



11674

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

DESARROLLO DE UN BOLO INTRA-RUMINAL PARA LA
LIBERACIÓN PROLONGADA DE YODO Y SELENIO Y SU
EVALUACIÓN EN GANADO BOVINO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A :

ENRIQUE AMADOR GONZÁLEZ

TUTOR: DRA. RAQUEL LÓPEZ ARELLANO

COMITÉ TUTORAL:

DR. JORGE TÓRTORA PÉREZ

DR. MAXIMINO HUERTA BRAVO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO.

2005

m 345159



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal

OFICIO/FES-C/CPMyDCPySA/ST/CGEP/002/II/2005

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ASUNTO: Designación de Jurado.

BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE
JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACION DE POSGRADO
DE LA DIRECCION GENERAL DE ADMINISTRACION ESCOLAR
Presente.

El Comité Académico del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal autoriza al alumno **ENRIQUE AMADOR GONZALEZ**, registrado con el número de cuenta **8408581-8**, para presentar su examen de grado de **Maestro en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal**, con la tesis titulada "Desarrollo de un dispositivo intra-ruminal para la liberación prolongada de yodo y selenio y su evaluación en ganado bovino" a quien se le ha designado el siguiente jurado:

Presidente:	DR. RENE ROSILES MARTINEZ
Vocal:	DR. MAXIMINO HUERTA BRAVO
Secretario:	DR. JORGE TORTORA PEREZ
Primer Suplente:	DR. EFRÉN RAMÍREZ BRIBIESCA
Segundo Suplente:	DR. RAQUEL LOPEZ ARELLANO

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cauatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 6 de enero del 2005.

DR. FRANCISCO SUAREZ GÜEMES
COORDINADOR DEL PROGRAMA

C.c.p. Exp. de alumno
C.c.p. Archivo
FSG/HRA/mrc

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Av. 1º de mayo S/N, Campo 1, Edificio de Estudios de Posgrado,
Apartado Postal 25, Cuautitlán Izcalli, Estado de México. CP 54700
Tel.: 5623-2018. Fax: 5868 2489



AGRADECIMIENTOS



A la Universidad Nacional Autónoma de México por todo lo que de ella he recibido y porque en ella cumplo el sentido mi vida, enseñar y aprender todos los días.

A la Universidad Autónoma Chapingo, al Dr. Maximino Huerta Bravo, al Dr. José Guadalupe García Muñiz, y al M. en C. Oscar Enrique del Razo Rodríguez pues han sido parte fundamental de este trabajo.

Al Dr. Jorge Tórtora Pérez y al Dr. Efrén Ramírez Bribiesca por su excelente revisión y valiosas sugerencias y comentarios para enriquecer la tesis.

A Mis Profesores en el Posgrado: la Dra. Patricia Ramírez, Dra. Raquel López Arellano, Dr. Maximino Huerta, al M. en C. José Manuel Morales, a la Dra. Helgi Jung, al Dr. Guillermo Valdívía, al Dr. René Rosiles, y a todos aquellos que me brindaron su apoyo y me orientaron para consolidar mis estudios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

DEDICATORIAS

A Mí Esposa Lucy y a Mí Hija Andy por todo su Amor, Apoyo, y Entusiasmo.

Este trabajo está dedicado principalmente a la amistad, a la gente buena: A Griselda Gaytan, Juan Carlos Valadéz, Rocío González y Karina Sandoval.

A Mís Tesistas: Maribel Hernández, Marisela Sánchez, Rubén Mendoza, Beatriz Magaña, Griselda Gaytan, Sandra Tecocuatzi, Yesenia Díaz, Guadalupe Álvarez, Silvia Mendoza, Héctor Rojo, José Juan Rodríguez, Maribel Sánchez, Gabriela Gutiérrez, Claudia Emperatriz, Kenia Maya, Belem de la Cruz, e Israel Sánchez. Por su confianza.

A Guadalupe Álvarez, Araceli Guerrero, Adriana Morales, Norma Aidee Lugo, Silvana Mashenka Robles, y a Oscar Galíndez pues son lo mejor que tiene el LEM-Farmacia.

A ti que tienes un corazón con razones, un corazón que alumbra, un corazón como el cielo, un corazón que va lejos, un corazón que regala, un corazón que busca, un corazón que encuentra, un corazón joven, un corazón limpio, un corazón que habla, un corazón que espera, un corazón que desea, un corazón incansable, un corazón abierto, un corazón fecundo, un corazón que ama, un corazón libre.....TE AMO.

INDICE GENERAL

	Página
INDICE GENERAL	I
INDICE DE TABLAS	III
INDICE DE FIGURAS	IV
INTRODUCCIÓN	V
1. YODO	1
1.1. Yodo en Forrajes	2
1.2. Alimentos para el Ganado	2
1.3. Yodo en Leche	2
1.4. Metabolismo del Yodo	3
1.4.1. Manifestaciones bioquímicas de la privación de yodo.	3
1.4.2. Manifestaciones clínicas de la disfunción tiroidea.	3
1.5. Requerimientos de Yodo	5
1.5.1. Mantenimiento	5
1.5.2. Lactación	6
2. SELENIO	6
2.1. Química del Selenio	6
2.2. Metabolismo del Selenio en Plantas	7
2.3. Metabolismo del Selenio en Mamíferos	10
2.4. Selenio Inorgánico: Selenito vs. Selenato	11
2.5. Selenio Orgánico	13
2.6. Síntesis de Selenoproteínas	14
2.7. Deficiencia de Selenio	15
2.8. Suplementación de Selenio para Rumiantes	17
2.8.1. Métodos para la suplementación de selenio	18
2.8.2. Bolos intrarruminales	19
2.9. Requerimientos de Selenio	21
3. INTERACCIONES ENTRE YODO Y SELENIO	22
3.1. Síntesis de Hormonas Tiroideas	24
3.1.1. Transporte activo de yodo	25
3.1.2. Yodinación de residuos de tirosilo en tiroglobulina	26
3.1.3. Acoplamiento de residuos de tirosilo yodinados para producir hormonas tiroideas	26
3.1.4. Proteólisis y liberación de hormonas tiroideas	27
3.1.5. Producción de hormonas tiroideas: adaptación a la deficiencia de yodo	27
3.1.6. Deficiencia de selenio y yodo en la tiroides	27
3.2. Deficiencia de Selenio y Yodo en los Animales	28
3.2.1. Deficiencia de yodo	28
3.2.2. Deficiencia de selenio	28
3.2.3. Deficiencia de yodo y selenio en cerebro	29
3.2.4. Deficiencia de yodo y selenio en tejido adiposo pardo	29
3.2.5. Deficiencia de selenio y yodo: respuesta diferente por especie	30
4. OBJETIVOS	31
5. HIPÓTESIS	31

	Página
6. MATERIAL Y MÉTODOS	32
6.1. Formulación de Bolos Intra-ruminales Etapa 1	32
6.2. Formulación de Bolos Intra-ruminales Etapa 2	33
6.3. Fabricación de Bolos Intra-ruminales	33
6.4. Administración de Bolos a Bovinos Lecheros	34
6.4.1. Localización	34
6.4.2. Clima	35
6.4.3. Tratamientos	35
6.4.4. Manejo de animales en etapa 1	35
6.4.5. Manejo de animales en etapa 2	35
6.4.6. Manejo de alimentación	35
6.4.7. Muestras de sangre	36
6.5. Variables de Respuesta	37
6.5.1. Concentración de selenio en plasma	37
6.5.2. Concentración de selenio en leche	38
6.5.3. Concentración de hormonas tiroideas (T3 y T4)	39
6.6. Diseño Experimental y Modelo Estadístico	41
7. RESULTADOS	43
7.1. Etapa 1	43
7.1.1. Dimensiones físicas y densidad de los bolos	43
7.1.2. Perfiles plasmáticos de selenio	44
7.1.3. Concentración de selenio en leche	48
7.1.4. Perfiles plasmáticos de Triyodotironina (T3)	50
7.1.5. Perfiles plasmáticos de tiroxina (T4)	53
7.1.6. Análisis de correlación entre T3 vs. La concentración de selenio en plasma	56
7.1.7. Análisis de correlación entre T4 vs. La concentración de selenio en plasma	58
7.2. Etapa 2	60
7.2.1. Dimensiones físicas y densidad de los bolos	60
7.2.2. Perfiles plasmáticos de selenio	62
7.2.3. Concentración de selenio en leche	65
7.2.4. Análisis de correlación entre la concentración de selenio en leche vs. La concentración de selenio en plasma	70
8. DISCUSIÓN	72
9. CONCLUSIONES	77
10. REFERENCIAS	80
ANEXOS	92

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Contenido	Página
1	Especies de selenio en organismos vivientes	7
2	Diversas enfermedades y/o condiciones que responden a la suplementación de selenio	15
3	Formulaciones para bolos en primera etapa	32
4	Formulaciones para bolos en segunda etapa	33
5	Modelos que describen la relación entre T3 y la concentración de selenio en plasma	56
6	Modelos que describen la relación entre T4 y la concentración de selenio en plasma	58
7	Dimensiones físicas de los bolos en etapa 2	60
8	Modelos que describen la relación entre la concentración de selenio en leche y la concentración de selenio en plasma	70
9	Condición del animal en función de la concentración de selenio en plasma y sangre total de acuerdo con Puls	73

INDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Ruta de asimilación de sulfato y ruta propuesta para la asimilación de selenato en plantas superiores	9
2	Destino metabólico del selenio en el cuerpo humano	10
3	Esquemas propuestos para el destino metabólico del selenio inyectado en sangre en forma de selenito.	12
4	Modelo esquemático para la síntesis de selenocisteína en mamíferos	14
5	Corazón de un becerro severamente dañado por la enfermedad del músculo blanco	16
6	Bolos densos	20
7	Bolos para administración de selenio a rumiantes	20
8	El mecanismo de síntesis de las hormonas tiroideas	25
9	Diagrama de flujo para la fabricación de los bolos	34
10	Animales y praderas usados en el estudio	36
11	Equipo	40
12	Fotografías de los bolos de selenio etapa 1	43
13	Concentración plasmática de selenio en función del tiempo (etapa 1)	45
14	Concentración de selenio en leche en función del tiempo (etapa 1)	48
15	Perfiles plasmáticos de Triyodotironina (T3)	51
16	Perfiles plasmáticos de tiroxina (T4)	54
17	Gráficos de ajuste del modelo para T3 en función de la concentración plasmática de selenio	57
18	Gráficos de ajuste del modelo para T4 en función de la concentración plasmática de selenio	59
19	Fotografías de bolos etapa 2	61
20	Concentración plasmática de selenio en función del tiempo (etapa 2)	62
21	Concentración de selenio en leche en función del tiempo	66
22	Gráficos de ajuste del modelo de la concentración de selenio en leche vs. La concentración plasmática de selenio.	71

INTRODUCCIÓN

Los minerales denominados esenciales son requeridos básicamente para el funcionamiento normal de todos los procesos bioquímicos en el organismo.

Aquellos que se requieren en mayor cantidad son referidos como macrominerales y este grupo incluye al Calcio, Fósforo, Sodio, Cloro, Potasio, Magnesio y Azufre. Aquellos elementos requeridos en cantidades menores son referidos como minerales traza. Este grupo incluye al cobalto, cobre, yodo, hierro, manganeso, molibdeno, selenio, zinc, y quizá al cromo y al flúor (NRC 2001).

Los minerales cumplen un importante papel en la nutrición porque aunque no proporcionan energía son esenciales para la utilización y síntesis biológica de nutrientes. En muchos establos lecheros existen problemas de deficiencia de uno o más de ellos; sin embargo, los cuadros carenciales se presentan en forma subclínica pro lo que no son fácilmente diagnosticados. Este tipo de deficiencia podría causar pérdidas importantes en producción de leche debido a que los minerales cumplen un rol importante en la síntesis misma de la leche, en el metabolismo y la salud en general del animal.

Huerta (2002) menciona que la situación del metabolismo mineral en rumiantes en pastoreo depende de las características del suelo, de las especies forrajeras, del tipo de producción y de las prácticas de manejo de los forrajes y animales. Diversas regiones de México presentan deficiencias naturales de minerales, las cuales pueden ser agravadas por las prácticas de manejo. La extracción continua de productos animales, sin la reposición de minerales al suelo, provoca su empobrecimiento. Asimismo, la intensificación de la producción mediante sistemas de pastoreo modernos o practicas de fertilización con macro-elementos provoca que las reservas de micro-elementos en el suelo disminuyan. Por otro lado, el incremento de la producción mediante el mejoramiento genético incrementa las demandas de minerales en los animales. Por estas razones, la necesidad de suplementar minerales a los animales en pastoreo es cada vez mayor.

La función bioquímica del yodo en los mamíferos es como un componente de las hormonas tiroideas las cuales son necesarias para el crecimiento y desarrollo normal (Zagrodzki et al., 1998).

La Tiroxina (T4), el principal producto de la glándula tiroidea es biológicamente inactiva pero la 5'-monodesyodación de T4 produce el metabolito activo, Triyodotironina (T3). Las enzimas desyodinasas responsables de la conversión de T4 a T3 son selenoenzimas que contienen selenio en forma de selenocisteína en sus sitios activos (Arthur et al 1991). La participación del selenio en la regulación del metabolismo de las hormonas tiroideas es el fundamento de las interacciones entre las deficiencias de selenio y de yodo (Beckett y Arthur 1994; Larsen y Berry 1995; Arthur et al., 1996). Adicionalmente, se requiere de peróxido de hidrógeno para la oxidación del yodo antes de la yodación de los residuos de tirosina en la síntesis de las hormonas tiroideas. De la misma forma en que es esencial, el peróxido de hidrógeno es potencialmente dañino para las células tiroideas, las cuales son protegidas por glutatión peroxidasa intracelulares que contienen selenio. El selenio es también un componente de la glutatión peroxidasa extracelular, una enzima que puede regular la función tiroidea modulando los niveles de peróxido de hidrógeno en el lumen folicular (Zagrodzki et al., 1998).

