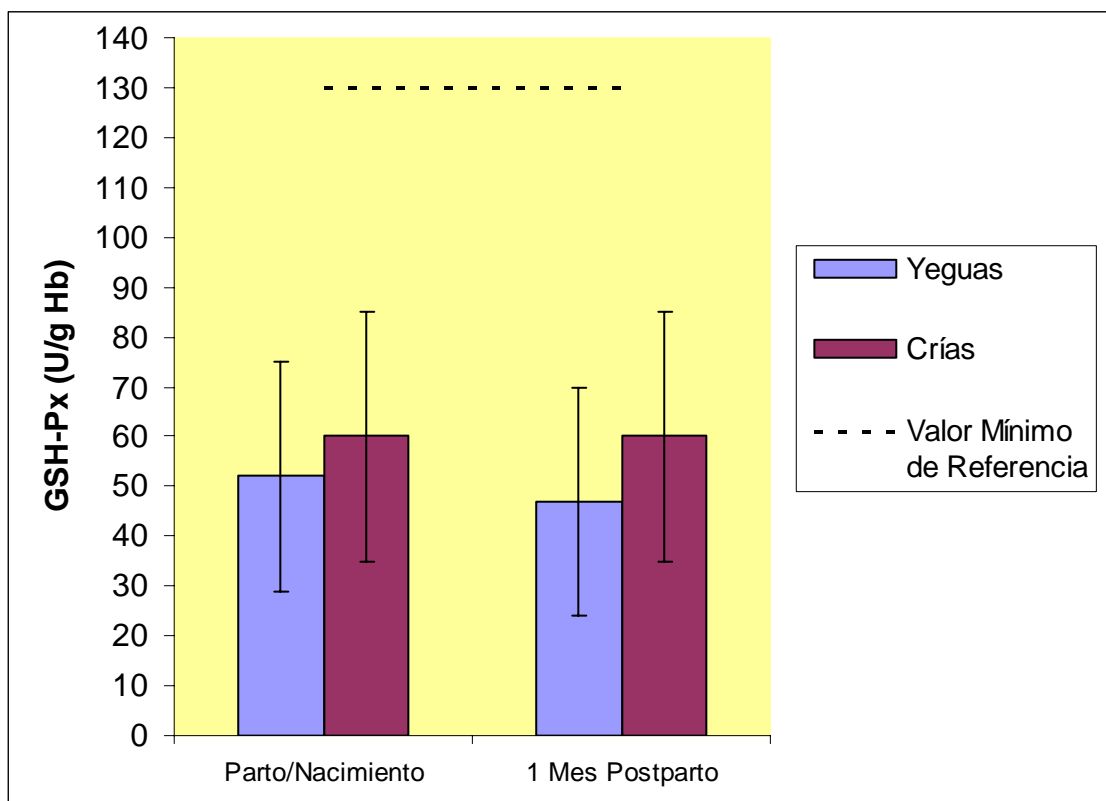


Figura 3. Promedio (\pm D.E.) de actividad eritrocítica de GSH-Px en yeguas y sus crías un mes postparto.

En la figura 4 se observa el promedio de actividad eritrocítica de GSH-Px de las yeguas cruzadas con potros y sus respectivas crías, además de las yeguas multeras y sus crías. En el momento del parto/nacimiento se evidenció que las yeguas presentan una actividad de GSH-Px levemente mayor que la de sus potrillos, no siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P > 0,05$). En el caso de las yeguas multeras y sus mulitas, se observó que las mulas presentaron una actividad eritrocítica de GSH-Px mayor a la de sus madres, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$).

Luego de un mes postparto se observó que las yeguas presentaron una menor actividad de GSH-Px que los potrillos; sin embargo esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($P > 0,05$). Para el caso de las yeguas multeras y sus mulitas se observó que al mes postparto, las crías presentaron una mayor actividad de GSH-Px que sus madres, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$).

