

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

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE  
SELENIOMETIONINA/SELENIOCISTEÍNA, DURANTE EL ÚLTIMO MES DE  
GESTACIÓN, SOBRE LA ACTIVIDAD DE GSH-PX ERITROCITICA EN YEGUAS  
Y SUS CRÍAS.**

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

**IVAN ORESTE DONARI ALLENDE**

**VALDIVIA – CHILE**

**2008**

**PROFESOR PATROCINANTE: Dr. Oscar Araya V.**

Nombre

Firma

**PROFESOR EVALUADOR: Dr. Rafael Burgos A.**

Nombre

Firma

**PROFESOR EVALUADOR: Dr. Rubén Pulido.**

Nombre

Firma

**FECHA APROBACIÓN:**

30 DE JULIO 2008

*A mis padres*

## ÍNDICE

Capítulo	Página
1. RESUMEN.....	01
2. SUMMARY.....	02
3. INTRODUCCION.....	03
4. MATERIALES Y METODOS.....	10
5. RESULTADOS.....	13
6. DISCUSION.....	15
7. BIBLIOGRAFIA.....	18
8. ANEXOS.....	22
9. AGRADECIMIENTOS.....	24

## 1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la administración oral de un producto comercial formulado en base a sales de seleniometionina/seleniocisteína en yeguas-GSH-px eritrocítica deficientes durante el último mes de gestación y, posteriormente, evaluar la actividad de la enzima en las yeguas como en sus crías.

El material biológico que se utilizó fueron 15 yeguas de entre 7 a 15 años de edad, alimentadas en base a pastoreo directo, avena y heno de alfalfa. Los animales GSH-px deficiente fueron seleccionados mediante un examen de sangre. De esta manera se formaron dos grupos de animales: “Grupo tratado” (n=10), el cual fue suplementado con 3 g/Selplex-50<sup>1</sup>/animal/día espolvoreado sobre el alimento (avena mojada) que se suplementaba en comederos especialmente habilitados para este estudio por un período de 30 días y “Grupo control” (n=5), el cual no recibió tratamiento.

Con el fin de determinar el efecto de la suplementación, se tomaron muestras de sangre heparinizadas por venopunción yugular de cada una de las yeguas y sus respectivas crías, al inicio de la suplementación (30 días pre-parto), dentro de los primeros 7 días post-parto y a los 30 días post-parto.

Los resultados indicaron que en el primer muestreo post-parto (7 días) la actividad de GSH-px, de ambos grupos de yeguas aumentó en relación al muestreo anterior. Sin embargo, estos valores aún permanecían bajo el rango mínimo de referencia. Por su parte, los valores obtenidos para las crías en el mismo muestreo fueron igualmente deficitarios en ambos grupos. Al realizar el segundo muestreo post-parto (30 días), los promedios para ambos grupos de yeguas fueron mayores en relación a la medición anterior, aunque sin alcanzar el valor mínimo de referencia para la especie. Lo mismo se observó en el “grupo control de crías”. Al contrario, el “grupo tratado de crías” experimentó una disminución en la actividad enzimática de GSH-px. En este grupo se produjo la muerte de 2 crías.

En base a estos resultados se puede concluir que la administración oral de selenio orgánico (seleniometionina/seleniocisteína), en dosis de 3 g/diarios/yegua durante 30 días previos al parto, no es suficiente para lograr incrementar la actividad de GSH-px eritrocítica en yeguas deficitarias ni en los neonatos por sobre el valor mínimo de referencia para la especie.

*Palabras claves:* Selplex-50, glutatión peroxidasa, yeguas preñadas selenio deficientes.

## 2. SUMMARY

### **EFFECT OF THE ORAL DOSIFICATION OF METIONINE/CISTEINE SELENATE DURING LAST MONTH OF PREGNANCY IN MARES WITH LOW ERITROCYTIC GSH-Px ACTIVITY AND THEIR FOALS.**

The purpose of the present research is to determine the effect of the oral administration of a commercial product based on methionine selenate/cysteine selenate (Selplex 50) in mares with low erythrocytic GSH-Px activity during the last month of pregnancy, and later, evaluate the enzyme activity in mares and their foals.

The evaluated animals were 15 mares between seven and fifteen years old, under pasture feeding and mixed hay. The animals with low levels of GSH-Px were selected by blood measurements, obtaining two groups: "Treatment group" (n=10) which received 3g/Selplex-50<sup>1</sup>/animal/day in a *top dressing* system for a period of 30 days; and the "Control Group" (n=5), which did not receive any treatment.

In order to determine the effect of the supplementation, heparin samples of blood were taken to each mare and their respective foals at the beginning of the supplementation (30 days prepartum), during the first seven days postpartum and at 30 days postpartum.

The results indicate that in the first post partum sampling (7 days) the GSH-Px activity increased in both groups of mares, however these values remain under the reference. The obtained values in this sample for the foals of both groups were also below the reference. At the time for the second sample, 30 days postpartum, the average for the two groups of mares, increased in relation with the previous evaluation, but not enough to reach the minimum of the reference. The same variation was evidenced in the "Foals Control Group", but the "Foals Treated Group" experiment a decrease in the activity of the GSH-Px. 2 foals of this group die.

Based on the results, it is possible to conclude that the oral administration of organic Selenium (methionine selenate/cysteine selenate), in a 3 gr/day/mare, during the 30 days previous to delivery, is not enough to increase the activity of erythrocytic GSH-Px, even in mares as in their foals, up to the minimum range of reference of the species.

*Key words:* Selplex-50, glutathion peroxidase, selenium deficient pregnant mares.