Las manifestaciones clínicas de la deficiencia de yodo incluyen el bocio, deterioro del desarrollo cerebral, trastornos reproductivos, mortalidad postnatal y retardo en el crecimiento, desordenes en el tegumento, y baja producción de leche (Underwood y Suttle, 1999). Por su parte, la deficiencia de selenio está relacionada con diferentes enfermedades y desordenes en el ganado como la enfermedad del músculo blanco, la retención placentaria, abortos, mortinatos, debilidad neonatal, diarrea, desmedro, supresión de la respuesta inmune, y problemas de infertilidad (Gates y Johnson).

En la mayor parte del mundo, el yodo es un componente escaso en el suelo y por lo tanto hay poco en los alimentos. Por su parte, la deficiencia de Selenio se ha reportado en forrajes de Veracruz (Barradas, 1980), Hidalgo (Spross, 1982; Strouth, 1985), Texcoco e Hidalgo (Escobosa et al., 1978), Toluca (Díaz et al., 1994), y Tlaxcala. (Ramírez, 1995). La deficiencia afecta principalmente a caprinos (Ramírez, 1995), ovinos (Díaz et al., 1994) y bovinos (Rosiles et al., 1993; De Aluja, 1981).

Por lo antes expuesto, es de interés el desarrollo de un sistema capaz de aportar en forma controlada Yodo y Selenio considerando las necesidades de los animales productores de alimentos, principalmente carne y leche, y los problemas asociados con la administración de medicamentos y suplementos a estos animales, el mercado potencial es enorme y representa una oportunidad única para el desarrollo de formulaciones prácticas y efectivas. Este proyecto visualiza el desarrollo de un dispositivo intrarruminal de liberación prolongada para la suplementación de Yodo y Selenio a ganado bovino lechero.

1. YODO

La deficiencia de yodo resulta en una anomalía clínica caracterizada por el aumento en el tamaño de la glándula tiroides o "bocio", fácilmente reconocido y específico de esta deficiencia. Los intentos por tratar el bocio se remontan a cientos de años atrás, pero la relación entre el yodo y el bocio emergió en el siglo XIX con el descubrimiento de que las sales de yodo podían ser usadas exitosamente para el tratamiento del bocio en humanos y que la presencia de bocio endémico estaba inversamente correlacionado con las concentraciones de yodo en el suelo, alimentos y agua. Las manifestaciones resultaban similares a las que se presentaban en animales y ambas respondían a la administración de extractos de la glándula tiroides. Se demostró entonces que el yodo era constituyente normal del cuerpo, altamente concentrado en la glándula tiroides y disminuido en concentración en glándulas tiroideas con bocio. Unos 20 años después de estos descubrimientos, el principio activo de la glándula tiroides fue aislado, identificado como tetraiodotironina (T4) y nombrado como Tiroxina (Harington, 1953). Posteriormente se demostró la existencia de la triiodotironina (T3) que circulaba en sangre a bajas concentraciones, la cual posee tres a cuatro veces más potencia que la tiroxina. Extensas áreas deficientes en yodo fueron descubiertas en todo el mundo, y el bocio fue gradualmente controlado a través de la suplementación de yodo en la sal. Más recientemente la atención se ha centrado sobre los efectos adversos provocados por la deficiencia de yodo sobre el desarrollo del sistema nervioso central, que puede ocurrir tanto en humanos como en animales de granja (Hetzl, 1991), y también la asociación fisiológica del selenio en el metabolismo del yodo (Beckett y Arthur, 1994)

Los factores que limitan la capacidad de la tiroides humana para mantener su estructura y función, aplican igualmente a los animales de granja y responden a la suplementación de yodo. Estos factores son:

- a) Una gran deficiencia ambiental de yodo
- b) La presencia de constituyentes en la dieta, llamados bociógenos (goitrógenos), los cuales interfieren con la síntesis de hormona tiroidea limitando la capacidad de la glándula para "atrapar" yodo o para incorporar este yodo en sustancias activas.
- c) El suministro en la dieta de otros elementos traza, como el selenio o hierro, que tienen influencia sobre el metabolismo del yodo.
- d) Factores ambientales, como el estrés por frío que incrementa el metabolismo basal.

Como factor central en la regulación metabólica la actividad de la tiroides tiene influencia sobre funciones productivas, como la producción de leche, huevo, lana, y el desempeño o la función reproductiva (Underwood y Suttle, 1999).

1.1. Yodo en Forrajes

Las plantas contienen yodo en cantidades muy variables, debido a diferencias en especie, condiciones climáticas, temporada (estación del año), y en menor grado al tipo de suelo y al tratamiento de fertilización recibido; las interacciones entre estos factores también son importantes. Suelos con altas concentraciones de yodo, como los de arcilla y los aluviales, generalmente producen plantas más ricas en el elemento, que suelos con bajos niveles de yodo como aquellos derivados del granito (Groppe y Anke, 1986), y la composición botánica de las pasturas puede influenciar enormemente el consumo de yodo.

1.2. Alimentos para el Ganado

Los alimentos para el ganado varían enormemente en su contenido de yodo. Los cereales y harinas de oleaginosas son pobres en el elemento y las harinas de pescado extremadamente ricas. La concentración de yodo en las algas marinas puede ser tan alta como 4-6 g/kg DM (materia seca) y pueden obtenerse enormes incrementos en el contenido de yodo en leche o huevo alimentando vacas o gallinas con grandes cantidades de algas marinas (Underwood y Suttle, 1999).

1.3. Yodo en Leche

El contenido de yodo en la leche es extremadamente variable en todas las especies, debido a la facilidad con que este elemento pasa la barrera mamaria. La concentración de yodo en la leche bovina se incrementa linealmente con el consumo en la dieta, la recuperación en leche es de aproximadamente el 30% del consumo. El contenido de yodo en la leche está influenciado también por la etapa de lactación. El calostro es de dos a tres veces más rico en yodo que la leche promedio de una lactación completa y existe una caída en la concentración hacia el final de la lactación (Underwood y Suttle, 1999).

1.4. Metabolismo del Yodo

Al igual que todos los elementos aniónicos, el yodo es absorbido eficientemente desde el tracto gastrointestinal y esto permite que el yodo secretado antes de los sitios de absorción sea reciclado. Mientras que el fósforo en los rumiantes es reciclado por la saliva, el yodo es reciclado con la secreción en el abomaso (Miller et. al. 1974). El yodo absorbido es transportado en sangre unido débilmente a proteínas plasmáticas. La actividad de una sodio-potasio ATPasa en la glándula tiroides captura el 90% del yodo que pasa a través del órgano (Hetzl y Welby, 1997). Aproximadamente el 80% del yodo en los mamíferos se encuentra en la glándula tiroides, pero parte se acumula en otros tejidos como músculo e hígado cuando es consumido en exceso (Downer et al, 1981).

1.4.1. Manifestaciones Bioquímicas de la Privación (pérdida o suspensión) de Yodo

Con la privación de yodo, ocurren una serie de cambios bioquímicos. En la fase de depleción inicial, las concentraciones de yodo en la tiroides declinan; aunque el órgano es pequeño (4g peso seco en la vaca adulta), la cantidad de yodo almacenado puede ser sustancial (8-16 mg) en relación a la cantidad mínima necesaria por día (0.3 mg de yodo/ día en vaquillas; McCoy et al, 1997). Durante la fase de deficiencia, las formas de yodo presentes en la glándula tiroides cambian desproporcionalmente en un intento por mantener la homeostasis del yodo y por utilizar el limitado suministro en forma más eficiente. Los cambios incluyen una síntesis preferencial de T3 sobre T4 y un incremento en la proporción de T1 a T2. Cambios adaptativos en las actividades de selenoenzimas confirman su participación en la función tiroidea. Un incremento entre 10 a 12 veces en la actividad de ID1 ha sido reportada en la tiroides de vaquillas y sus crías recién nacidas, privadas de yodo (Zagrodzki, 1998). El incremento en la actividad de la Glutación Peroxidasa Citosólica en la tiroides refleja el incremento en la generación de peróxidos en una glándula hiperactiva.

1.4.2. Manifestaciones Clínicas de la Disfunción Tiroidea

Bocio. La manifestación clínica obvia de la privación de yodo es el crecimiento de la glándula tiroides, el grado de aumento en su tamaño se incrementa con el grado y la duración de la privación de yodo. Este fenómeno representa un intento por compensar la deficiente producción de hormonas tiroideas. El bocio se manifiesta predominantemente en animales recién nacidos (Underwood y Suttle, 1999).

Deterioro del desarrollo cerebral. Estudios con ovejas preñadas alimentadas con una dieta extremadamente deficiente (5-10 µg de yodo/kg DM) mostraron que la deficiencia puede resultar en un deterioro del desarrollo cerebral en el feto, incremento de nacidos muertos y sin lana. Las anomalías cerebrales son revertidas proporcionando yodo durante el tercer trimestre (Potter et al, 1981, 1982).

Trastornos reproductivos. El desarrollo fetal puede detenerse en cualquier etapa durante la disfunción tiroidea resultando en muerte temprana y absorción embrionaria, aborto, mortinatos, o el nacimiento de productos débiles sin pelo con bajo peso al nacer, pero tales problemas no son indicadores inequívocos de la deficiencia en yodo (Smyth et al, 1992). La necesidad de las hormonas tiroideas para producir surfactante pulmonar puede ser un factor importante que determine la viabilidad del recién nacido (Erenberg et al., 1974). La infertilidad o esterilidad y pobres tasas de concepción con estró irregular o suprimido, pueden ser manifestaciones de disfunción tiroidea en vacas y han sido atribuidas al aumento en la pérdida de yodo en el pico de la lactación, poco después de ocurrido el apareamiento (Hemken, 1960). La fertilidad de los machos también resulta afectada, con disminución en la libido y deterioro de la calidad del semen como características de una deficiencia de yodo en carneros y toros. En machos privados de yodo, los testículos permanecen pequeños y sin espermatozoides (Underwood y Suttle, 1999).

Mortalidad postnatal y retardo en el crecimiento. En áreas donde la deficiencia de yodo es poco severa, la presencia de bocio clínico es baja y variable de acuerdo con la estación del año, la productividad animal puede verse severamente perjudicada. En un rebaño de ovejas Polwarth en Tasmania con sólo un mínimo aumento en el tamaño de la tiroides, fue reportada una mortalidad de corderos del 36% (King, 1976). Mejoras significativas en el peso al nacer, tasa de sobrevivencia y tasa de crecimiento de corderos merino se obtuvieron en Queensland cuando se les suministró yodo adicional (Knights 1979). Estos hallazgos junto con los de Andrewartha et al., (1980) en el este de Australia y McGowan (1983) en Nueva Zelanda, sugieren la posibilidad de respuestas significativas en producción, con la suplementación de yodo, en áreas donde la presencia de bocio es ligera. Dada la importancia en la termogénesis del tejido adiposo pardo (BAT, Brown Adipose Tissue) para los animales nacidos en ambientes fríos, la deficiencia de yodo puede aumentar la susceptibilidad al estrés por frío (Arthur et al., 1992).

Desordenes en el tegumento Se han señalado cambios en la piel, pelo, lana y plumas en la disfunción tiroidea. Cerdos y becerros nacidos de madres privadas de yodo frecuentemente no tienen pelo y poseen una piel delgada y gelatinosa debido a edema subcutáneo. Este fue uno de los primeros signos de deficiencia en animales de granja en regiones bociógenas y ha sido experimentalmente reproducido en lechones (Sihombling, 1974). Deficiencias menos severas reflejan cambios menores, como piel áspera y seca, lana escasa y poco pelo. La cantidad y calidad reducida de la lana en ovejas ha sido ampliamente relacionada con el bocio. La insuficiencia tiroidea en el animal joven, perjudica permanentemente la calidad de la lana en el adulto, debido a que el desarrollo normal de los folículos secundarios productores de lana, requiere de una actividad tiroidea superior a la necesaria para el crecimiento corporal general (Ferguson et al., 1956). La suplementación de yodo en ovejas carenciadas ha incrementado la producción de lana en 6% (Statham y Koen, 1981).

Baja producción de leche. La reducción en la producción de leche es característica importante de la deficiencia de yodo en vacas lecheras y pueden ocurrir en todos los mamíferos. El estado hipotiroideo inducido por la alimentación prolongada con alimentos bociógenos, es acompañada por pérdida del apetito, perjudicando el crecimiento y deprimiendo la producción de leche (Hill, 1991)

1.5. Requerimiento de Yodo

1.5.1. Mantenimiento.

La producción diaria de tiroxina en ganado no lactante, en crecimiento y adulto es de 0.2 a 0.3 mg de tiroxina/100 kg de peso corporal, que corresponde a 0.13 a 0.2 mg de yodo (Miller et al., 1988). Miller et al. (1988) sugirieron que aproximadamente 30% del yodo de la dieta es utilizado por la glándula tiroides para sintetizar tiroxina y que a su vez 15% del yodo que es usado para sintetizar la hormona cada día proviene del reciclado de la degradación de tiroxina secretada previamente, por lo tanto, aproximadamente 0.6 mg de yodo/100 kg de peso corporal son requeridos para cubrir los requerimientos de síntesis. La preñez no incrementa los requerimientos de yodo para la producción de tiroxina (Miller et al., 1988). Asumiendo que la ingesta en base seca de una vaca gestante no lactante de 600 kg es 1.8% de su peso corporal, la dieta debe contener 3.6 mg de yodo/10.8 kg de alimento en base seca o 0.33 mg de yodo/kg de alimento en base seca (NRC, 2001).

1.5.2. Lactación.

La velocidad de producción de tiroxina se incrementa 2.5 veces en vacas lactantes (Sorensen, 1962). Esto incrementa el requerimiento de yodo de la vaca lactante a 1.5 mg/100 kg de peso corporal. Asumiendo que la ingesta en base seca de una vaca lactante es de aproximadamente el 3.3% de su peso corporal, la dieta de una vaca lactante debe contener 0.45 mg de yodo/kg de materia seca (NRC, 2001).