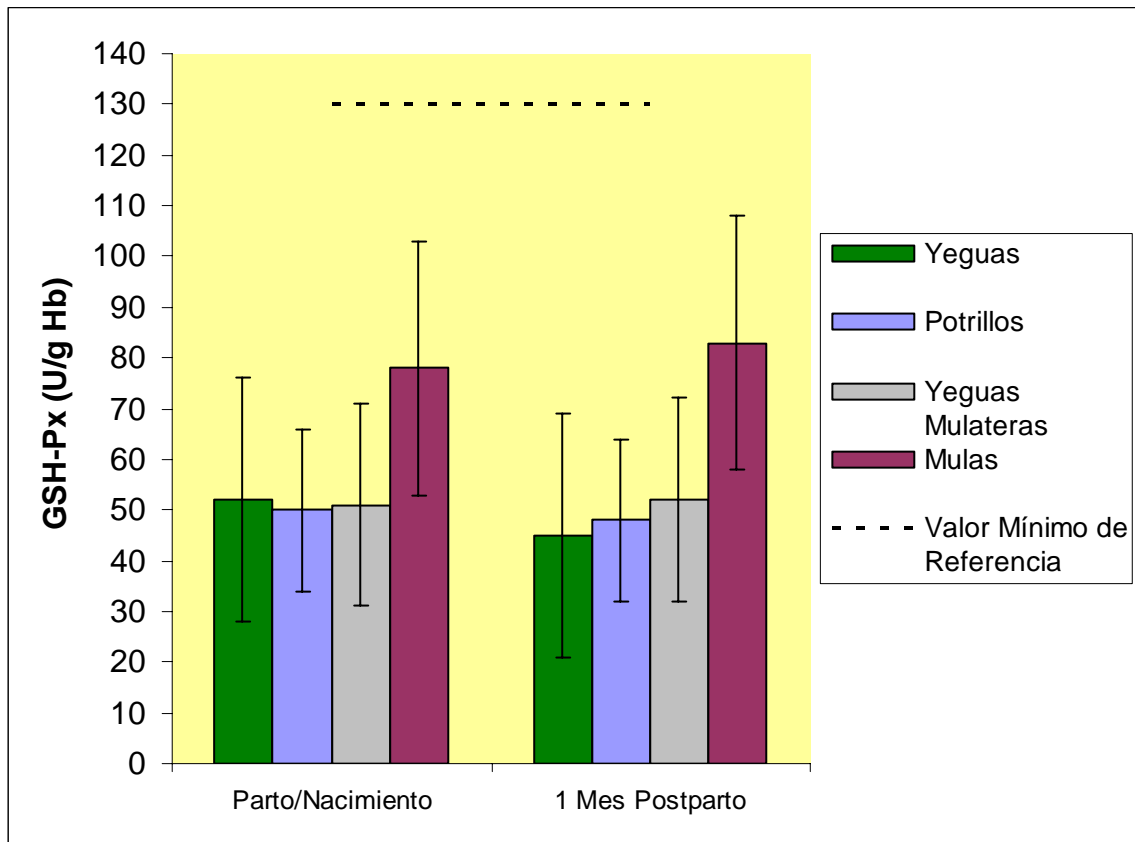


Figura 4. Promedio (\pm D.E.) de actividad eritrocítica de GSH-Px en yeguas y sus crías en dos momentos del estudio.

5.3. COMPARACIÓN ENTRE POTRILLOS Y CRÍAS MULARES

Al comparar la actividad de GSH-Px de los potrillos y las crías mulares en las primeras 48 horas de vida (Figura 4), se observó una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre ambos grupos. Las mulas presentaron un promedio mayor en la actividad de la enzima que los potrillos (78 U/g Hb versus 50 U/g Hb), aunque en ellas tampoco se alcanzó el valor mínimo de referencia de 130 U/g Hb.

La actividad de GSH-Px mantuvo una actividad estadísticamente diferente en los potrillos y las mulas al mes de edad. En este momento las mulas presentaron una actividad de GSH-Px promedio de 83U/g Hb, mientras que los potrillos alcanzaron sólo 48U/g Hb. Además, se observó que las mulas dentro de su primer mes de vida aumentaron la actividad de la enzima, mientras que en los potrillos ésta disminuyó levemente. Sin embargo, en ambos casos las variaciones no fueron significativas ($P > 0.05$).