### 3. INTRODUCCION

#### 3.1. Selenio.

El selenio (Se), es uno de los minerales esenciales para el mantenimiento y desarrollo de las funciones del organismo animal (López y col. 1997). El interés por la determinación de los valores de este elemento en los animales, comenzó cuando se conocieron sus efectos tóxicos, siendo responsable de la llamada “Enfermedad del álcali o vértigo ciego” (Franke, 1934). Esta situación adquirió una dimensión diferente tras el descubrimiento de la esencialidad de este mineral para los animales (Schwarz y Foltz 1957).

El selenio es un semi-metal o metaloide, el cual es muy similar al azufre en sus propiedades químicas. Existen muchas formas alotrópicas, forma polvo rojizo, cristales de coloración roja, moho café oscuro y una forma gris plateada como resultado de someterlo al calor (200-220°C) (Mc Dowell, 1992). Pertenece al grupo IV-A de la tabla periódica de elementos y tiene un peso atómico de 78,96 g/mol (Gielssen-Nielsen y col. 1984) y un número atómico de 34. Está ampliamente distribuido en el ambiente terrestre, pero varía su contenido y biodisponibilidad en el suelo y en los forrajes (Mc Dowell, 1992).

Este mineral se encuentra en la naturaleza en formas orgánicas e inorgánicas. Las formas inorgánicas comprenden elementos que pueden oxidarse a dos estados +4 y +6, existiendo en el primero como dióxido ( $\text{SeO}_2$ ), ácido selenoso ( $\text{H}_2\text{SeO}_3$ ) o su sal selenito ( $\text{SeO}_3$ ) y, en el segundo estado se encuentra en forma de ácido selénico ( $\text{H}_2\text{SeO}_4$ ) y su sal selenato ( $\text{SeO}_4$ ) (Mc Dowell, 1992). Sobre la superficie terrestre se encuentra distribuido con un promedio de 0.09 ppm, generalmente asociado a otros minerales como el azufre. Su biodisponibilidad en los distintos tipos de suelo es muy variables (NCR, 1983), lo cual depende de factores tales como: contenido de minerales, forma química en que el selenio está presente, contenido de materia orgánica y actividad microbiana del suelo, características climáticas, época del año, prácticas de manejo de suelos (fertilización) (Mc Dowell, 1992). También influyen en este sentido las especies forrajeras presentes, algunas de las cuales se conocen como plantas indicadoras o acumuladoras, las cuales pueden acumular más de 1000 ppm. Otras plantas son denominadas acumuladoras secundarias y raramente concentran más de 100 ppm; existiendo un tercer grupo, que al crecer en suelos seleníferos, compuesto por granos, pastos y malezas no acumula más de 50 ppm, (NRC, 1983; Gissel-Nielsen y col. 1984).

De todo lo anterior se desprende que el contenido en el suelo y su disponibilidad determinará la concentración del selenio en el forraje, lo que a su vez regula la concentración sanguínea y tisular en los animales sometidos a pastoreo (Ceballos 1996). El hígado, riñón y los músculos son los órganos que concentran la mayor cantidad de Se en el organismo

animal. Situación que puede variar debido a la edad y el estado reproductivo en el que se encuentren los animales al momento de la medición (Store y Herdt 1992; Jukola 1994).

La concentración sanguínea de Se en equinos varía entre 0.17- 0.25 ppm, por lo que los requerimientos diarios en esta especie son de 2.4 ug Se/Kg peso vivo/día (Store 1967; Puls 1994). En cuanto al contenido de selenio en granos y forrajes, se considera adecuada una concentración superior a 0.1 ppm (Blood y Radostits 1992; Mc Dowell 1992), por lo que no se deberían presentar trastornos vinculados a la deficiencia de Se en animales que pastorean en zonas con esta característica. Lo contrario sucedería en áreas donde el forraje posee menos de 0.05 ppm (Base materia seca) (Levander 1986). En el forraje del sur de Chile se ha estimado una concentración promedio y D.E de  $0.11 \pm 0.05$  ppm (Wittwer y col. 1997), lo cual proporciona un ambiente propicio para la presentación de cuadros asociados a la deficiencia de selenio.

Si bien el selenio es imprescindible para el organismo, este puede llegar a ser tóxico en altas dosis. Es así como ovejas, caballos y vacunos mueren con una dosis oral de 2.2 a 11 mg/kg de peso vivo (Dill y Redhum 1985).

La absorción de Se en los rumiantes es menor que en los no rumiantes debido a la reducción de las formas biológicamente activas en su paso por el rumen (Ceballos 1996), ya que es en el duodeno y yeyuno los segmentos intestinales en los que más se absorbe este mineral (Amermann y Miller, 1975). Al respecto, Church y Pond (1994) observaron que los animales selenio deficientes retienen más este mineral que los que no presentan esta deficiencia, ya que la absorción responde a necesidades titulares al igual que su excreción.

Posterior al proceso de absorción, el selenio es transportado al hígado asociado a una proteína plasmática, donde se une a otras proteínas (alfa y gamma globulinas), siendo distribuido a los diferentes tejidos del organismo (principalmente los que tienen composición proteica), donde se almacena en forma de seleniometionina y seleniocisteína (Church y Pond, 1994).

Este microelemento forma parte de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-px; EC 1.11.1.9), la cual es encargada de catalizar la reducción de peróxidos para proteger a las células del daño oxidativo (Sandholm 1980). El selenio es incorporado a esta enzima en las células hematopoyéticas después de la absorción (Ishii y col. 2002). El Se dura poco tiempo en los tejidos en los que se almacena y la excreción se lleva a cabo a través de los pulmones, heces y orina. La porción de este elemento que se elimine por cada una de estas vías está influenciado por la ruta de administración, los niveles titulares y la especie animal (Church y Pond, 1994).