2. SELENIO

2.1. Química del Selenio

El Selenio fue descubierto en 1817 por el químico sueco, Jons Jacob Berzelius, mientras analizaba un depósito rojo sobre la pared de cámaras de plomo usadas en la producción de ácido sulfúrico. El selenio está clasificado como un "metaloide" que se encuentra entre el azufre y el telurio en el grupo VIA y entre el arsénico y el bromo en el periodo 4 de la tabla periódica. El selenio se parece mucho al azufre en sus propiedades químicas, tamaño atómico, energías de enlace, potenciales de ionización y afinidades electrónicas. La principal diferencia que existe entre estos dos elementos es que el selenio existe en una forma reducida tetravalente (cuatro valencias) y también hay diferencia en acidez. El ácido selenhídrico (H_2Se) es un ácido más fuerte ($pK_a = 3.7$) que el ácido sulfúrico (H_2S , $pK_a = 6.9$). Debido a esta característica, el selenio en forma de compuestos de selenol ($R-SeH$) se disocia rápidamente (fácilmente) a pH fisiológico lo que resulta importante para su actividad en las reacciones catalíticas. El selenio existe también en varios estados de oxidación y estos permiten la formación de diversos compuestos orgánicos de selenio (dimetilselenuro, trimetilselenio) y aminoácidos (seleniometionina, selenocisteína) (Tinggi, 2003).

En organismos vivos, en contraste a los complejos de metales con proteínas, el selenio no está unido por coordinación sino por enlaces covalentes entre carbón y selenio (C-Se). Las especies de selenio "in vivo" pueden agruparse como lo muestra el Cuadro 1. Pueden dividirse en dos categorías: productos enzimáticos y productos génicos (de genes).

1.5.2. Lactación.

La velocidad de producción de tiroxina se incrementa 2.5 veces en vacas lactantes (Sorensen, 1962). Esto incrementa el requerimiento de yodo de la vaca lactante a 1.5 mg/100 kg de peso corporal. Asumiendo que la ingesta en base seca de una vaca lactante es de aproximadamente el 3.3% de su peso corporal, la dieta de una vaca lactante debe contener 0.45 mg de yodo/kg de materia seca (NRC, 2001).

2. SELENIO

2.1. Química del Selenio

El Selenio fue descubierto en 1817 por el químico sueco, Jons Jacob Berzelius, mientras analizaba un depósito rojo sobre la pared de cámaras de plomo usadas en la producción de ácido sulfúrico. El selenio está clasificado como un "metaloide" que se encuentra entre el azufre y el telurio en el grupo VIA y entre el arsénico y el bromo en el periodo 4 de la tabla periódica. El selenio se parece mucho al azufre en sus propiedades químicas, tamaño atómico, energías de enlace, potenciales de ionización y afinidades electrónicas. La principal diferencia que existe entre estos dos elementos es que el selenio existe en una forma reducida tetravalente (cuatro valencias) y también hay diferencia en acidez. El ácido selenhídrico (H_2Se) es un ácido más fuerte ($pK_a = 3.7$) que el ácido sulfúrico (H_2S , $pK_a = 6.9$). Debido a esta característica, el selenio en forma de compuestos de selenol ($R-SeH$) se disocia rápidamente (fácilmente) a pH fisiológico lo que resulta importante para su actividad en las reacciones catalíticas. El selenio existe también en varios estados de oxidación y estos permiten la formación de diversos compuestos orgánicos de selenio (dimetilselenuro, trimetilselenio) y aminoácidos (seleniometionina, selenocisteína) (Tinggi, 2003).

En organismos vivos, en contraste a los complejos de metales con proteínas, el selenio no está unido por coordinación sino por enlaces covalentes entre carbón y selenio (C-Se). Las especies de selenio "in vivo" pueden agruparse como lo muestra el Cuadro 1. Pueden dividirse en dos categorías: productos enzimáticos y productos génicos (de genes).

Los primeros se presentan como resultado de reacciones enzimáticas como reducción, metilación, y de reacciones que llevan a la síntesis de selenoaminoácidos. El selenio es incorporado en productos génicos, de acuerdo con el codón UGA que codifica al residuo selenocisteinil. Las selenoproteínas por lo tanto contienen selenio en forma de residuos selenocisteinil; las proteínas que contienen este elemento en forma de residuos de selenometionil no son clasificadas formalmente como selenoproteínas. (Lobinski et al., 2000).

Cuadro1. Especies de Selenio en Organismos Vivientes

Selenio en proteínas	
Selenoproteínas	Residuos selenocisteinil
Proteínas conteniendo selenio	Residuos selenometionil
Otras Especies de Selenio	
Selenio inorgánico	Selenito (SeO_3^{2-}), selenato (SeO_4^{2-})
Selenio metilado	Monometilselenol, dimetilselenuro, iones trimetilselenonio
Selenoaminoácidos	Selenocisteína, selenometionina, Se-metilselenocisteína, selenoglutatión

2.2. Metabolismo del Selenio en Plantas

Ellis y Salt (2003) mencionan que el selenio es principalmente tomado del suelo por las plantas como selenato (SeO_4^{2-}) o selenito (SeO_3^{2-}). El selenato compete directamente con el sulfato respecto de su absorción por la planta. Después de su absorción, ha sido propuesto que el selenato es primeramente transportado a los cloroplastos, en donde es procesado en la ruta de asimilación del azufre (Leustek et al., 2000). Se piensa que el selenato es activado por la ATP sulfunilasa, formando adenosina 5'-fosfoselenato (APSe) (Shaw y Anderson, 1999), y después reducido a selenito por la adenosina 5'-fosfosulfato reductasa (APS). Una vez que el selenato es reducido a selenito, existe fuerte evidencia que sugiere que es reducido de forma no-enzimática a selenuro por glutatión.

La existencia de esta ruta no enzimática para la reducción de selenito a selenuro explica porqué el selenito es asimilado con mayor facilidad por las plantas que el selenato. (De Souza et al., 1998). La reducción de selenito resulta en la producción de selenoaminoácidos, como la selenocisteína y selenometionina. La incorporación no específica de selenoaminoácidos en las proteínas contribuye a su toxicidad (Brown y Shrift, 1981).

Una vez sintetizada por la ruta biosintética de la metionina, la selenometionina puede ser metilada y convertida a dimetilselenuro (DMSe) y entonces volatilizada (Tagmount et al., 2002).

2.3. Metabolismo del Selenio en Mamíferos

El destino metabólico del selenio en el cuerpo humano se ilustra esquemáticamente en la Figura 2. El selenio inorgánico es reducido al intermediario clave selenuro de hidrógeno (H_2Se) y/o en especies muy relacionadas que son incorporadas en selenoproteínas después de ser transformadas a selenofosfato y selenocisteinil tRNA de acuerdo con el codón UGA codificando el residuo de selenocisteinil, o excretado en la orina después de ser transformado en metabolitos metilados de selenuro. (Lobinski et al., 2000)

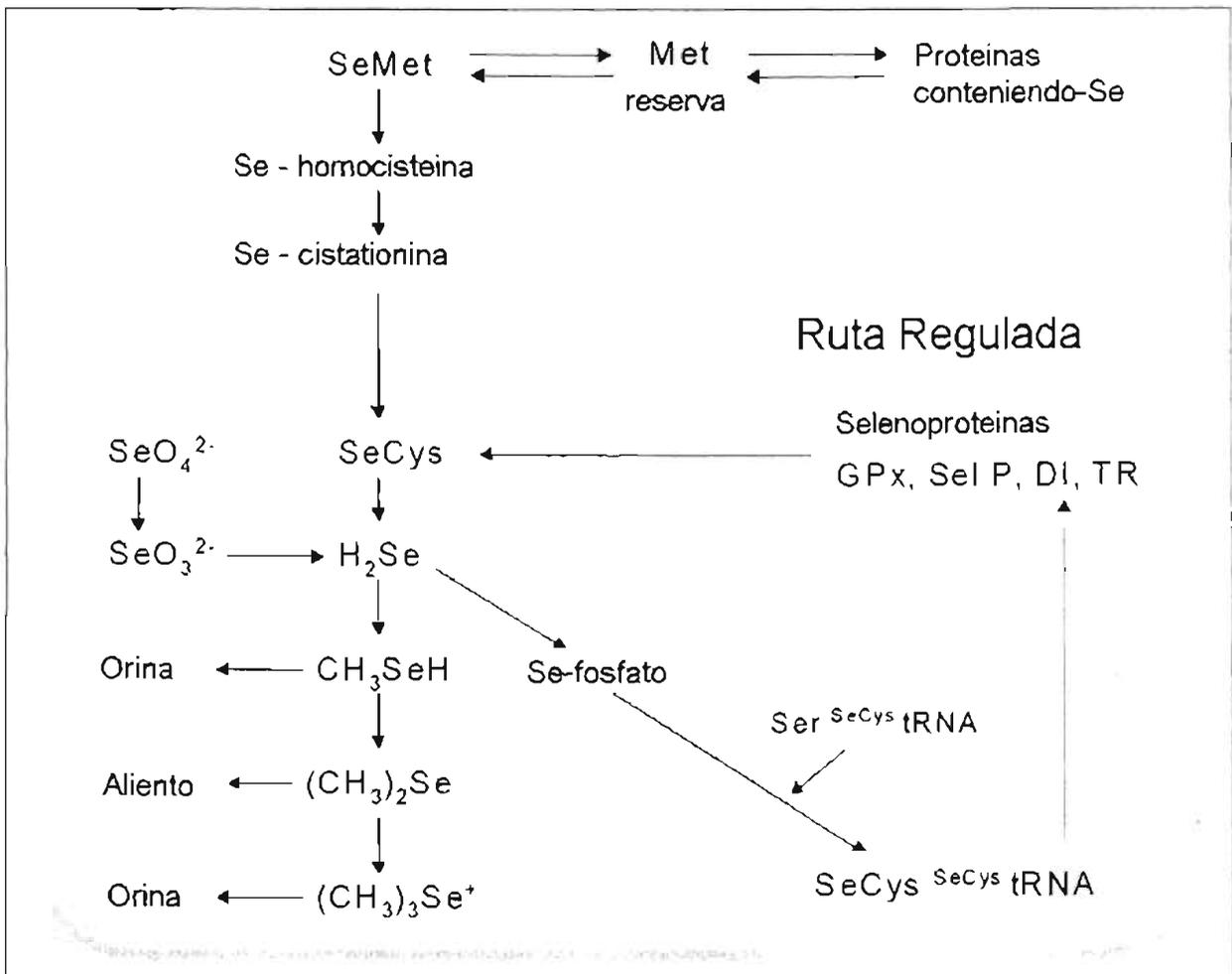


Figura 2. Destino Metabólico del Selenio en el Cuerpo Humano (Lobinski et al., 2000)

2.4. Selenio Inorgánico: Selenito vs Selenato

Los mamíferos pueden utilizar selenio orgánico e inorgánico como fuentes nutricionales de selenio, y el selenito es una forma inorgánica representativa (Thomson et al., 1973). El selenito es utilizado para la síntesis de selenoproteínas en el cuerpo después de haber sido reducido al intermediario "selenuro" o a un equivalente (Ganyher 1971; Hsieh y Ganyher 1977; Susuki et al., 1999), el cual es entonces incorporado en el grupo selenol del selenocisteinil tRNA e incorporado en las selenoproteínas en correspondencia al codón UGA (Esaki et al., 1982; Tanaka et al., 1985; Hill et al., 1993; Martín et al., 1996). El selenio es excretado después de que el intermediario común ha sido metilado (Byard 1969, Palmer 1969, Itoh 1997, Shiobara 1998).

Estudios recientes revelan que el selenito y el selenato son metabolizados de forma diferente en sangre; el selenito es rápidamente y selectivamente capturado y reducido por los (Suzuki et al., 1998; Shiobara et al., 1999) se transfiere al plasma en forma de selenuro y se une selectivamente a la albúmina (Suzuki et al., 1998; Suzuki e Itoh 1997, Shiobara y Suzuki 1998), y es tomado por el hígado (Sandholm 1973, Suzuki et al., 1999). Por otro lado, el selenato es tomado directamente por el hígado sin haber sido procesado en sangre (Shiobara et al., 1999).

Aunque selenato y selenito son metabolizados de forma diferente en sangre, una vez que son tomados por el hígado, parecen ser metabolizados casi de la misma manera y con similar eficiencia. Las principales diferencias en el metabolismo entre selenato y selenito son.

- a) El selenato es transferido directamente al hígado, mientras que el selenito es metabolizado (reducido) en sangre a selenuro y entonces transferido hacia el hígado unido a albúmina (Shiobara et al., 1999; Suzuki et al., 1999).
- b) La forma reducida de selenio unida a albúmina es susceptible de oxidación, dando selenito *in vitro* y probablemente *in vivo*. En el último caso, el selenito parece circular entre el plasma y los eritrocitos, produciendo continuamente un agente activo ($H_2Se \rightarrow SeO_3^{2-}$, es decir, $Se^{2-} \rightarrow Se^{4+}$), el cual parece producir especies reactivas de oxígeno (Garberg et al., 1988; Kramer y Ames 1988; Seko et al., 1989; Yan y Spallholz 1993; Terada et al., 1999). Esto parece explicar la acción más tóxica del selenito que la de selenato, especialmente en sangre.

- c) Ambos compuestos de selenio parecen ser utilizados con similar eficiencia en forma de selenoproteínas o excretados en forma de metabolitos metilados por el hígado.
- d) El selenato es tomado por el hígado o filtrado por el glómérulo. El primero es utilizado para la síntesis de selenoproteínas o es excretado después de ser metilado, el segundo puede ser excretado directamente en la orina en forma de selenato.
- e) El selenito es captado en forma selectiva y rápida por los eritrocitos, reducido a selenuro y transferido al plasma y a la albúmina, para ser finalmente captado selectivamente por el hígado.