6. DISCUSIÓN

La causa de muerte de un potrillo inmediatamente posparto fue consecuencia probablemente de la deficiencia de selenio, debido a que correspondía a la cría de la yegua Etoile, quien evidenció una deficiencia de selenio durante todo el estudio. El reporte de necropsia no resultó concluyente, ya que habían transcurrido 48 horas entre la muerte y el examen. Según Colahan y col (1998), esta deficiencia produce una miodegeneración nutricional que afecta animales adultos en forma esporádica y con mayor frecuencia en potrillos jóvenes, pudiendo llevar a la muerte de ellos al nacimiento. La “Enfermedad del Músculo Blanco” en caballos se presenta en general en animales jóvenes y en muchos casos solo se observa muerte repentina debido al severo daño cardíaco que produce la deficiencia de selenio y vitamina E (Araya 2003).

Por otra parte, los 3 grupos incluidos en el estudio presentaron una actividad de GSH-Px eritrocítica promedio bajo los valores mínimos de referencia para la especie, lo que indicaría la existencia de un déficit de selenio en el predio en estudio. Sin embargo, se debe considerar que en la Provincia de Valdivia se concentra el 65% de la pluviosidad anual en el período de invierno e inicios de primavera, lo que induciría una disminución en la concentración de Se en el forraje en esta época, ello coincide con la época en que se realizó el presente estudio (Ceballos y col 1998).

En la totalidad de las yeguas se observó una disminución de la actividad de GSH-Px desde los treinta días preparto hasta el momento del parto, lo cual no concuerda con lo descrito por Ceballos y col (1998) para vacas preparto y en el inicio de la lactancia, en que no se observaron diferencias entre ambos grupos. Asimismo, el crecimiento abundante de forraje a comienzos de primavera guarda una relación inversa con la concentración de Se, disminuyendo aun más el aporte de este mineral en este estado vegetativo de las plantas (Grant y Sheppard 1983).

Dentro de los 30 días postparto también se observó una disminución en la actividad de GSH-Px sanguínea de las yeguas, a excepción de las cruzadas con burros, en las que se observó un leve aumento de esta enzima; encontrándose además que los potrillos presentaban una actividad menor a la de sus madres al momento del parto, lo cual coincide con un estudio realizado por Hospes y col (1996), en que se monitoreó la concentración plasmática de vitamina E y selenio en 12 yeguas, además de la concentración de selenio en leche, encontrándose que al momento del parto las yeguas presentaban aproximadamente el doble de la concentración plasmática de selenio que sus potrillos. Sin embargo, el mismo autor determinó que al cabo de unos días ambos valores (yegua y potrillo) se aproximaban, debido a una disminución de la concentración plasmática de selenio de las yeguas y a un aumento progresivo del mismo en los potrillos, situación que también fue observada en este trabajo.

El grupo de yeguas cruzadas con burro, si bien sufren un descenso de la actividad eritrocítica sanguínea de GSH-Px desde el preparto hasta el parto, son las únicas que

manifestaron un aumento hasta los 30 días postparto. Esto está probablemente influenciado por el tipo de yeguas que constituían este grupo, en que todas eran mestizas. Además, las mulas al momento del nacimiento presentaron una actividad de GSH-Px mayor que el de sus madres, incrementándose la actividad de la enzima durante el primer mes de vida de ellas, al igual que en las yeguas, lo cual no concuerda con lo descrito por Hospes y col (1996) quien indica que para las yeguas cruzadas con potros, éstas al parto presentan una actividad de GSH-Px hasta dos veces mayor que la de sus crías.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se concluye que la totalidad de las yeguas se encontraba con una actividad de GSH-Px disminuida al momento del parto, lo mismo ocurrió con las crías de ellas. Sin embargo, en las yeguas cruzadas con burros se observó que sus crías, al momento del nacimiento, presentaban una actividad de GSH-Px mayor que la de sus madres, lo cual difiere a lo observado en las yeguas cruzadas con potros por Hospes y col (1996), quienes afirman que al momento del parto las yeguas presentan aproximadamente el doble de la concentración plasmática de selenio que poseen los potrillos.