### 3.2. Trastornos provocados por la deficiencia de selenio en el organismo animal.

La deficiencia metabólica de selenio provoca una disminución en la actividad de GSH-px, la cual se asocia a mayor susceptibilidad al estrés oxidativo y consecuentemente a diversos síndromes relacionados con su déficit nutricional, tales como Enfermedad del músculo blanco y Enfermedad de la grasa amarilla (Taylor y col. 1988). En Chile, la miodegeneración y la esteatosis nutricional en equinos fueron descritas por Araya y Vits (1998), enfermedades que afectan tanto a animales jóvenes y adultos.

Es así como una serie de trastornos han sido atribuidos a insuficiente contenido de selenio en el organismo animal, tales como debilidad neonatal, miodegeneración, miopatía cardíaca, retención de placenta, abortos, degeneración testicular, inmunosupresión y mastitis (Ceballos y Wittwer 1996) dependiendo de la especie y edad del animal. Por su parte Dill y Redhum (1985), señalan que la miodegeneración nutricional afecta principalmente a músculos de los miembros, músculos intercostales, músculos cervicales, diafragma, miocardio y lengua.

También es común observar alteraciones en potrillos nacidos de yeguas que recibieron una suplementación mineral inadecuada durante la gestación (Wintzer 1986; Moore y Kohn 1991), lo que coincide con lo expuesto por Lofstedt (1997), en el sentido que la concentración de selenio en el neonato depende de los niveles maternos de este elemento durante la gestación. Un aporte insuficiente conllevaría a la presentación de signos tales como debilidad muscular, mialgia y engrosamiento a nivel de la zona dorsal del cuello al nacer (Fig 1), lo que dificulta la movilidad del potrillo y disminuye su capacidad de mamar (Fig 1). También se observa regurgitación nasal u oral de la leche, todo lo que lleva a una menor sobrevivencia de los animales afectados. El aumento de las frecuencias respiratoria y cardíaca (mayor a 80 lat./min.) ocurre en la mayoría de los potrillos afectados (Dill y Redhum, 1985).



Fig 1. Potrillos neonatos con aspecto típico de deficiencia de selenio (decaimiento y engrosamiento cuello)

Sin embargo, la deficiencia de selenio en potrillos no siempre se manifiesta clínicamente, ya que existen casos en que la presentación es subclínica, haciendo más difícil el diagnóstico (Caple y col 1978). Esto se puede deber a que generalmente la deficiencia está relacionada con factores tales como una dieta rica en ácidos grasos insaturados, ejercicio no acostumbrado y el crecimiento rápido en animales jóvenes (Blood y Radostits 1992).

Al examen post-mortem de un animal que se presume muerto a consecuencia de esta deficiencia, se observa tejido adiposo amarillo intenso, endurecimiento a nivel del ligamento nugal, áreas pálidas en los músculos, necrosis de Zenker en el corazón y mioglobinuria. Al examen histopatológico se observa degeneración y necrosis muscular y grasa (Araya, 1997).

### **3.3. Prevención de los efectos de la deficiencia.**

La prevención de la deficiencia de selenio se realiza mediante la suplementación con selenio, siendo muy importante suplementar las yeguas gestantes, especialmente aquellas que pastan en zonas deficientes de este mineral (Ceballos y col. 1996). Lo expuesto es de suma importancia, ya que las yeguas madres traspasan selenio hacia el feto durante la gestación (Dill y Redhum, 1985) y posteriormente a través del calostro y la leche, cuya concentración mineral es influenciada principalmente por 2 factores: concentración preexistente de Se y cantidad ingerida por la hembra que amamanta (Alaejos y Romero, 1995).

La suplementación se puede realizar con sales inorgánicas (selenitos y selenatos) y con formas orgánicas (seleniomietionina y seleniocisteína) (Oblitas, 1997). Esto se puede llevar a cabo a través de varias formas, entre las cuales se cuentan la fertilización de la pradera con el mineral (150 g/Se/ha), diluciones en agua de bebida, administración oral, administración parenteral (selenato de bario, selenito o selenato de sodio). Y un método especialmente formulado para rumiantes es el empleo de bolos intra-ruminales, los que liberan el selenio en forma constante y gradual (Oblitas, 1997).

### **3.4. Opciones de tratamiento.**

Labbé (2005) observó que la administración oral de selenio orgánico (seleniomietionina/seleniocisteína) a una dosis diaria de 4g/caballo/día por 30 días, incrementa y mantiene la actividad de Gsh-px eritrocítica sobre los valores mínimos de referencia por al menos 60 días en caballos Criollo chileno selenio deficientes. Por otra parte, el selenato de bario aplicado vía intramuscular a caballos selenio deficientes, en dosis única de 0.5 mg/kg incrementó y mantuvo la actividad de GSH-px eritrocítica dentro del rango de referencia, al

menos por 180 días posteriores a la suplementación (Araya y col. 2004). Lo que concuerda con lo reportado por Witchel y col. (1998), quienes observaron un incremento en las concentraciones séricas de selenio durante 365 días, inyectando dosis de 0.5, 0.75, 1.0 y 1.5 mg/Kg peso vivo. Según Araya y col (2004), la aplicación del producto por vía intramuscular en caballos no produjo reacciones titulares adversas clínicamente detectables en el punto de inyección.

En cuanto a la suplementación en yeguas durante el último tercio de la gestación, se demostró que es más eficaz la transferencia de selenio hacia el feto utilizando la administración oral de selenioaminoácidos (metionina/ cisteína), en comparación con el uso de compuestos inorgánicos (Dill y redhum, 1985). También se describe la administración parenteral a las madres durante el último tercio de la gestación, mediante distintos protocolos, utilizando selenito de sodio inyectable intramuscular (Lofstedt, 1997). Se ha reportado que esta vía de administración tiene inconvenientes, causando una severa reacción inflamatoria local en el punto de aplicación, por lo que se debería repartir la dosis en dos o más puntos de inyección. Además, se ha descrito reacciones anafilácticas con estas sales (Moore y Kohn, 1991).