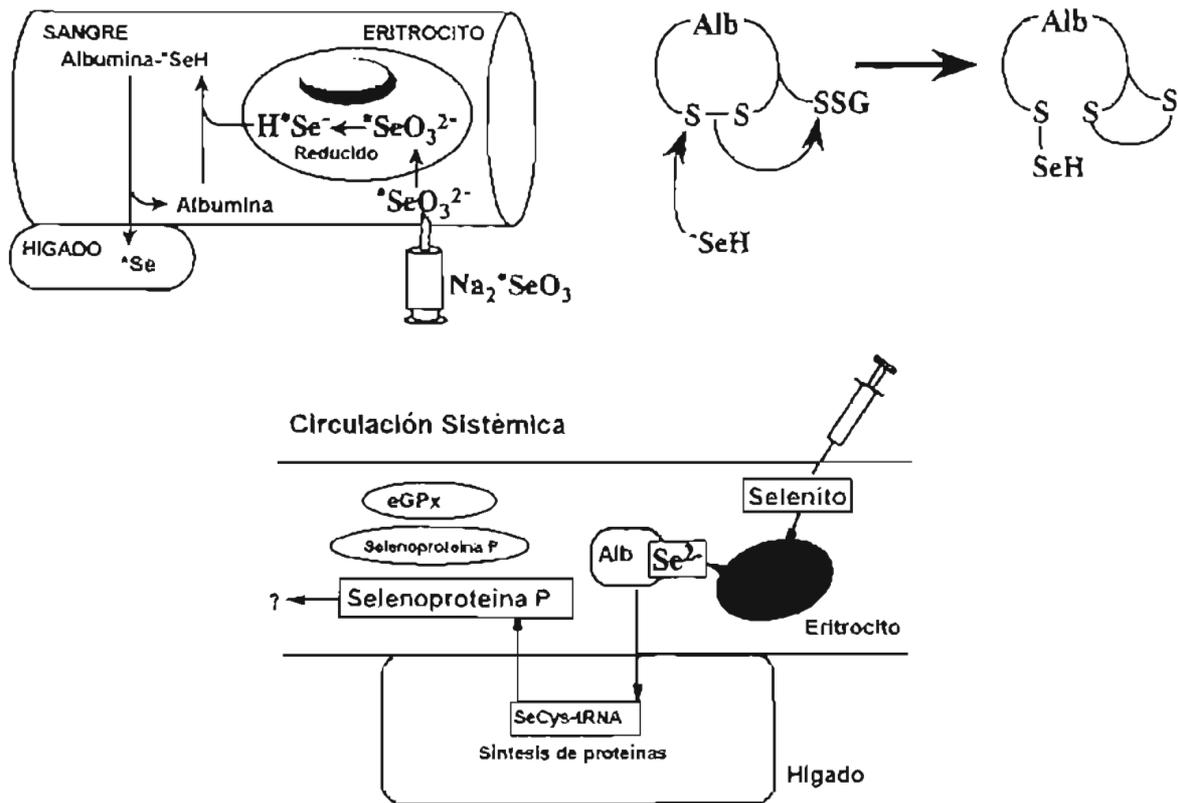


Figura 3. Esquemas propuestos para el destino metabólico del selenio inyectado a sangre en forma de selenito.

El selenio es incorporado en los eritrocitos. Reducido a selenuro o un equivalente, transferido al plasma en donde se fija selectivamente a la albúmina. El selenuro unido a albúmina es transferido al hígado e incorporado en selenoproteínas como Selenoproteína P (Sel P) o glutatión peroxidasa extracelular (eGPx). Las dos selenoproteínas son excretadas al plasma (Suzuki e Itoh, 1997).

El selenito es utilizado con mayor eficiencia que el selenato. El selenato es utilizado con menor eficiencia, aproximadamente 0.25 comparada con selenito en sangre total, en administración parenteral (Kobayashi et al., 2001).

El selenuro se une selectivamente a una isoforma de la albúmina, a través de uno de los 17 enlaces disulfuro intramoleculares de esta proteína, que es conformacionalmente diferente de sus formas principales y se presenta sólo en cierto. Las globulinas pueden compensar la ausencia de albúmina cuando la dosis de selenio es baja (Shiobara y Suzuki, 1998).

Shiobara y cols. (2000) midieron el intercambio de selenio endógeno por selenio proveniente de la dieta en forma de ^{82}Se -selenito en cuatro órganos, cerebro, hígado, riñones y testículos. Sus estudios revelaron que el intercambio metabólico de selenio en las selenoproteínas ocurre principalmente en el hígado (más del 83%). La velocidad de intercambio de selenio en los testículos fue baja comparada con hígado y riñones, sugiriendo que el selenio en los testículos se encuentra en una forma que es difícil de intercambiar. Esta observación coincide con observaciones recientes de que el selenio en testículos está presente en forma de fosfolípido hidroperóxido glutatión peroxidasa (PHGPx), y que tiene un papel dual como enzima y proteína estructural. Por otra parte, el selenio en cerebro es intercambiado constantemente con el externo a pesar de que el cerebro modifica muy poco su peso, es decir, las neuronas no proliferan y no hay intercambio activo de proteínas en comparación con el hígado (Shiobara et al., 2000).

2.5. Selenio Orgánico

El selenio ingerido en la dieta en una forma orgánica, por ejemplo, selenocisteína (SeCys), selenometionina (SeMet) o un equivalente, es utilizado para la síntesis de selenoproteínas después de que estos selenoaminoácidos han sido metabolizados por una liasa para producir el intermediario común selenuro, seguido por la formación de SeCys-tRNA e incorporado entonces en selenoproteínas (Esaki et al., 1982; Tanaka et al., 1985; Hill et al., 1993; Martin et al., 1996)

A parte de esta ruta, que lleva a la síntesis de selenoproteínas como productos génicos, la selenometionina (SeMet) también puede ser utilizada sin ser distinguida de la metionina (Met) e incorporada en proteínas generales en lugar de Met (Sunde 1990; Beilstein y Whanger 1992).

Por lo tanto, el selenio ingerido por los mamíferos es transformado a formas orgánicas ya sea en forma de residuos de SeCys en selenoproteínas a través del intermediario común selenuro, sin tener en cuenta el origen del selenio en la dieta, o en forma de residuos de SeMet en proteínas generales (Shiobara et al., 2000).

Los animales son capaces de sintetizar SeCys de novo a partir de selenio inorgánico y también a partir de SeMet. Sin embargo, no pueden sintetizar SeMet, y la selenometionina ingerida es incorporada en proteínas generales sin ser distinguida de metionina o en selenoproteínas después de ser metabolizada al intermediario, selenuro, en el hígado (Shiobara y Suzuki, 1998).

2.6. Síntesis de Selenoproteínas

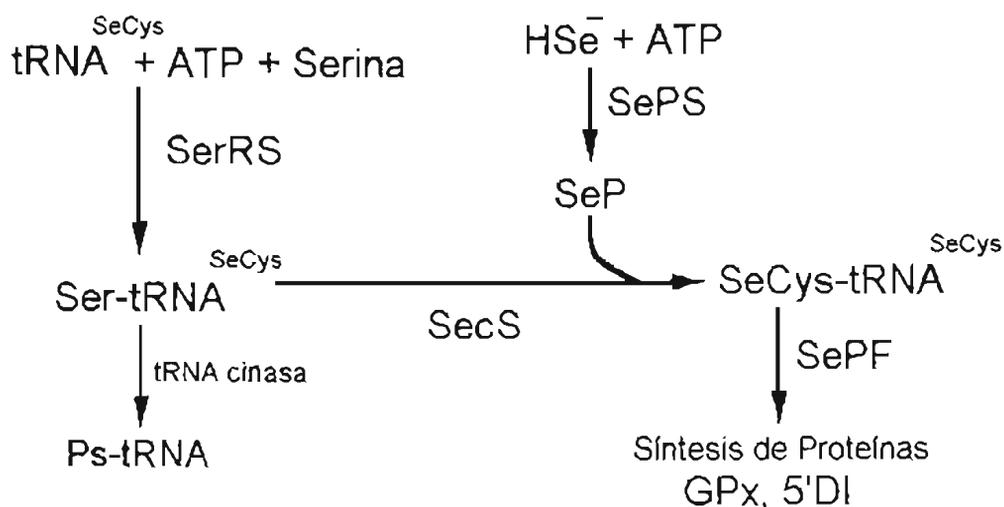


Figura 4. Modelo esquemático para la síntesis de Selenocisteína en Mamíferos (Mizutani et al., 2000)

En la figura 4 se observa que dos especies de tRNA^{Ser} y una especie de tRNA^{Sec} son reconocidos por un tipo de seril-tRNA sintetasa (SerRS) y son aminoacilados ("cargados" con un aminoácido) para formar Ser-tRNAs. Sin embargo, sólo Ser-tRNA^{Sec} es reconocido por Sec sintetasa (SecS) y convertido a Sec-tRNA^{Sec}. En esta etapa, el selenio es suministrado por selenofosfato (SeP), producido a partir de HSe⁻ y ATP por la selenofosfato sintetasa (SePS). Entonces, Sec-tRNA^{Sec} es llevado por su factor de elongación específico (SePF, un candidato en mamíferos del homólogo SELB) hacia los ribosomas (Yamada et al., 1994; Yamada 1995; Mizutani et al., 1998; Mizutani et al., 2000).

El mecanismo de discriminación entre el marco de lectura de Sec, el codón UGA y el codón de terminación UGA no está claro, pero SECIS la Secuencia de Inserción de Selenocisteína en la región 3' no traducida del mRNA de las selenoproteínas, puede tener un papel clave para incorporar selenocisteína (Berry et al., 1991; Wen et al., 1998)

SECIS es reconocida por su proteína de unión (SBP) (Hubert et al., 1996; Shen et al., 1998; Copeland et al., 2000). Sin embargo, no está claro cómo el SECIS elemento, en la región 3' no traducida a una distancia mayor a varios miles de nucleótidos, puede mediar la inserción de selenocisteína en el marco de lectura UGA el codón para la inserción de Sec. Ha sido sugerido que debe existir una señal cerca del codón UGA que permita la distinción de este codón que comparte dos significados, terminación o inserción de selenocisteína (Mizutani et al., 2000).

2.7. Deficiencia de Selenio

Cuadro 2. Diversas enfermedades y/o condiciones que responden a la suplementación de selenio.

Enfermedad o Condición	Principales Signos Clínicos
Enfermedad del Músculo Blanco (miodegeneración nutricional)	Rigidez, "agarrotamiento", músculo esquelético y/o cardiaco afectados. Los signos varían de muerte súbita a debilidad crónica (cojera).
Retención Placentaria	Placenta Retenida
Abortos, Mortinatos	Abortos, Mortinatos
Debilidad Neonatal	Becerras y corderos nacen débiles
Diarrea	Diarrea, usualmente profusa, y pérdida de peso en ganado joven y adulto
Desmedro	Disminución en la eficiencia, disminución en ganancia de peso, y pobre apariencia corporal
Sistema Inmune Comprometido	Respuesta inmune suprimida a vacunas y microorganismos ambientales.
Infertilidad	Disminución en la tasa de concepción, ciclos estrales irregulares, muerte embrionaria temprana

Gates N. L. and K. A. Johnson, Selenium and Related disorders in Washington Livestock, Washington State University.

En el curso de la enfermedad del músculo blanco, pueden depositarse sales de calcio en las fibras musculares en degeneración en ciertas partes del cuerpo de los animales afectados. Estas sales producen áreas blanquecinas (Hansen et al., 1993).

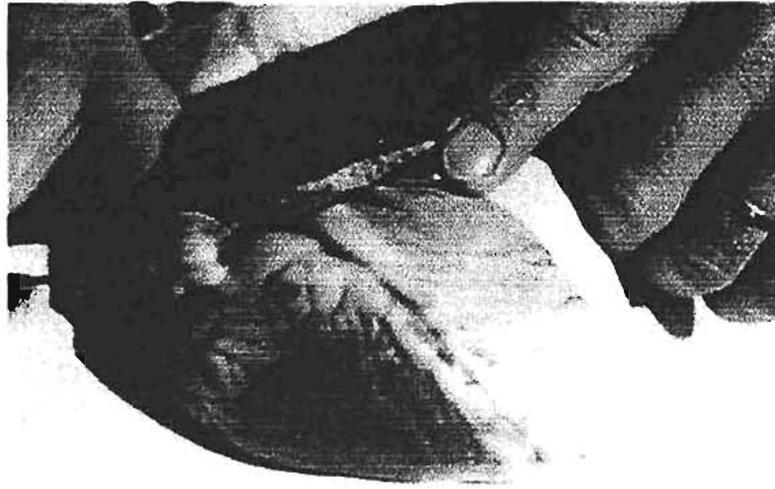


Figura 5. Corazón de un becerro severamente dañado por la enfermedad del músculo blanco. Note el color claro del ventrículo afectado. Este animal murió espontáneamente por falla cardíaca (Hansen et al., 1993).

Los músculos esqueléticos de las patas, espalda, y el miocardio pueden ser afectados. Cuando los músculos esqueléticos son afectados, los animales jóvenes pueden presentar dificultad para caminar y pueden ser incapaces para levantarse y amamantarse. Cuando el corazón es afectado, el animal puede morir súbitamente por fallo del corazón. Algunos animales muestran signos de agotamiento respiratorio y a veces son tratados por el propietario como si se tratara de neumonía. Estos animales no responden a la terapia con antibióticos, y su muerte puede ocurrir como resultado de la acumulación de líquido (fluidos) en los pulmones. La enfermedad del músculo blanco es más común en animales recién nacidos, los cuales mostrarán signos clínicos a partir de su nacimiento a 4 a 6 semanas de edad. Vacas u ovejas que reciben una dieta deficiente en selenio durante la gestación pueden dar a luz becerros o corderos que sufren de esta deficiencia. Sus becerros o corderos pueden nacer muertos o muy débiles y morir durante los primeros días de vida. En casos de extrema deficiencia, puede ocurrir un daño permanente, y los animales recién nacidos no responderán a la administración de selenio. En estos casos, es necesario suplementar a las madres con cantidades adecuadas de selenio durante la gestación (Hansen et al., 1993).

La influencia de la suplementación de selenio sobre la viabilidad de becerros recién nacidos ha sido observada en algunos hatos. Algunos becerros en hatos deficientes en selenio tienen afectada la estructura y función de la glándula tiroides. Además, la deficiencia de selenio reduce la respuesta inmune, interfiriendo con su capacidad para controlar infecciones y disminuye la resistencia a las enfermedades. Estos problemas para el recién nacido pueden significar la diferencia entre la vida o la muerte. (Hansen et al., 1993).

Una deficiencia menos aguda de este elemento traza también contribuye a problemas crónicos de salud de animales de un año y adultos. Muchos de estos animales desarrollan una enfermedad de larga duración y son incapaces de utilizar el alimento apropiadamente, y pueden morir. Su pelaje puede presentar una apariencia blanquecina o descolorida. Muchos animales afectados tienen pelo hirsuto con pelaje áspero, duro, encrespado y no lo mudan de manera normal por lo que no muestra la apariencia normal, saludable y brillante (Hansen et al., 1993).