Mediante este estudio se comparó la actividad enzimática de GSH-Px entre yeguas y sus potrillos al momento del parto y postparto, lo que podría indicar que de una madre deficiente nacerá un potrillo deficiente y que en el caso de las mulas, si bien presentan valores superiores a los de sus madres, éstos están bastante por debajo los valores de referencia, aunque no existen antecedentes en la literatura referente a valores de referencia de las mulas.

6.1. CONCLUSIONES

Finalizado el siguiente estudio se concluye:

- Todas las yeguas presentaron una fuerte disminución en la actividad eritrocítica de GSH-Px entre el muestreo preparto y al parto. Entre los tres grupos de yeguas no se observaron diferencias estadísticamente significativas durante el estudio.
- Todas las crías presentaron una baja actividad eritrocítica de GSH-Px al momento del nacimiento, la cual se mantuvo al mes de vida.
- Las crías mulares presentaron una actividad eritrocítica promedio de GSH-Px mayor que los potrillos a los 2 días de vida, no alcanzando ningún grupo el valor mínimo de referencia (130 U/g Hb).

7. BIBLIOGRAFÍA

- ALBER G. 2003. Ernährungslehre: Lebensrettend oder giftig. *Futterjournal* 2: 5-7.
- ARAYA O. 1988. Enfermedades de los equinos: algunas patologías internas y su tratamiento. Central de Publicaciones Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. Pp:217-222.
- ARAYA O. 2003. Deficiencia de selenio en caballos. *Caballo Chileno* 2: 13-16.
- ARAYA O, R URZUA, H BUSTAMANTE. 2004. Efecto del selenato de bario inyectable sobre la actividad de Glutation peroxidasa en caballos a pastoreo. *Arch. Med. Vet.* 1: 31-37.
- BALOGH N, T GAAL, P RIBICZEYNÉ, A PETRI. 2001. Biochemical and Antioxidant Changes in Plasma and Erythrocytes of Pentathlon Horses Before and After Exercise. *Vet. Clin. Path.* 30: 214- 218.
- BURK R. 1991. Molecular biology of selenium with implications for its metabolism. *The 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 ruminates. *Arch. Med. Vet.* 28: 5-18.
- CEBALLOS A, F WITWER, P CONTRERAS, H BÖHMWALD. 1998. Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año. *Arch. Med. Vet.* 30: 5-18.
- COLAHAN P, I MAYHEW, A MERRITT, J MOORE. 1998. Medicina y Cirugía Equina. 4ª Ed. Pp: 1225-1226. Editorial Inter-médica. Buenos Aires. República Argentina.
- CONTRERAS P, V CUBILLOS, O ARAYA. 1991. Enfermedad del Músculo Blanco en equinos: descripción de dos casos clínicos. *Patología Animal* 5:27-31.
- GILL A, K JACQUES. 2004. Organic selenium may be powerful equine antioxidant. *Feedstuffs* 76:11-12.
- GRANT A B, A D SHEPPARD. 1983. Selenium in New Zealand pasture. *N. Z. Vet. j.* 31:131-136.

HILL K G, Y XIA, B ÅKESSON, M E BOEGLIN, R F BURK.1996. Selenoprotein P concentration in plasma is an index of selenium status in selenium-deficient and selenium-supplemented chinese subjects. *J. Nutr.* 126: 138-145.

HOSPES R, K HERFEN, H BOSTEDT. 1996. Die Korrelationen zwischen Stute und Fohlen bezüglich der Selen- und Vitamin E- Versorgung im perinatalem Zeitraum. *Pferdeheilkunde* 12: 194-196.

ISHII M, H OGATA, H SHIMIZU, Y TAKEUCHI, T NOZAWA, Y YAMAMOTO, T OKAMOTO, T SHIMAMURA, A UTSUMI, T JITSUKAWA, M ENDO, T FUKUDA, T YAMANOI. 2002. Effects of vitamin E and Selenium administration on pregnant, heavy draft mares on placental retention time and reproductive performance and on white muscle disease in their foals. *J. Vet. Sc.* 22: 213-220.