### **3.5. GSH-Px.**

La GSH-px, es una metaloenzima que forma parte del sistema glutatión, señalado como el principal sistema antioxidante del organismo (Oh y col. 1974). Esta enzima presenta un peso molecular de aproximadamente 80.000 daltons, comprendiendo 4 subunidades, y contiene 4 átomos gramo de selenio por mol (Canther y col. 1976). Ella participa activamente en los procesos de óxido-reducción, catalizando las reacciones que destruyen peróxidos de ácidos grasos o hidroperóxidos que se generan en el organismo (López Alonso y col. 1997). Si estos no fueran retirados o inactivados por esta enzima dañarían las membranas celulares, produciendo la liberación de enzimas lisosomales, las que a su vez provocarían destrucción celular (Moore y Kohn 1991). La GSH-px contiene el 75% del selenio sanguíneo, encontrándose ésta en el interior de los eritrocitos, a los que se incorpora sólo durante la eritropoyésis (Oh y col. 1974; Hill y col. 1992).

Existe una fuerte correlación entre selenio sanguíneo y actividad de la enzima GSH-px en distintas especies animales como ovinos, bovinos y equinos (Stevens y col. 1985; Wheatley y Beck 1988; Hamliri y col. 1990). En equinos la correlación entre el contenido de selenio sanguíneo y la actividad de la GSH-Px es de  $r = 0.94$ , por lo que la determinación de esta enzima permite un adecuado diagnóstico del balance de selenio en los animales (Maylin y col. 1980; Wheatley y Beck 1988; Mackintosh y col. 1989; Blood y Radostits 1992).

La concentración sanguínea de GSH-px puede variar, considerándose como deficientes valores inferiores a 30 mU/mg, marginales valores entre 30-60 mU/mg Hb y adecuados si son mayores a 60 mU/mg (Blood y Radostits 1992). Para el equino, en el Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, los valores de referencia oscilan entre un mínimo de 130 U/g Hb a un máximo de 600 U/gHb.

Por lo anteriormente expuesto, es importante medir, evaluar y buscar la forma de corregir los niveles de selenio en la sangre de los neonatos a través de la suplementación a la madre, ya que estos son los que mas sufren las consecuencias de esta deficiencia. Entre los signos clínicos más representativos en los potrillos tenemos edema en la parte baja del abdomen, engrosamiento de la cresta nucal y de la zona costoabdominal y grupa, dificultad para moverse y mamar, decúbito permanente y muerte repentina (Beech 1988; Araya 2003). También es posible encontrar dificultad respiratoria y falla cardíaca que podrían llevar al colapso del animal de forma brusca y repentina. Además, se han reportado casos en que la deficiencia no conlleva signos clínicos, sino que se presenta sólo como baja tolerancia al ejercicio y leve incoordinación posterior (Moore y Khon 1991).

En el presente estudio se intentó demostrar el efecto de la suplementación durante 30 días, con selenio orgánico (Selplex-50), en cuanto a nivel de actividad sérica de la enzima GSH-px en yeguas gestantes identificadas como selenio-deficientes. Además se midió cual fue el efecto de dicha suplementación en la actividad sérica de GSH-px en sus crías desde el nacimiento en adelante, ya que está demostrado que existe un pasaje importante de este elemento de la madre al feto durante la gestación (Hill y Redhun, 1985), por lo que se puede asumir que los potrillos nacidos de madres detectadas como deficitarias de selenio, al igual que estas presentarán un déficit de este mineral y con ello los signos clínicos clásicamente asociados a esta carencia por lo que se diseñó este estudio como una alternativa para la prevención de las patologías asociadas a la deficiencia de selenio en caballos, la cual además de perdidas por muerte de neonatos, afecta a la vida útil del animal, especialmente en el caso de equinos destinados a deporte.

### **3.6. Hipótesis.**

La suplementación oral de seleniometionina/seleniocisteína durante el último mes de gestación en yeguas GSH-px eritrocítica deficiente, incrementa y mantiene la actividad de la enzima en las madres y su crías, dentro de los rangos normales establecidos para la especie, al momento del parto y a lo menos hasta 30 días posterior a éste.

### **3.7. Objetivos.**

- Determinar el incremento de la actividad de GSH-px eritrocítica en yeguas deficientes en esta enzima, suplementadas con sales de seleniometionina/seleniocisteína durante el último mes de gestación.
- Determinar el efecto en las crías que tiene la suplementación de sus madres con sales de seleniometionina/seleniocisteína realizando mediciones en la primera semana de vida (primera semana pos-parto) y primer mes de vida (30 días pos-parto).

## 4. MATERIALES Y METODOS

### 4.1. Materiales.

Se utilizaron 15 animales pertenecientes al criadero Militar Pupunahue, ubicado en la comuna de Los Lagos, provincia de Valdivia (Chile). Se trabajó con dos grupos de yeguas preñadas, detectadas previamente como GSH-px eritrocítica deficientes, las que se encontraban en el último mes de gestación. Los animales poseían características similares en cuanto a raza (mestiza inglés-tiro pesado), edades comprendidas entre 7 a 15 años y alimentadas en base a pastoreo de pradera natural, heno de alfalfa y avena humedecida.

El producto comercial que se utilizó para la suplementación con selenio fue “Selplex 50 ®”\*; el que contiene 1000 ppm de selenioproteínas (50% seleniocisteína y 50% seleniometionina).