La retención placentaria ha sido documentada en vacas con dietas deficientes en selenio, el problema ha sido aliviado mediante el suministro adecuado de selenio. La retención de las membranas fetales por más de 24 horas contribuye a la infección del útero y puede dañar la capacidad de gestación (Hansen et al., 1993).

2.8. Suplementación de Selenio para Rumiantes

Anteriormente a 1974 la FDA (Food and Drug Administration) prohibía la adición de suplementos de selenio a los forrajes y alimentos para el ganado. Sin embargo, a partir del periodo de 1974-1980, esta agencia reguladora gradualmente permitió la suplementación de selenio para varias clases de ganado. Actualmente, la FDA está permitiendo la suplementación hasta un límite superior de 0.3 ppm en las dietas del ganado. La regulación para la suplementación mineral a libre acceso es de 120 ppm (sin exceder 3 mg/cabeza/día) para el ganado vacuno y de 120 ppm (sin exceder 0.70 mg/cabeza/día) para ovejas (McDowell et al., 2002).

Las fuentes de suplementación de selenio actualmente en uso en los Estados Unidos son el selenito de sodio (Na_2SeO_3) y selenato de sodio (Na_2SeO_4), con levadura orgánica aprobada para algunas especies.

La forma de selenato, la cual es usada con menos frecuencia, ha sido considerada preferible debido a que el selenito es reducido con mayor facilidad a selenio elemental, menos disponible que puede formar compuestos insolubles con otros metales. Otras fuentes de selenio incluyen al selenito de calcio, dióxido de selenio, y selenato de bario.

El producto de levadura orgánica tiene el potencial para ser una mejor fuente de suplementación de selenio para todas las especies debido a su mayor biodisponibilidad (McDowell, 1997). En cerdos (Mahan, 1999; 2000) y ganado (Ortman and Pehrson, 1999), el selenio orgánico incrementó el contenido de selenio en leche más que el selenio inorgánico. El selenio orgánico aumentó las concentraciones de selenio en sangre, leche, e hígado 2-3 veces más que la forma inorgánica (Knowles et al., 1999). El selenio de levadura resultó en un incremento del 130% en leche en comparación con el control, mientras que el incremento debido a selenito o selenato fue sólo del 20% (Ortman and Pehrson, 1999)

2.8.1. Métodos para la Suplementación de Selenio.

Los principales métodos para incrementar la ingesta de selenio por el ganado incluyen:

- a) Suplemento mineral a libre acceso
- b) Premezclas para adicionar a alimentos concentrados
- c) Fertilización con selenio
- d) Inyecciones de selenio (parenteral)
- e) Selenio en solución oral
- f) Selenio en agua
- g) Bolos ruminales

Soluciones acuosas de selenio han sido exitosamente usadas en forma de tomas periódicas orales o como inyecciones intramusculares o subcutáneas (NRC, 1983). Inyecciones subcutáneas directas, usualmente de selenito de sodio, o la dosificación oral con este compuesto en dosis de 10 a 30 mg para el ganado bovino y de 1 a 5 mg para ovejas son medios comunes para prevenir las enfermedades por deficiencia en los animales (Underwood y Suttle, 1999). Las inyecciones de selenato de bario han demostrado tener un efecto de larga duración en rumiantes (Judson et al., 1991). El selenato de bario en forma de bolo o de inyección subcutánea, mantuvo los niveles de selenio en sangre por al menos 200 semanas en ovejas y sus corderos (Judson et al., 1991).

El uso de bolos intra-ruminales con 95% de hierro finamente dividido y 5% de selenio elemental, han prevenido la aparición de la enfermedad del músculo blanco en ovejas y ganado alimentado con pasturas deficientes en selenio (Kendall et al., 2001, Mackenzie et al., 2001).

Ha sido desarrollada una bomba osmótica intrarruminal que libera selenio a una velocidad de 3 mg por día (Campbell et al., 1990).

El uso de mezclas de sales con selenio parece ser el método más prometedor para la prevención de la deficiencia de este elemento (McDowell, 1997). Las mezclas minerales para ganado en pastoreo deben formularse para proporcionar de 0.1 a 0.3 ppm de selenio en la materia seca total.

2.8.2. Bolos Intra-ruminales

Las pequeñas cantidades de selenio que son necesarias para suplementar los animales hacen posible su administración a rumiantes mediante bolos, los cuales fueron primeramente desarrollados en Australia como un medio para proporcionar cobalto. Kuchel y Buckley (1969) desarrollaron un bolo de selenio elemental, relleno de hierro que era lo suficientemente denso para permanecer en el rumen de los animales, en donde lentamente dispensaba selenio por periodos prolongados de tiempo. La experiencia con el uso de estos bolos mostró que eran efectivos por casi un año (Judson et al., 1991).

Alternativas a los bolos de hierro fueron desarrolladas posteriormente, incluyendo bolos de vidrio soluble, los cuales algunas veces contenían otros nutrientes esenciales en adición al selenio (Telfer et al., 1983)) y bombas osmóticas que pueden liberar con exactitud 3 mg de selenio por día (Figura 6 y 7).



Figura 6. Bolos Densos. A la izquierda, bolos de vidrio soluble; A la derecha y atrás, bolos basados en hierro; A la derecha y al frente, bomba osmótica.

Oldfield James E., *Selenium in Nutrition: The Early Years*, Oregon State University.

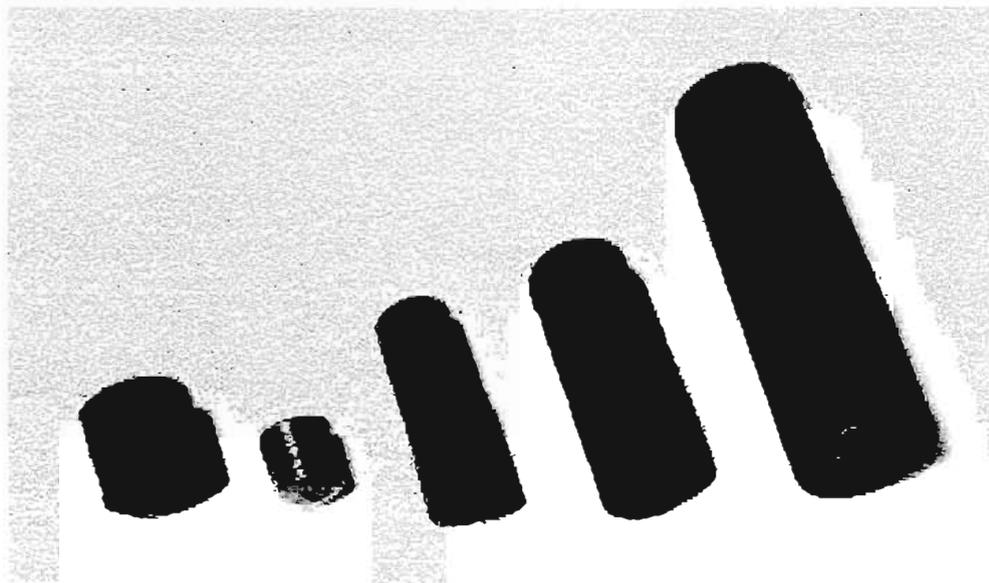


Figura 7. bolos para la administración de selenio a rumiantes. De izquierda a derecha: el bolo original de selenio/hierro, "grinder" de acero para eliminar el recubrimiento orgánico, y bolos de vidrio soluble para ovejas y ganado vacuno (Oldfield, 2002).

2.9. Requerimientos de Selenio

La 6ª y 7ª ediciones revisadas del NRC (National Research Council) correspondientes al año de 1989 y 2001, respectivamente, definen los requerimientos de selenio como 0.3 mg/kg de materia seca para todas las clases de ganado lechero. No existen nuevos datos disponibles para poner en duda este requerimiento. Sin embargo, la mayoría de los datos que soportan este requerimiento fueron generados a partir de experimentos en los cuales se suministró 0.3 mg de selenio por kilogramo de alimento en base seca de manera que la cantidad total de selenio en la dieta se encontraba entre 0.35 y 0.40 mg/kg.

El suministro apropiado de selenio a animales en gestación es importante para prevenir algunos desórdenes y también para asegurar que el becerro nacerá con concentraciones adecuadas de selenio. El selenio pasa eficientemente a través de la placenta y los becerros nacidos de madres que recibieron cantidades adecuadas de selenio presentan un mejor estado que los becerros de madres deficientes (Van Saun et al., 1989). La concentración de selenio en leche se incrementa cuando las vacas son suplementadas con selenio (Grace et al., 1997). Mayores concentraciones de selenio en la leche pueden tener efectos positivos en la salud del becerro y del ser humano.

Conforme una vaca consume más selenio, las concentraciones de selenio en la leche y en el embrión aumentan. Asumiendo que una vaca es alimentada con aproximadamente 0.3 mg de selenio/kg de alimento en base seca, el embrión acumulará aproximadamente 0.055 mg de selenio/día durante el último trimestre de gestación (House y Bell, 1994). La concentración de selenio en leche varía de 0.01 a 0.025 mg/kg (Conrad y Moxon, 1979; Lean et al., 1990; Van Dael et al., 1991). Las pérdidas fecales de selenio en ganado lechero varían entre 0.011 a 0.019 mg/kg de materia seca en la ingesta (Harrison y Conrad, 1984; Koenig et al., 1991 a, b; Ivancic y Weiss, 2001). La excreción urinaria es dependiente de la ingesta, para vacas lactantes consumiendo aproximadamente 2.5 mg de Se/día, las pérdidas urinarias de selenio promedian 0.5 mg/d (Ivancic y Weiss, 2001). Valores similares fueron reportados para vacas secas alimentadas con cantidades similares de selenio (Harrison y Conrad, 1984). Por lo tanto, para una vaca no lactante en el último trimestre de gestación que consume 10 kg de materia seca al día, el requerimiento de selenio absorbido es de aproximadamente 0.7 mg/día. Asumiendo un coeficiente de absorción del 40%, el requerimiento dietético será de 1.75 mg/d. Para una vaca lactante produciendo 30 kg/d de leche, el requerimiento para selenio absorbido será de aproximadamente 1.7 mg/día y el requerimiento dietético será de 4 mg/día (NRC, 2001).

De acuerdo con estos cálculos, vacas secas alimentadas con aproximadamente 1.4 mg de selenio/día (Harrison y Conrad, 1984), y vacas lactantes alimentadas con aproximadamente 4.2 mg/d (Ivancic y Weiss, 2001) resultarán en un balance ligeramente positivo de selenio. Sin embargo, basados en concentraciones sanguíneas, prevalencia de mastitis y de retención placentaria, los requerimientos calculados no son adecuados. Maus et al. (1980) reportaron que las concentraciones plasmáticas de selenio en vacas lactantes alcanzaban una meseta cuando el consumo de selenio era de 6 mg/día.

Las regulaciones actuales de la FDA limitan la suplementación de selenio a 0.3 mg/kg de dieta (FDA, 1997) y en la mayoría de las situaciones, la cantidad de selenio suplementado mantendrá al ganado en buen estado. Basados en el efecto del selenio sobre la mastitis, las concentraciones de selenio en sangre total deberán ser mayores a 0.18 $\mu\text{g/ml}$ o aproximadamente de 0.08 $\mu\text{g/ml}$ de plasma (Jukola et al., 1996). Una ingesta de aproximadamente 6 mg/día mantendrá tales concentraciones sanguíneas (Maus et al., 1980). Basados en los datos disponibles, el requerimiento de selenio fue mantenido a 0.3 mg/kg de la dieta en base seca.

3. INTERACCIONES ENTRE YODO Y SELENIO

Muchas son las áreas del mundo en donde existe el riesgo de deficiencia de yodo. Muchos de los efectos debilitantes de la deficiencia pueden ser irreversibles, consecuentemente es esencial comprender los mecanismos por medio de los cuales la falta de I puede provocar enfermedad mediante la disminución en la síntesis de tiroxina y triyodotironina (T_3). Debido a que el Se desempeña una función esencial en el metabolismo de las hormonas tiroideas, tiene el potencial para tomar parte, quizá la mayor, en el resultado o consecuencias de la deficiencia de Yodo. Estos efectos del selenio derivan de dos aspectos de sus funciones biológicas. Primero, tres deiodinasas conteniendo selenio regulan la síntesis y degradación de la hormona tiroidea biológicamente activa, T_3 . Segundo, selenoperoxidasas y posiblemente tioredoxin reductasa protegen a la glándula tiroides del H_2O_2 producido durante la síntesis de hormonas tiroideas. El mecanismo por el cual la deficiencia de Se exacerba el hipotiroidismo debido a la deficiencia de yodo ha sido elucidado en animales. En contraste a estos efectos adversos, la concurrente deficiencia de SE puede provocar cambios en las actividades de las deiodinasas que pueden proteger al cerebro (Arthur et al., 1999).

El interés en la interacción entre selenio y yodo surge primeramente del descubrimiento que el Se es esencial para un metabolismo normal de la hormona tiroidea. Esta conexión fue reconocida al observar primeramente una elevada concentración plasmática de tiroxina (T_4) y una concentración disminuida de triiodotironina (T_3) en animales selenodeficientes (Arthur et al., 1987; Beckett et al., 1987). Se demostró que estos cambios no eran consecuencia de la disminución en la ingesta de alimento que algunas veces ocurre con una prolongada deficiencia en selenio. Los efectos agudos y específicos de la deficiencia de selenio sobre el metabolismo tiroideo se atribuyeron a la inhibición de la deiodinasa de iodotironina hepática (ID-I) la cual convierte T_4 a T_3 por 5' monodeiodinación. Subsecuentemente, se demostró que ID-I era una proteína que contenía selenio (Arthur et al., 1990 a; Behne et al., 1990). La clonación de ID-I mostró que contenía una selenocisteína en el sitio activo codificada mediante un codón de "terminación" (UGA) (Berry et al., 1991 a,b). La conversión del sitio activo de selenocisteína a cisteína disminuyó de forma importante la actividad de la enzima demostrando la efectividad catalítica de la selenocisteína ionizada al pH fisiológico (Berry et al., 1991c). La deficiencia de selenio en animales causa una rápida y específica disminución de las actividades de ID-I hepática y renal, enfatizando la esencialidad del selenio para mantener el metabolismo de hormona tiroidea (Beckett et al., 1987; Arthur et al., 1990 a).