LOPEZ ALONSO M, M MIRANDA, J HERNÁNDEZ, C CASTILLO, J L BENEDITO. 1997. Glutation peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. *Arch. Med. Vet.* 29: 171-180.

PAGLIA D E, W N VALENTINE. 1967. Studies on the quantitative and cualitative characterization of erythrocyte glutation peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 70: 158-169.

POND W G, D C CHURCH, K R POND. 2002. Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales. 2ª edición. Pp: 219- 223. Editorial Limusa, México D.F.

RAMMEL C G, K G THOMPSON, G R BENTLEY, M V GIBBONS. 1989. Selenium, vitamin E and polyunsaturated fatty acid concentrations in goat kids with and without nutritional miodegeneration. *N. Z. vet. j.* 37:4-6.

ROSE R, D HODGSON.1999. Manual of Equine Practice. Pp: 156-157. 2ª Ed. WB Saunders Company, USA.

ROTRUCK J T, A L POPE, H E GANTHER, D G HAFEMAN, W G HOEKSTRA.1973. Selenium: Biochemical Role as a Component of Glutathione Peroxidase. *Science* 179: 588-590.

RUZ M. 1997. Oligoelementos como Antioxidantes. En: Estrés Oxidativo y Antioxidantes en la Salud y Nutrición Animal. Pp: 9-12. Wittwer y Ceballos editores. Valdivia. Chile.

VERVUERT I, M COENEN, M HÖLTERSINKEN, M VENNEN, P RUST. Aktuelle Befunde zur Beurteilung der Selenversorgung beim Pferd. *Tierärztl. Prax.* 28:172-177.

WICHTEL J J, N D GRACE, E C FIRTH. 1998. The effect of injectable barium selenate on the selenium status of horses on pasture. *N. Z. Vet. j.* 46:185-190.

WINTZER H-J. 1986. Equine Diseases. Pp: 315-316. Editorial Paul Parey, Berlin.

8. ANEXOS

Anexo 1

	Yegua	Preparto U/g Hb	Parto U/g Hb	Postparto U/g Hb	Cría	
					Nacimiento U/g Hb	1 Mes de edad U/g Hb
Grupo I	I. Your	120	50	34	39	30
	Etoile	45	56	43	*	*
	Yenny	148	81	50	61	75
	Olesblonde	154	96	90	59	73
	Grosse	134	41	45	67	60
Grupo II	Fada	168	83	81	39	40
	Entonadita	283	32	31	39	38
	Kitty Kid	144	62	53	51	64
	Improvida	140	40	32	75	32
	Artemisa	81	21	34	46	47
Grupo III	Ojuela	97	34	25	26	25
	Omega	89	33	23	48	*
	Brusela	105	73	45	125	98
	Burbuja	95	16	24	39	51
	Pachocha	128	32	48	90	77
	Tara	107	52	51	58	*
	Ellalihuen	119	57	70	66	101
	Fascinerosa	141	73	72	90	88
DE	49	23	20	25	25	
Promedio	127,67	51,78	47,28	59,88	59,93	
Valor H	-2,1	-4,2	-4,4	-4,0	-4,0	

* Indica potrillo muerto.

9. AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo se debe en primer lugar a la posibilidad que me dieron mis padres de estudiar Medicina Veterinaria, muchas gracias papá y mamá.

Mis sinceros agradecimientos al Ejército de Chile, quien mediante el Comandante del Haras Pupunahue, Mayor Marcelo Mezano, su veterinaria Capitán Carolina de Miguel y los enfermeros de ganado, facilitaron el material, la infraestructura y el financiamiento para el desarrollo de este trabajo.

Muchas gracias al Dr. Oscar Araya por enseñarme, guiarme y aconsejarme durante todo este tiempo.

Al laboratorio del Hospital Veterinario muchas gracias por guardar y posteriormente analizar las muestras, especialmente a la Sra. Helga y a Don Atilio.

A mis amigos que me ayudaron de forma directa (Patricio, Roberto y Gerardo) e indirecta, quienes constantemente me apoyaron y animaron cuando el tiempo se hacía estrecho entre las clases y los muestreos. ¡Muchas gracias amigos!