Para la determinación de la actividad de la enzima Gsh-px eritrocítica, se obtuvieron muestras de sangre heparinizada mediante punción de la vena yugular, para lo cual se utilizaron los siguientes materiales:

- Jeringas desechables de 10 ml.
- Aguja 18 G desechable.
- Tubos de ensayo con heparina.

Para el análisis de la GSH-px, se utilizó el fotómetro semiautomático Hitachi 4020, con una longitud de onda de 546 nanómetros.

\*Laboratorio Alltech, Chile. Dirección El Rosal 4571, Huechuraba. Santiago. Chile

## **4.2. Métodos.**

### **Diseño experimental.**

Los grupos experimentales quedaron constituidos de la siguiente manera: El grupo I o Tratado, estuvo conformado por 10 yeguas que recibieron suplementación oral de selenocisteína/seleniometionina; el grupo II o Control, estuvo conformado por 5 yeguas las que no recibieron suplementación.

#### **4.2.1. Suplementación de las yeguas.**

Una vez conformados ambos grupos , se procedió a la administración oral de “Selplex 50”, espolvoreados sobre la avena humedecida (para asegurar su consumo y según recomendación del fabricante) a los animales que conforman el grupo I, en dosis de 3g/día/yegua, durante el último mes de gestación. Mientras que el grupo II no se suplementó. Durante el período experimental, tanto al “grupo I” como al “grupo II”, no se les modificó la alimentación, ni se hizo distinción en el manejo alimentario de ambos, conservando el régimen de pastoreo y suplementación pre-parto con heno.

#### **4.2.2. Análisis de laboratorio**

Se obtuvieron muestras de sangre heparinizada para cada yegua al inicio de la suplementación con selenio (30 días pre-parto), y a los 7 y 30 días posteriores al parto (muestras de la madre y la cría). Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias (Universidad Austral de Chile) en una caja térmica, para su procesamiento y congelación, para posteriormente determinar la actividad de la GSH-px eritrocítica de la totalidad de las muestras obtenidas durante el muestreo, con el fin de evitar un sesgo entre análisis. La actividad de GSH-px eritrocítica se determinó mediante una técnica cinética NADH-dependiente (Plagia y Valentine, 1967) usando un reactivo comercial\*.

\*Rancel ®. Randox Laboratorios Ltda.. U.K.

### **4.2.3. Análisis estadístico**

En el presente estudio, se ordenaron los datos de los diferentes grupos y tiempos de medición en tablas y gráficos. Se obtuvieron las medias aritméticas y sus respectivas desviaciones estándar. Se analizaron los datos obtenidos, mediante el método no paramétrico de Friedman y Mann Whitney, debido a que los valores obtenidos de los parámetros medidos no tienen una distribución normal y los datos están relacionados entre si.

## 5. RESULTADOS

En el transcurso de esta investigación ocurrió la muerte, por causas indeterminadas, de dos potrillos pertenecientes al “grupo potrillos tratados” el día del nacimiento, reduciendo el número de individuos del grupo a 8 integrantes de los 10 que se pretendían utilizar en la investigación.

Al iniciar la experiencia (medición a los día 30 pre-parto), todos los animales empleados en el estudio tenían una actividad de GSH-px eritrocítica bajo los valores de referencia para la especie (130-270 U/g Hb). Al analizar estos datos se estimó que no existían diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre los grupos tratado y control, a pesar que el valor promedio para el primer grupo fue de 37,4 U/g Hb y 46,8 U/g Hb para el segundo (Tabla 1).

En la segunda medición efectuada antes de los 7 días post-parto, en que se muestrearon tanto las yeguas como sus crías, los valores para la actividad eritrocítica de GSH-px para ambos grupos de yeguas (Tratadas y Control) seguían bajo los valores de referencia, a pesar de que ambos grupos experimentaron un incremento en la actividad de esta enzima. En este caso, se invirtieron los valores observados en la primera medición, ya que en esta oportunidad el grupo de yeguas Tratadas arrojó valores promedios para la actividad de GSH-px de 77,7 U/g Hb, mayor al obtenido para el grupo Control, que fue de 56,8 U/g Hb ( $p>0,05$ ). En cuanto a los grupos de crías, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ) observándose que los valores de actividad de GSH-px para ambos grupos fueron deficitarios, con valores promedios de 71,8 y 69,2 U/g Hb para el grupo Tratados y Control respectivamente (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valores Promedio  $\pm$  D.E en la actividad de GSH-px en yeguas dentro de cada grupo (control y tratado) para cada muestreo realizado (Y; yegua, C; cría).

MUESTREO	GRUPO CONTROL		GRUPO TRATADO	
	YEGUA	CRÍA	YEGUA	CRÍA
<b>30 días preparto</b>	46,8 $\pm$ 22		37,4 $\pm$ 14,5	
<b>07 días posparto</b>	56,8 $\pm$ 21,5	69,2 $\pm$ 13,5	77,7 $\pm$ 22,6	71,8 $\pm$ 12,0
<b>30 días posparto</b>	71,2 $\pm$ 36,1	75,8 $\pm$ 34,3	79,5 $\pm$ 18,7	71,1 $\pm$ 12,4

A los 30 días post-parto, al efectuar la tercera medición de actividad de GSH-px se observó un ligero aumento en la actividad enzimática de GSH-px en las yeguas de ambos grupos como en sus crías. Sin embargo, los valores siguieron siendo deficitarios al compararlos con los valores de referencia para la especie. No obstante se observa una mayor actividad enzimática en las yeguas del grupo Tratado (79,5 U/g Hb) que en las pertenecientes al grupo Control (71,2 U/g Hb), sin embargo este diferencial no representa una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ( $p>0,05$ ). En cuanto a los grupos de las crías, no hubo diferencias estadísticamente significativas para este período de medición en el que el grupo Control presentó un incremento en la actividad promedio de la GSH-px (75,8 U/g Hb), y el grupo Tratado sufrió una leve disminución en estos valores (71,1 U/g Hb) ( $p>0,05$ ).