Así como la ID-I, existen deiodinasas tipo II y tipo III (ID-II, ID-III) también esenciales para la interconversión de las formas biológicamente activas e inactivas de la hormona tiroidea (Arthur y Beckett, 1994; Beckett y Arthur, 1994; Kohrle, 1994; St Germain y Galton, 1997; Richard et al., 1998). ID-II la cual existe en cerebro y sistema nervioso central de animales y también en el tejido adiposo pardo (BAT) de algunas especies, convierte T_4 a T_3 dentro de estos tejidos. Esta enzima proporciona una importante función reguladora en tales tejidos, ya que la T_3 circulante no fácilmente gana el acceso a los receptores nucleares intracelulares para así ejercer su actividad biológica (Safran et al., 1991). El desarrollo y la función del sistema nervioso central es particularmente sensible al suministro de hormona tiroidea y por lo tanto a la expresión de las enzimas deiodinasas. Algunos tejidos expresan ID-III, la cual convierte T_4 a la metabólicamente inactiva T_3 inversa, evitando la producción de la forma biológicamente activa de T_3 . ID-III también convierte T_3 a diiodotironina, ayudando nuevamente a regular con precisión los niveles tisulares de T_3 (Karmarkar et al., 1993; KoopdonKool et al., 1996). El mantenimiento de las actividades de ID-II e ID-III, aún con una severa deficiencia de selenio es un indicativo de la importancia de estas enzimas para el metabolismo normal de la tiroides (Beckett et al., 1989; Meinhold et al., 1993; Mitchell et al., 1997).

Debido a que la única función biológica conocida para el yodo en mamíferos es como componente de las hormonas tiroideas, la base principal de las interacciones entre el selenio y el yodo es la síntesis y subsiguiente utilización de estas hormonas. El selenio sin embargo, tiene diversas funciones biológicas y las desyodinasas son sólo tres de al menos treinta selenoproteínas conocidas en los mamíferos. Estas proteínas han sido identificadas por purificación y clonación o mediante el marcado *in vivo* con ^{75}Se (Behne et al., 1988, 1996; Evenson y Sunde, 1988; Wu et al., 1995). Las selenoproteínas adicionales incluyen cuatro glutatión peroxidasas, las cuales proporcionan protección intracelular y extracelular contra los efectos dañinos de H_2O_2 e hidroperóxidos lipídicos (Sunde, 1990; Arthur et al., 1996). Adicionalmente, la flavoenzima tioredoxin reductasa, es esencial para la regulación redox de ciertas proteínas y también puede contribuir a los sistemas antioxidantes celulares (Gladyshev et al., 1996; Howie et al., 1998).

Una capacidad antioxidante extracelular adicional, puede ser proporcionada por la selenoproteína P. Esta proteína contiene diez residuos de selenocisteína, 23 residuos de histidina y diecisiete residuos de cisteína, lo que indica que tiene una gran capacidad para enlazar metales de transición, los que podrían normalmente iniciar la actividad de radicales libres (Hill et al., 1991; Burk & Hill, 1992; Burk et al., 1995). La relevancia de estas selenoproteínas para el metabolismo del yodo se vuelve evidente considerando la participación del H_2O_2 en el proceso de síntesis de hormonas tiroideas.

3.1. Síntesis de Hormonas Tiroideas

La unidad funcional para la síntesis de hormonas tiroideas es el folículo, una estructura hecha de agregados de tirocitos. El lumen del folículo está lleno con coloide, el cual está compuesto principalmente de tiroglobulina. Esta es una proteína de elevada masa molecular sintetizada por los tirocitos, la cual es entonces exportada y almacenada en el lumen folicular. La síntesis de las hormonas tiroideas requiere la iodación de residuos de tirosilo sobre la tiroglobulina seguido del acoplamiento de estos derivados (ver Figura 8).

Esta reacción toma lugar dentro del lumen folicular en la superficie de la membrana apical. Las etapas requeridas para la síntesis de hormonas tiroideas pueden resumirse de la manera siguiente de acuerdo con Taurog (1986):

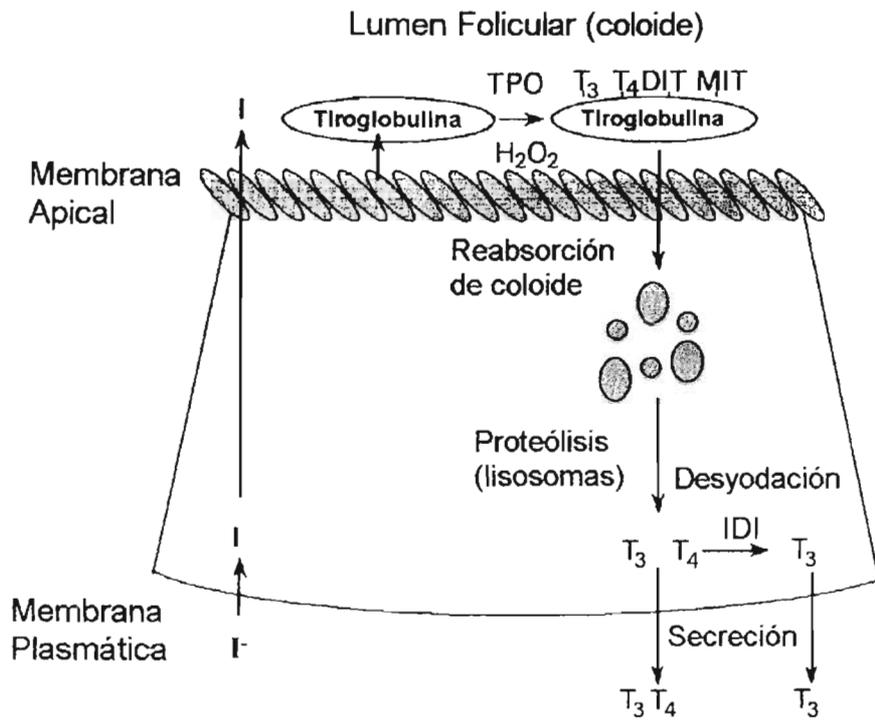


Figura 8. El mecanismo de síntesis de las hormonas tiroideas. El yodo es transportado a través de la célula tiroidea hacia el lumen folicular, en donde y con la presencia de peróxido de hidrógeno y la peroxidasa tiroidea (TPO) es incorporado en residuos tirosilo sobre la tiroglobulina. El coloide es entonces reabsorbido al interior del tirocito de donde las hormonas tiroideas son liberadas a la circulación después de la liberación proteolítica de la tiroglobulina. **DIT** = diyodotirosina, **IDI** = yodotironinadeyodinasas, **MIT** = monoyodotirosina, **T₃** = triyodotironina, **T₄** = tiroxina (Arthur et al., 1999).

3.1.1. Transporte Activo del Iodo

El yodo es convertido a yoduro en el tracto gastrointestinal y luego es transportado hacia la tiroides, allí las células foliculares lo atrapan con efectividad a través de un proceso de transporte activo, estimulado por TSH, contra un gradiente de concentración. El proceso de transporte es catalizado por la enzima Na^+/K^+ ATPasa y dependiente de ATP (Dai y Carrasco, 1996).

3.1.2. Yodinación de Residuos de Tirocilo en la Tiroglobulina

Esta reacción toma lugar en el lumen folicular y lleva a la formación de residuos mono-yodo y di-yodo de tirocilo en la tiroglobulina. La reacción requiere la generación de H_2O_2 en altas concentraciones y también de la acción de la peroxidasa de tirocilo, una enzima localizada en el lado luminal de la membrana apical. La generación de H_2O_2 parece ser la etapa limitante de la velocidad en la síntesis de las hormonas tirocicas y está regulada por una compleja red de sistemas de segundos mensajeros interactuando. En muchas especies, incluyendo al hombre, la producción de H_2O_2 es regulada a través de la cascada de señalización de Ca-fosfoinositol pero en algunos animales la vía del cAMP también puede estar involucrada (Dumont, 1971; Bjorkman y Ekholm, 1992; Corvilain et al., 1994). Ha sido sugerido que la activación de proteína cinasa C, concentraciones elevadas de Ca^{2+} libre y la cascada de fosfolipasa C/ Ca^{2+} pueden actuar en conjunto para promover la producción de H_2O_2 . Existe desacuerdo sobre el sitio y el mecanismo de generación de H_2O_2 . Se ha sugerido que el H_2O_2 se genera en el citoplasma del tirocilo a través de la superóxido dismutasa. El H_2O_2 puede entonces cruzar la membrana hacia el lumen folicular en donde se encontrará disponible para la reacción con la peroxidasa de tirocilo. Una ruta alternativa ha sido propuesta en donde el H_2O_2 es formado directamente en el lado luminal de la membrana apical por un sistema de flavoproteína-NADPH oxidasa. Mientras que el H_2O_2 es esencial para la síntesis de las hormonas tirocicas, es extremadamente tóxico. Irrespectivamente del sitio de generación, el tirocilo estará expuesto a altas concentraciones de H_2O_2 y de hidroperóxidos lipídicos tóxicos. Las selenoenzimas presentes en los tirocilos están involucradas en la prevención del daño peroxidativo y por lo tanto representan una función de suma importancia para el selenio en el metabolismo de las hormonas tirocicas (Arthur et al., 1999).

3.1.3. Acoplamiento de Residuos de Tirocilo Yodinados para Producir Hormonas Tirocicas

El mecanismo mediante el cual los residuos de tirocilo yodinados se acoplan para producir T_3 y T_4 no está claro pero puede involucrar a la peroxidasa de la tirocilo y H_2O_2 . Si dos residuos diyodotirocilo en la tiroglobulina se acoplan se forma T_4 , mientras que el acoplamiento de un monoyodotirocilo con una molécula de diyodotirocilo resultará en la formación de T_3 o el isómero inactivo T_3 inversa (Arthur et al., 1999).

3.1.4. Proteólisis y Liberación de Hormonas Tiroideas

El coloide es absorbido por pinocitosis al interior del tirocito en donde sufre proteólisis en los lisosomas para liberar las hormonas tiroideas. Este proceso parece estar bajo la influencia de TSH. Puede ocurrir un metabolismo adicional de las hormonas tiroideas mediante la deiodinación y la expresión de las selenoenzimas tiroideas ID-I e ID-II está regulada a través del receptor de TSH (Arthur et al., 1999).

3.1.5. Producción de Hormonas Tiroideas: Adaptación a la deficiencia de Yodo

En la deficiencia crónica de yodo tanto en animales como en el hombre, ocurren marcadas adaptaciones de las rutas involucradas en la síntesis de las hormonas tiroideas. Los cambios actúan para mantener el estado eutiroideo (Delange y Ermans, 1996) y se liberan elevados niveles de TSH que dan lugar al incremento en la captación de yodo, y en cada una de las etapas involucradas en la síntesis de las hormonas tiroideas; aumento en la relación monoyodotirosilo:diyodotirosilo en la tiroglobulina favoreciendo así la producción de T_3 ; secreción preferencial de T_3 ; incremento en la deiodinación tiroidea de T_4 para producir T_3 ; conversión periférica alterada de T_4 a T_3 , y desarrollo de bocio (Arthur et al., 1999).

Como resultado, el patrón característico de hormonas en plasma en deficiencia de yodo es TSH aumentada y baja T_4 , mientras T_3 plasmática puede ser normal o baja, dependiendo de la severidad de la deficiencia de yodo.

3.1.6. Deficiencia de Selenio y Yodo en la Tiroides

La glándula tiroides produce cantidades significativas de H_2O_2 para la síntesis de hormonas tiroideas. Sin embargo, este peróxido también puede determinar daño, si producido en exceso reacciona con los componentes de la célula. Cualquier deterioro de los sistemas detoxicantes de peróxido tiroideo, por deficiencia de selenio, determinará daño en el tirocito, la importancia de estos sistemas es mucho mayor en la deficiencia de yodo. Conforme el suministro de yodo disminuye, los niveles de T_4 también disminuyen lo que en turno lleva a un incremento en la producción de TSH en la pituitaria, esta hiperestimula a la tiroides y la producción de H_2O_2 e hidroperóxidos lipídicos (Arthur et al., 1999).

Cuando hay selenio disponible, la glutatión peroxidasa extracelular (eGSHPx), glutatión peroxidasa de hidroperóxidos lipídicos (pHGSHPx), glutatión peroxidasa citosólica (cGSHPx), y tioredoxin reductasa (TR) pueden proteger contra el daño oxidativo potencial (Howie et al., 1998). El suplemento adecuado de selenio y la deficiencia de yodo resulta en una mayor producción de enzimas, particularmente cGSHPx, con el incremento resultante en la actividad antioxidante (Mitchell et al., 1996). La inducción de cGSHPx con preferencia sobre pHGSHPx sugiere que es probable que el H_2O_2 tenga el potencial para dañar la tiroides durante la sobreestimulación; cGSHPx puede metabolizar H_2O_2 mucho más efectivamente que pHGSHPx.

3.2. Deficiencia de Selenio y Yodo en los Animales

3.2.1. Deficiencia de Yodo

Como se mencionó antes, con la deficiencia de yodo la síntesis de T_4 es inhibida, inicialmente, las concentraciones plasmáticas de T_3 son mantenidas debido a la acción de TSH sobre la glándula tiroides, incrementando la síntesis de T_3 y a la deyodinación intratiroidal de T_4 para producir T_3 . Estas respuestas son dependientes del suplemento de selenio para la síntesis de ID-I, así como de las enzimas glutatión peroxidasa, que ayudan a proteger la tiroides de los efectos tóxicos del H_2O_2 y de sus metabolitos altamente reactivos. Además, la expresión de deyodinasas en hígado, riñón, y el sistema nervioso central también es modificada (Arthur et al., 1999).