En cuanto a los valores que se obtuvieron para la actividad de GSH-px dentro de los diferentes grupos de yeguas a lo largo de la experiencia, entre el primer y tercer muestreo realizado, tenemos que entre los individuos del grupo de yeguas Tratadas los valores obtenidos son estadísticamente significativas ( $p<0,05$ ) ya que hubo un incremento desde 37,4 - 79,5 U/g Hb. Lo contrario ocurrió, para este mismo período, en el grupo de yeguas Control en que estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ) ya que los valores obtenidos oscilaron entre 46,8 - 71,2 U/g Hb. En tanto para los grupos de las crías Tratadas y Control no se encontraron diferencias significativas entre los valores al inicio de la investigación y los del final de esta ( $p>0,05$ ).

## 6. DISCUSIÓN

Al analizar el comportamiento de los valores de la actividad de GSH-px en yeguas entre el primer y último muestreo, podemos observar que existe una tendencia acentuada al alza, apreciándose el efecto positivo de la suplementación en este período en el grupo Tratado siendo esta alza estadísticamente significativa, a diferencia del grupo Control, el cual muestra un aumento menos marcado en los niveles de actividad eritrocítica de la enzima ( $p > 0,05$ ). El incremento en los no tratados podría ser explicado por el período del año en que se realizó la experiencia (primavera). En este período, según Rioseco (2001) aumenta la actividad de GSH-px eritrocítica en caballos. Sin embargo, los valores séricos de actividad de GSH-px en ambos grupos nunca superaron el nivel mínimo de referencia para la especie (130 U/g Hb). Lo que se relaciona con algunos signos clínicos observados en el criadero, atribuibles comúnmente a deficiencia de selenio: engrosamiento a nivel del ligamento nuchal y debilidad muscular.

El hecho de que a pesar de la tendencia al alza en los valores para GSH-px sérico en yeguas gestantes suplementadas con seleniolevaduras no alcance los valores mínimos de referencia para la especie, se puede explicar por el hecho que una gran proporción del selenio aportado es traspasado al feto durante la gestación y más tarde es excretado a través de la leche materna (Hill y Redhun, 1985), viéndose fuertemente disminuida la cantidad de selenio retenido por el organismo de la yegua que se encuentra preñada o amamantando. El importante pasaje de este elemento en animales suplementados con selenio orgánico fue demostrado por Peterson y col., (1999), quienes compararon el efecto de la suplementación de Selenio a través de seleniolevaduras (selenio orgánico), con la suplementación con selenito de sodio (selenio inorgánico) en vacas Hereford de crianza. En esa oportunidad los autores observaron que las vacas suplementadas con selenio orgánico lograban mayores concentraciones de este elemento en leche, disminuyendo el depósito de este elemento en su propio organismo, que las que fueron suplementadas con selenio inorgánico, por lo que se deduce que el requerimiento de Selenio por parte del animal gestante o lactando suplementado con seleniolevaduras es elevado y su retención (en organismo) muy baja.

En base a lo anteriormente expuesto podemos concluir que tanto la dosificación como el tiempo de suplementación utilizados en esta experiencia son insuficientes para mantener niveles de actividad de GSH-px dentro de los rangos de referencia para la especie en yeguas gestantes o amamantando. Lo anterior reafirma al observar lo obtenido por Labbé (2005), quien al suministrar 4g/animal/día por 30 días de Selplex-50, logró mantener los niveles de actividad de GSH-px por sobre el nivel mínimo de referencia para la especie por al menos 60 días en caballos machos Criollo chileno selenio deficientes.

En cuanto a las crías, se observó que durante el tiempo que duró la investigación, ninguno de los individuos que conformaban ambos grupos logró presentar niveles por sobre el valor mínimo para la especie en cuanto a actividad de GSH-px, situación que podría relacionarse directamente con el antecedente que en el haras se produce frecuentemente nacimiento de potrillos débiles y con dificultades para mamar. El valor promedio obtenido para la actividad de GSH-px del grupo tratado es mayor, que el del grupo control ( $p > 0,05$ ) en la primera medición, situación que en parte se explica, como se señaló anteriormente, al revisar investigaciones anteriores en que las crías de yeguas suplementadas, en comparación con las crías de yeguas no suplementadas, tienen mayores valores de actividad de GSH-px al nacer, debido al paso de una cantidad importante de selenio vía transplacentaria (Hill y Redhun, 1985). Mientras que en la segunda medición la situación se invierte siendo el grupo tratado el que presenta un valor promedio menor que el exhibido por el grupo control, sin embargo estas alzas no fueron estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) para ningún individuo componente tanto del grupo Tratado o Control.

## 6.1. Conclusiones.

- La administración oral de Selplex (seleniometionina/seleniocisteína) en yeguas gestantes GSH-px eritrocítica deficientes, en dosis de 3 g diarios/animal, durante 30 días previos al parto no logró incrementar la actividad de la enzima por sobre el valor mínimo de referencia para la especie dentro de los 7 días pos-parto y a los 30 días post parto
- Para el caso de las crías, estas presentaron valores de GSH-px eritrocítica bajo los valores de referencia al nacimiento en ambos grupos y, dichos valores no aumentaron por sobre el valor mínimo de referencia a los 30 días post parto.
- Selplex en la dosis y extensión del período en el cual fue utilizado fue insuficiente para prevenir la deficiencia de GSH-px eritrocítica en crías de yeguas deficitarias durante la gestación.

## 7. BIBLIOGRAFIA

**ALAEJOS, M.S y C.D. ROMERO.** 1995. Selenium concentrations in milk. *Food Chemistry*. 52: 1-18

**ARAYA O.** 1997. Esteatosis y Miodistrofia Nutricional en Equinos: casuística hospitalaria UACH. En: Estrés Oxidativo y Antioxidantes en la Salud y Nutrición Animal. Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. pp: 36-38.

**ARAYA O.** 2003. Deficiencia de selenio en caballos en Chile. *Caballo chileno*. 2: 13-16.

**ARAYA O., R. URZÚA, H. BUSTAMENTE.** 2004. Efecto del selenato de bario inyectable sobre la actividad de Glutación peroxidasa en caballos a pastoreo. *Arch Med Vet* 36: 31-37.

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

**AMMERMAN, R. A., S.M. MILLER.** 1975. Selenium in ruminant nutrition. *J Dairy Sci* 58: 1561-1577.

**BEECH J.** 1988. Nutritional myopathy. In: Proceedings of the 10<sup>th</sup>. Baint.fallow Memorial Lectures. Equine Diagnostics and Therapeutics. Adelaide, Australia: 54-55.

**BENEDITO J.L.** 1997. Glutación peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. *Arch Med Vet* 29: 171-180.

**BLOOD, D.C., O.H. RADOSTITS, J.H. ARUNDEL, C.C. GAY.** 1992. Medicina Veterinaria., 7<sup>a</sup> ed., Ed. Interamericana, Madrid.

**BRUERE, A. N., D. M. WEST.** 1993. The sheep: health, disease and production. Massey University. México.

**CANTHER, H.E., D.C. HAFEMAN, R.A. LAWRENCE.** 1976. Selenium and glutathione peroxidase in health and disease. *A review, Trace Elements in Human Health and Disease* 2: 165-236.

**CAPLE IW., SJA. EDWARDS, WM. FORSYTH, P. WHITELEY, RH. SELTH, LJ. FULTON.** 1978. Blood glutathione peroxidase activity in horses in relation to muscular dystrophy and selenium nutrition. *Aust Vet J* 54: 57-60.

**CEBALLOS, A. 1996.** Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa como indicador del estado metabólico nutricional de Se en rebaños lecheros. Tesis Mag. Sci. Universidad Austral de Chile. Escuela de Graduados, Facultad de ciencias Veterinarias. Valdivia, Chile.

**CEBALLOS, A., F. WITTWER. 1996.** Metabolismo del selenio en rumiantes. *Arch Med Vet* 28: 5-18.

**CEBALLOS, A., F.G. WITTWER, P.A. CONTRERAS, E. QUIROZ, H. BÖHMWALD. 1999.** Actividad de Glutatión peroxidasa en bovinos a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. *Pesq Agrop* 34: 2331-2338.

**CHURCH, D. C., W. G. POND. 1994.** Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. 2ª ed., Editorial LIMUSA, S. A de C. V. México.

**DILL, SG., WC. REDHUN. 1985.** White Muscle Disease in Foals, *Compend Cont Educ Prac Vet* 7: 627-635.

**FRANKE, K. W. 1934.** A new toxicant occurring naturally in certain samples of plants foodstuffs. I. Results obtained in preliminary feeding trials. *J Nutr* 8: 597-598.

**GISSEL-NIELSEN, G., U.C. GUPTA, M. LAMAND, T. WESTERMACK. 1984.** Selenium in soils and plants, and its importance in livestock and human nutrition. *Adv Agr* 37: 397-460.

**HAMLIRI, A., D.W. JOHNSON, M. KESSABI, W.G. OLSON. 1990.** The evaluation of selenium status of sheep from the major production areas of Morocco, *Ann Rech Vet* 21: 137-142.

**HEATH SE. 1995.** Clinical Evaluation of Muscle and Muscular Disorders. In: The Horses. Disease and Clinical Management. Vol.2. Ed. By CN Kobluck and col. W.B. Saunders Co, London.

**HILL, F.I., T.K. WYETH, A.F. DEATH. 1992.** Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase levels of unsupplemented and supplemented alpacas in New Zealand. En: Trace Elements: Roles, risks and remedies. Proceedings of the New Zealand Trace Elements Group Conference, New Zealand. pp. 135-140.

**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 Equine Vet* 22: 213-220.

**JUKOLA, E.** 1994. Selenium and vitamin E, vitamin A and beta-carotene status of cattle in Finland, with special reference to epidemiological udder health and reproduction data. Academic dissertation. College of Veterinary Medicine, Section of Animal hygiene. Helsinki, Finland. Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine. Uppsala, Sweden.

**KRISHNAMURTI CR, RAMBERG CF, SHARIFF MA.** 1989. Kinetic modeling of selenium metabolism in nonpregnant ewes, *J. Nutr.* 119: 1146-1155.

**LABBÉ, T.** 2005. Efecto de la administración oral de selenio metionina/cisteína sobre la actividad de Glutatión peroxidasa eritrocítica en caballos Criollo Chileno. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.

**LEVANDER, O. A.** 1986. Selenium. En: MERTZ, W. 1986. Trace elements in human and animal nutrition. Vol. 2. 5ª ed., Academic Press, Inc. Orlando.

**LOFSTEDT, J.** 1997. White muscle disease of foals. *Vet Clin North Am Equine Pract* 13: 169-183.

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

**MACKINTOSH, C.G., J. GILL, K. TURNER.** 1989. Selenium supplementation of young red deer (*Cervus elephus*), *N. Z Vet J* 37: 143-145.