3.2.2. Deficiencia de Selenio

Estudios usando ratas selenodeficientes indican que el cerebro y los órganos endócrinos son capaces de retener selenio a expensas de otros órganos como el hígado y músculo (Behne et al., 1988). Además, dentro de un órgano en particular, existe una jerarquía para suplir selenio a selenoproteínas específicas (Bermano et al., 1995; Larsen y Berry, 1995). En la deficiencia de selenio, esta jerarquía ayuda a mantener las concentraciones plasmáticas de T_3 disminuyendo el catabolismo hepático e incrementando la síntesis tiroidal de T_3 por ID-I. A pesar de un incremento en la concentración plasmática de T_4 en la deficiencia de selenio, la concentración plasmática de TSH no cambia debido a un deterioro del mecanismo de retroalimentación negativo normal en la pituitaria. Sin embargo, el almacenamiento tiroideo de T_4 , T_3 y yodo se ve disminuido durante la deficiencia de selenio (Arthur et al., 1990c).

3.2.3. Deficiencia de Yodo y Selenio en Cerebro

Los efectos de las deficiencias de selenio y yodo en el desarrollo del cerebro son variables y dependen no solo de la relativa severidad de las deficiencias sino también de la etapa del desarrollo en las cuales se presentan. A pesar de los mecanismos compensatorios para conservar las concentraciones circulantes de T_3 , el feto en desarrollo requiere un suministro de T_4 maternal para el desarrollo temprano del cerebro (Deescobar et al., 1993). Más del 80% de T_3 residente en los receptores nucleares en el cerebro parece derivarse de la deiodinación intracelular de T_4 por ID-II. Las actividades y expresión de ID-I, cGSHPx y phGSHPx en la corteza cerebral, cerebelo, cerebro medio y tallo cerebral resultan inalteradas por las deficiencias de yodo y selenio. En contraste, las actividades de ID-II se incrementan en igual o mayor grado que en la deficiencia de yodo (Mitchell et al., 1997). No obstante que la deficiencia concurrente de selenio disminuye la actividad de eGSHPx a menos del 15%, se dispone de suficiente selenio para el incremento en la actividad cerebral de ID-II.

3.2.4. Deficiencia de Yodo y Selenio en Tejido Adiposo Pardo

El tejido adiposo pardo (BAT) contiene actividad de ID-II y la T_3 generada por esta enzima juega un papel importante en la termogénesis (Bianco et al., 1988) En ratas selenodeficientes, la actividad de ID-II en el BAT disminuyó en 60% y el incremento normal en la actividad de ID-II inducido por estrés "frío" resultó menor; la actividad de ID-II en el BAT después de 18 horas a 4° resultó diez veces menor en animales selenodeficientes que en animales con niveles adecuados de selenio (Arthur et al., 1991). Así, la deficiencia de selenio puede deteriorar la respuesta termogénica al frío y coloca en situación difícil a los neonatos. La actividad de ID-II en el BAT se incrementa con la deficiencia en yodo, pero es revertida por la deficiencia de selenio (Geloan et al., 1990; Mitchell et al., 1997). Una disminución en las concentraciones de T_3 en BAT es probablemente una consecuencia de bajos niveles de T_4 en plasma y de la actividad inhibida de ID-II por la combinación en la deficiencia de yodo y selenio. La deficiencia combinada de estos elementos parece reducir la capacidad de animales recién nacidos para generar calor y puede tener implicaciones para su sobrevivencia en el estrés frío. El BAT de los rumiantes contiene ID-I más que ID-II, la actividad se presenta sólo durante las primeras 3 semanas de vida. Si la mayor sensibilidad de ID-I en comparación a ID-II, a la deficiencia de selenio aplica a rumiantes, tiene que existir una importante interacción entre yodo y selenio en la respuesta de rumiantes neonatos al estrés frío. Sin embargo, esta hipótesis requiere de investigación adicional para evaluar su relevancia para la sobrevivencia de los animales en condiciones de frío (Arthur et al., 1999).

3.2.5. Deficiencia de Iodo y Selenio: Respuesta Diferente por Especie

En contraste con ratas y humanos, muchas otras especies como bovinos, ovejas y cabras no expresan actividad tiroidea significativa de ID-I bajo condiciones normales y por lo tanto es muy probable que dependan completamente de la síntesis *de novo* de T3 en la deficiencia de selenio (Beech et al., 1993). Sin embargo, la deficiencia de yodo aumenta la actividad tiroidea de ID-I 10 a 12 veces en vacas y sus becerros, aunque la actividad final resulta todavía menor a los niveles normales de ratas y humanos. La actividad tiroidea de cGSHPx también se incrementa, probablemente en respuesta a los altos niveles de H_2O_2 producidos para estimular la síntesis de hormonas tiroideas (Zagrodzki et al., 1998). De esta forma las vacas deficientes en yodo y sus becerros pueden inducir mecanismos de compensación similares a los de las ratas para mantener la síntesis y el metabolismo de hormonas tiroideas y parecer “clínicamente normales”. Sin embargo, estos animales contaban con una ingesta adecuada de selenio y no se sabe si la deficiencia de selenio podría modificar esta respuesta compensatoria (McCoy et al., 1997; Zagrodzki et al., 1998).

4. OBJETIVOS

- Desarrollar un dispositivo intra-ruminal de liberación prolongada para la administración de yodo y selenio a ganado bovino.
- Evaluar las concentraciones de selenio en plasma y leche, así como de hormonas tiroideas (T3 y T4) en el plasma del ganado sujeto a suplementación con uno o una combinación de ambos elementos.
- Determinar si existe interacción entre yodo y selenio, en términos de las concentraciones de selenio y los de hormonas tiroideas.

5. HIPÓTESIS

- El ganado suplementado con yodo y selenio mostrará mayores concentraciones de selenio en plasma y leche por periodos más prolongados que el ganado solo suplementado con selenio y aquel suplementado solamente con yodo.
- Las vacas suplementadas con yodo y selenio simultáneamente tendrán mayor concentración de T3 y menor concentración de T4 en plasma, que las vacas tratadas sólo con yodo o selenio, lo que indicará que existe interacción positiva entre los elementos.
- La correcta formulación y el diseño apropiado del dispositivo resultarán en un producto práctico y efectivo para prevenir y/o corregir deficiencias de los elementos.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

El desarrollo de este trabajo se llevó a cabo en dos etapas de aproximadamente 3 meses cada una. Incluyeron a su vez las siguientes fases:

- I. Formulación de Bolos Intra-ruminales
- II. Fabricación de Bolos Intra-ruminales
- III. Administración de los Bolos a Bovinos Lecheros
- IV. Determinación de Selenio en Leche y Plasma.
- V. Determinación de Hormonas Tiroideas en Plasma

6.1. Formulación de Bolos Intra-ruminales (Etapa 1)

La fórmula de los bolos intra-ruminales incluyó al selenito de sodio (Na_2SeO_3) como fuente de selenio y al yoduro de potasio (KI) como fuente de yodo. El excipiente lipídico, un aceite vegetal hidrogenado, es el agente controlador de la liberación de los elementos. Se utilizó un agente densificador para lograr una densidad de 2.0 g/cm^3 como mínimo, para evitar la regurgitación del dispositivo. Se requirió además de la adición de un agente lubricante que redujera la fricción entre las piezas metálicas durante la compresión, así como la reducción de la adhesión de la fórmula a la superficie de matriz y punzones, y para facilitar la eyección del bolo.

Cuadro 3. Formulaciones para bolos en primera etapa.

Componente	Cantidad por Bolo (g)		
	F1 (Se)	F2 (I)	F3 (Se + I)
Selenito de Sodio	2.000♣	0.000	2.000♣
Yoduro de Potasio	0.000	1.059♠	1.059♠
Excipiente Lipídico	3.900	3.900	3.900
Lubricante	0.065	0.065	0.065
Densificador	7.035	7.976	5.975
Total	13.000	13.000	13.000

♣ Cantidad de Selenito de Sodio (Na_2SeO_3) equivalente a 900 mg de Selenio.

♠ Cantidad de Yoduro de Potasio (KI) equivalente a 722 mg de Yodo.

6.2. Formulación de Bolos Intra-ruminales (Etapa 2)

Cuadro 4. Formulaciones para bolos en segunda etapa

Componente	Cantidad por Bolo (g)		
	F1 (Se)	F2 (I)	F3 (Se + I)
Selenito de Sodio	4.000♣	0.000	4.000♣
Yoduro de Potasio	0.000	1.059♠	1.059♠
Excipiente Lipídico	10.2855	10.2855	10.2855
Lubricante	0.155	0.155	0.155
Densificador	16.5595	19.500	15.500
Total	31.000	31.000	31.000

♣ Cantidad de Selenito de Sodio (Na_2SeO_3) equivalente a 1.8 g de Selenio.

♠ Cantidad de Yoduro de Potasio (KI) equivalente a 722 mg de Yodo.

6.3. Fabricación de Bolos Intra-ruminales

La granulación por fusión, también llamada granulación termoplástica es un proceso en el cual la granulación es obtenida a través de la adición de un aglutinante que funde o se reblandece a relativamente baja temperatura (55-85°C). Después de la fusión, el excipiente lipídico actúa como un aglutinante líquido.

El proceso utiliza materiales que son efectivos como fluidos granulantes cuando se encuentran fundidos. El enfriamiento de los polvos aglomerados y la resultante solidificación de los materiales fundidos completan el proceso de granulación por fusión. El proceso aglomera de manera eficiente materiales farmacéuticos que pueden utilizarse en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata o sostenida.

- dependiendo de la formulación se pesaron cuidadosamente los materiales.
- Se colocó el excipiente lipídico en un vaso metálico
- Se inició el calentamiento con agitación ligera para promover la fusión del excipiente lipídico (80-90°C).
- Se adicionó el agente densificador, seguido del selenito de sodio y/o yodo de acuerdo a la formulación.
- Se aumentó la velocidad de agitación y se continuó mezclando hasta lograr la homogeneización.
- Se disminuyó la temperatura hasta el punto en donde era factible granular la masa.

- g) Se utilizó una malla del número 12 para hacer la granulación.
- h) Se dejó enfriar el granulado hasta temperatura ambiente.
- i) Antes de la compresión, se lubricó el granulado mezclándolo con el lubricante.
- j) La obtención de los bolos se llevó a cabo mediante la compresión de 13 gramos (Etapa 1) o 31 gramos (Etapa 2) de la formulación en turno. El pesado se realizó en balanza analítica, el llenado fue manual y la compresión se realizó en una prensa hidráulica de laboratorio "Carver Press" empleando 3 toneladas en la fuerza de compresión y 15 segundos en el tiempo de compresión.

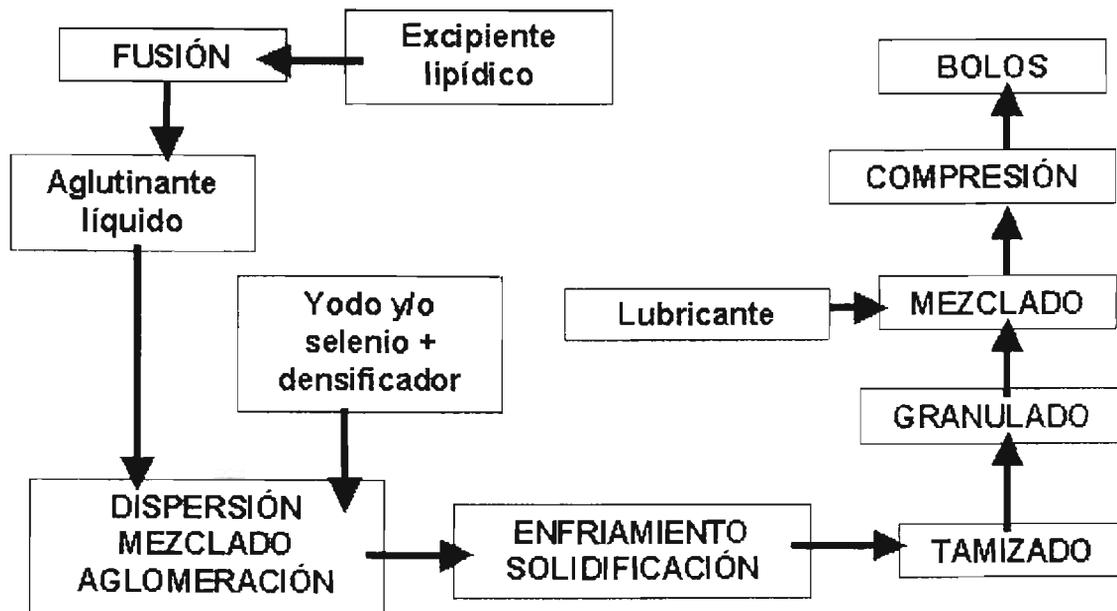


Figura 9. Diagrama de flujo para el proceso de fabricación de los bolos.

6.4. Administración de Bolos a Bovinos Lecheros

6.4.1. Localización

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del módulo de producción de leche orgánica de la granja experimental de zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, Estado de México. Se ubica aproximadamente en el paralelo 19°29' de latitud norte y en el meridiano 98°53' de longitud oeste.

6.4.2. Clima

El clima que predomina es el templado subhúmedo con lluvias en verano y precipitación anual promedio de 645 mm, con poca oscilación de temperatura (5 a 7°C), temperatura media anual de 15°C.

6.4.3. Tratamientos

En cada etapa se evaluaron tres tratamientos: F1: Selenio; F2: Yodo; F3: Yodo y Selenio. La aplicación de cada tratamiento se realizó con la administración oral de un bolo a cada animal.

6.4.4. Manejo de los Animales (Etapa 1)

Se utilizaron 18 vacas de raza Holstein y 12 vacas de raza Jersey en lactación y estado gestacional variable. A estos animales se les identificó, desparasitó y se les aplicó una dosis de vitamina ADE. A cada animal se le asignó aleatoriamente uno de los tres tratamientos, formándose tres grupos con 6 vacas Holstein y 4 Jersey cada uno. Antes de la administración del bolo (tratamiento) se tomó una primera muestra de sangre y leche. Una vez realizada la administración, el muestreo se realizó cada 15 días por los siguientes 45 días.

6.4.5. Manejo de los Animales (Etapa 2)

Se utilizaron 22 vacas de raza Holstein y 14 vacas de raza Jersey en lactación y estado gestacional variable. Se tomaron muestras de sangre y leche 15 días antes de la administración, el día de la administración, y posteriormente cada 15 días durante un periodo de 3 meses.

6.4.6. Manejo de la Alimentación

La alimentación de los animales estuvo basada exclusivamente en pastoreo en praderas con asociaciones de Alfalfa, Trébol blanco, Orchard y Ballico.