**MC DOWELL, L.R.** 1992. Minerals in Animal and Human Nutrition. Academic Press, Inc. U.S.A

**MAYLIN, G. A., D. RUBIN, D. LEIN.** 1980. Selenium and vitamin E in horses. *Cornell Vet* 70: 272-289.

**MOORE, R. M., C. W. KOHN** 1991. Nutricional Muscular Dystrophy in Foals. *Comp Cont Ed Pract Vet* 13: 343-349.

**NATIONAL RESEARCH COUNCIL, SUBCOMMITTEE ON SELENIUM.** 1983. Selenium in Nutrition. Revised Edition. National Academic Press. Washington, D.C.

**OH, S., H. E. GANTHER, W. G. HOEKSTRA.** 1974. Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes. *Biochemistry.* 13: 1825-1829.

**OBLITAS, F.** 1997. Evaluación de una suplementación con selenio en bovinos lecheros a pastoreo. Tesis Mag. Sci. Universidad Austral de Chile, Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias Veterinarias. Valdivia, Chile.

**PULS, R.** 1994. Minerals levels in animal health. Diagnostic data. Sherpa International. Clearbrook, British Columbia. Canadá.

**SANDHOLM, M.** 1980. Biological and clinical aspects of selenium. IV International Conference on Production Disease in Farm Animals. München, Germany, pp. 247-253.

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

**STEVENS, J.B., W.G. OLSON, B.S. KRAEMER, B.S. ARCHAMBEAU.** 1985. Serum selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in cattle grazing forages of various selenium concentrations, *Vet Res* 46: 1556-1560.

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

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

**WHEATLEY, L.E., F.G. BECK.** 1988. The influence of season and husbandry on the selenium status of sheep in a deficient area, *Br Vet J* 144: 246-251.

**WINTZER, ZHJ.** 1986. Equine Diseases. Verlag-Parey, Berlin.

**WITTWER, F.G., A. CEBALLOS, P.A. CONTRERAS, H. BÖHMWALD.** 1997. Actividad sanguínea de Glutathión peroxidasa en bovinos a pastoreo y correlación con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. XXII Reunión Anual. Sociedad Chilena de Producción Animal, Valdivia, Chile, pp. 183-184.

## 8. ANEXOS

**Anexo 1.** Variación individual en la actividad de GSH-px eritrocítica en yeguas y crías del grupo Control (sin suplementación mineral), durante la experiencia (Y: Yegua, C: Cría)

<i>Nombre yegua</i>	<i>Medición 30 días pre-parto (U/gr Hb)</i>	<i>Medición 7 días pos-parto (U/gr Hb)</i>	<i>Medición 30 días pos-parto (U/gr Hb)</i>
Kaublona	Y:57	Y:31 C:65	Y:21 C:30
Fonetica	Y:78	Y:82 C:83	Y:106 C:88
Kriptonita	Y:45	Y:40 C:77	Y:105 C:124
Farisea	Y:33	Y:58 C:48	Y:53 C:64
Ellalihuen	Y:21	Y:73 C:73	Y:71 C:73
<b>Media</b>	<b>Y:46,8</b>	<b>Y:56,8 C:69,2</b>	<b>Y:71,2 C:75,8</b>
<b>D.E</b>	<b>Y:22</b>	<b>Y:21,5 C:13,5</b>	<b>Y:36,1 C:34,3</b>

**Anexo 2.** Variación individual en la actividad de Gsh-px eritrocítica en yeguas y crías del grupo Tratado (con suplementación mineral), durante la experiencia (Y; yegua, C; cría).

<i>Nombre yegua</i>	<i>Medición 30 días pre-parto (U/gr Hb)</i>	<i>Medición 7 días pos-parto (U/gr Hb)</i>	<i>Medición 30 días pos-parto (U/gr Hb)</i>	<i>Observaciones</i>
Heggert	Y:36	Y:72 C:79	Y:69 C:82	
Juica	Y:28	Y:88 C:71	Y:90 C:84	
Nancahua	Y:47	Y:80 C:84	Y:73 C:65	
Nacrita	Y:62	Y:103 C:55	Y:85 C:50	
Piastra	Y:22	Y:57 C:0	Y:50 C:0	Muere cría
Ofrenda	Y:30	Y:119 C:86	Y:98 C:67	
Improvida	Y:15	Y:88 C:79	Y:58 C:60	
Nueva Era	Y:53	Y:58 C:0	Y:78 C:0	Muere cría
Fada	Y:36	Y:67 C:64	Y:114 C:82	
Noticia	Y:45	Y:45 C:57	Y:80 C:79	
<b>Media</b>	<b>Y:37,4</b>	<b>Y:77,7 C:71,8</b>	<b>Y:79,5 C:71,1</b>	
<i>d.e</i>	<b>Y:14,5</b>	<b>Y:22,6 C:12,0</b>	<b>Y:18,7 C:12,4</b>	

## 9. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a mi familia que a estado siempre a mi lado, incentivándome y respaldando mis proyectos de vida, y en especial a Paula con quien espero poder cumplirlos.

Al Dr. Oscar Araya, por su tiempo y conocimientos entregados durante mi paso por la universidad y por sobre todo en la finalización de la carrera.

Agradezco profundamente a todos quienes formaron parte de mi vida universitaria, en cualquiera de sus aspectos; Amistades, compañeros de curso, etc, ya que todos marcaron algo en mi y me enseñaron la diversidad del mundo.

No merece menos que una “Mención Especial” el doctor Nestor Tadich, quien a través de sus consejos, conversaciones e incluso de sus clases, fue unos de los personajes que marcó mi paso por esta institución y aportó en forma importante a que este período fuese y finalizase como uno de los mejores de mi vida.