6.4.7. Muestras de Sangre

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción yugular o coccígea en tubos con EDTA. El plasma obtenido por centrifugación se mantuvo en congelación a -20°C hasta su análisis.

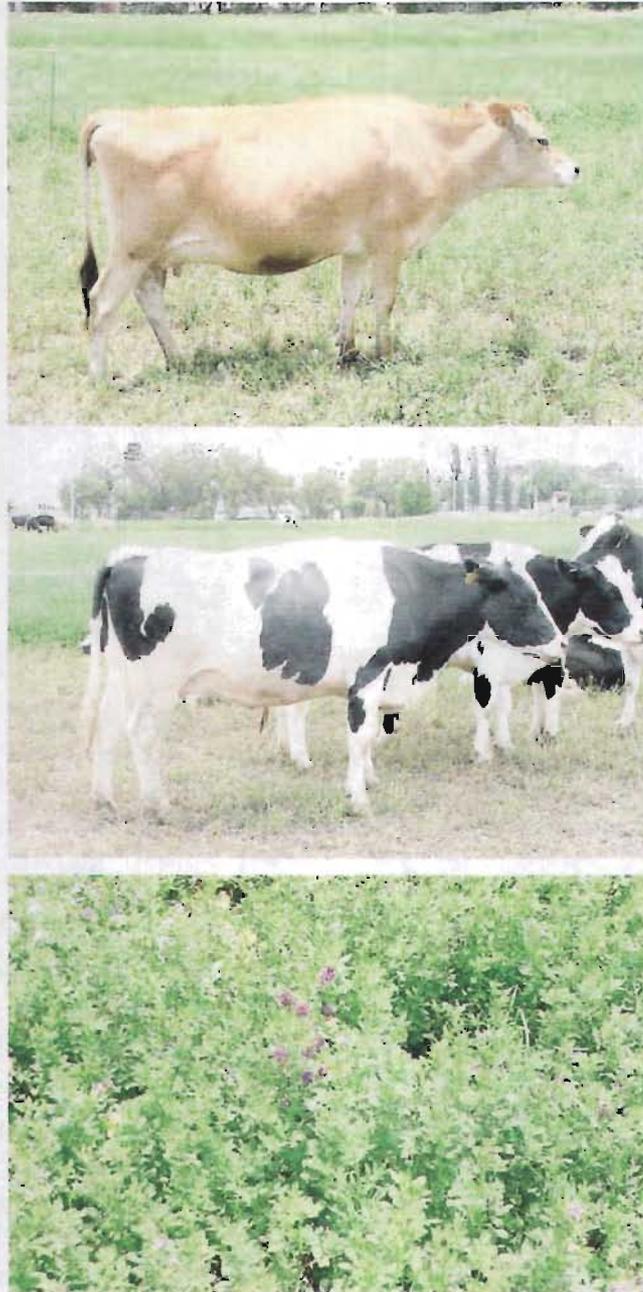


Figura 10. Animales y pradera usados en el estudio. Arriba un ejemplar de raza Jersey, en medio un ejemplar de raza Holstein, y abajo el tipo de pradera.

6.5. Variables de Respuesta

6.5.1. Concentración de Selenio en Plasma.

a) Equipo:

- Horno de microondas "MARS 5" CEM Corporation, Falcon USA.
- Espectrofotómetro de Absorción atómica "SpectrAA 800", Varian.
- Generador de Hidruros VGA 77 Varian.

b) Material:

- Vasos de teflón para horno de microondas HP-500 plus.
- Membranas para vasos HP-500 CEM.
- Sensor de temperatura de fibra óptica CEM.
- Lámpara de selenio HC Lamp-Se Varian.
- Celda de cuarzo Varian.
- Micropipeta Finnipipette Labsystems capacidad 100-1000 μ l.
- Micropipeta Finnipipette Labsystems capacidad 5-50 μ l.
- Micropipeta Finnipipette Labsystems capacidad 1-5 ml.
- Pipetas volumétricas de 1, 2, y 5 ml Kimax.
- Matraces volumétricos tipo "A" de 25, 50 y 1000 ml Kimax.
- Probeta graduada de 1000 ml.

c) Reactivos:

- Ácido nítrico R. A. 65.4% de pureza, Baker.
- Ácido clorhídrico R. A. 36.5-38% de pureza, Baker.
- Peróxido de hidrógeno en solución al 30%, Baker.
- Estándar de selenio de alta pureza (99.999%), 1000 \pm 3 μ g/ml en 2% de ácido nítrico.
- Hidróxido de sodio perlas 98.4% de pureza, Baker.
- Borohidruro de sodio 98% de pureza, Baker.
- Agua desionizada.

d) Gases:

- Acetileno, AGA.
- Nitrógeno 99.9% de pureza, AGA.
- Aire Comprimido.

e) Tratamiento de las muestras:

- Se pesó 1 gramo de plasma en cada vaso utilizando una balanza analítica.
- Se agregaron 10 ml de agua desionizada y 5 ml de ácido nítrico concentrado.
- Se adicionaron 2 ml de peróxido de hidrógeno.
- Las muestras se mantuvieron en reposo por 30 minutos.

f) Digestión de las muestras:

- La digestión se realizó usando las siguientes rampas de temperatura:
- De temperatura ambiente a 120°C en 5 minutos.
- La temperatura se mantiene en 120°C durante 2 minutos.
- De 120°C a 170°C en 5 minutos.
- La temperatura se mantuvo en 170°C por 5 minutos.
- Enfriamiento de las muestras.
- Cada muestra se transfirió a un matraz volumétrico de 50 ml y el volumen se completó hasta la marca del aforo con ácido clorhídrico 7 M..

g) Cuantificación:

- Se utilizó el espectrofotómetro de absorción atómica con el sistema de generador de hidruros.
- La presión de los gases fue de 50 psi para nitrógeno y de 20 psi para acetileno.
- El flujo de la muestra fue de 8 ml/minuto.
- El flujo del ácido y reductor fue de 1 ml/minuto.
- Se corrió la curva de calibración (2, 4, 6, 8, y 10 ppb).
- Se midieron las absorbancias de las muestras y se interpolaron en la curva de calibración para obtener la concentración de cada una.
- Las concentraciones se reportan en partes por billón (ppb), es decir en (ng/kg).

6.5.2. Concentración de Selenio en Leche.

El equipo, material, reactivos y gases empleados fueron los mismos que para el caso de las muestras de plasma (inciso a-d). Sin embargo, el tratamiento de la muestra fue diferente y se describe a continuación:

h) Tratamiento de las muestras.

- Se pesaron 0.5 gramos de muestra en cada vaso, empleando una balanza analítica.
- Se adicionaron 3 ml de agua desionizada y 5 ml de ácido nítrico concentrado.
- Se adicionó 1 ml de peróxido de hidrógeno.
- Las muestras se dejaron reposar durante 30 minutos.

i) Digestión de las muestras

- La digestión se realizó utilizando las siguientes rampas de temperatura:
- De temperatura ambiente hasta 100°C en 6:24 minutos:segundos.
- La temperatura se mantuvo en 100°C durante 5:12 minutos:segundos.
- De 100°C hasta 140°C en 4:13 minutos:segundos.
- La temperatura se mantuvo en 140°C por 6:12 minutos:segundos.

j) Cuantificación:

- Se utilizó el mismo equipo, gases, y flujo de muestra, ácido y reductor que para el caso de plasma.
- La curva de calibración en este caso incluyó 1, 2, 3, 4 y 5 ppb.
- Se midieron las absorbancias de las muestras y se interpolaron en la curva de calibración para conocer las concentraciones de cada una.
- Las concentraciones se reportan en microgramos de selenio por cada 100 gramos de muestra, es decir $\mu\text{g}/100\text{g}$.

6.5.3. Concentración de Hormonas Tiroideas (T3 y T4).

La concentración total de Triyodotironina (T3) y tiroxina (T4) se midió con un sistema de ensayo inmunoenzimático (ELISA), utilizando el test diagnóstico de Immunometrics (UK). La técnica de EIA se realizó por duplicado de acuerdo con las indicaciones dadas por el fabricante, empleando un espectrofotómetro UV-VIS Vankel y celdas de cuarzo con capacidad de 1.3 ml y paso óptico de 1cm, y realizando la curva de calibración mediante estándares aportados por el mismo fabricante:

T3 : 0, 0.77, 1.54, 3.85, 7.70, y 15.40 nmol/L.

T4: 0, 25.7, 51.5, 103.0, 193.0, y 386.0 nmol/L

. Las concentraciones se reportan en nanomoles por cada litro, es decir (nmol/L).

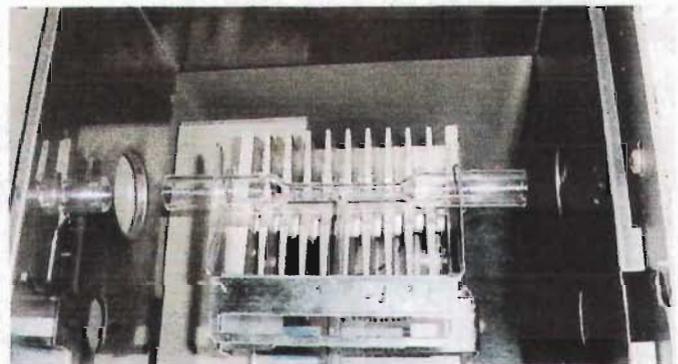
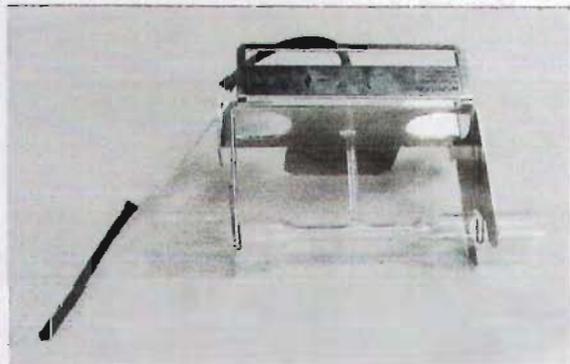


Figura 11. Equipo. Arriba: Horno de microondas "MARS 5", cerrado (izquierda), y mostrando en su interior el carrusel con vasos HP-500 plus. Al centro: celda de cuarzo y trampa (izquierda), a la derecha la celda de cuarzo montada sobre el horno del equipo de absorción atómica. Abajo: A la izquierda el generador de hidruros, y a la derecha vista general del espectrofotómetro de absorción atómica "SpectrAA-800".

6.6. Diseño Experimental y Modelo Estadístico

Los tratamientos fueron asignados a las unidades experimentales (vacas) mediante un diseño completamente al azar.

Los datos obtenidos fueron analizados con el procedimiento "Mixed" del paquete estadístico SAS® (1999) como un diseño completamente al azar con mediciones repetidas.

Modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i\beta_j + d_k(\alpha_i\beta_j) + \tau_l + \alpha_i\tau_l + \beta_j\tau_l + \alpha_i\beta_j\tau_l + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = Variable de Respuesta.

μ = media poblacional.

α_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

β_j = Efecto del j-ésimo genotipo.

$\alpha_i\beta_j$ = Efecto de la interacción i-ésimo tratamiento x j-ésimo genotipo.

$d_k(\alpha_i\beta_j)$ = Efecto de la k-ésima vaca dentro de la interacción i-ésimo tratamiento x j-ésimo genotipo.

τ_l = Efecto del l-ésimo día.

$\alpha_i\tau_l$ = Efecto de la Interacción i-ésimo tratamiento x l-ésimo día.

$\beta_j\tau_l$ = Efecto de la interacción del j-ésimo genotipo x l-ésimo día.

$\alpha_i\beta_j\tau_l$ = Efecto de la interacción i-ésimo tratamiento x j-ésimo genotipo x l-ésimo día.

ε_{ijkl} = Error experimental.

Las medias de los tratamientos se compararon mediante el procedimiento de diferencia mínima significativa "lsmeans" con el mismo paquete estadístico SAS®.

Análisis de Correlación

Se utilizó el Análisis de Regresión Simple del paquete estadístico STATGRAPHICS® Plus versión 4.0, para estimar una regresión lineal o no lineal entre dos variables. En el modelo se relacionó una variable dependiente (la concentración plasmática de T3, T4, o la concentración de Selenio en Leche), con una variable independiente (la concentración de selenio en plasma).

Se analizó y comparó el ajuste de varios modelos estándar y se seleccionó el modelo más significativo de acuerdo con el valor de la R-cuadrada.

Modelo	Expresión
Lineal	$Y = a + b * X$
Exponencial	$Y = \exp(a + b * X)$
Recíproco-Y	$Y = 1 / (a + b * X)$
Recíproco-X	$Y = a + b / X$
Doble recíproco	$Y = 1 / (a + b / X)$
Logarítmico-X	$Y = a + b * \ln(X)$
Multiplicativo	$Y = a * X^b$
Raíz cuadrada-X	$Y = a + b * \sqrt{X}$
Raíz cuadrada-Y	$Y = (a + b * X)^2$
Curva-S	$Y = \exp(a + b / X)$

Donde: a = intercepto, b = pendiente

7. RESULTADOS

7.1. Etapa 1.

7.1.1. Dimensiones Físicas y Densidad de los Bolos.

La masa promedio ($n=22$) de los bolos de Selenio fabricados en etapa 1 resultó de 13.0265 gramos, con una Desviación Estándar (σ) = 4.9393×10^{-3} y un Coeficiente de variación (CV) de 0.0379%. La densidad de los bolos se determinó por desplazamiento de agua en una probeta graduada. La determinación se hizo por triplicado empleando dos bolos en cada ocasión. La densidad promedio resultó de 2.3667 g/cm^3 , con una $\sigma = 1.1547 \times 10^{-3}$ y un CV de 0.0487%.

En cuanto a las dimensiones físicas, se evaluaron 20 bolos empleando un micrómetro (calibrador) digital Mitutoyo y los resultados fueron los siguientes:

- Largo 45.08 mm, $\sigma = 0.01076$, y CV = 0.02386%
- Ancho 13.1665 mm, $\sigma = 0.01424$ y CV = 0.1081%
- Espesor 13.2657 mm, $\sigma = 0.0633$, y CV = 0.4773%

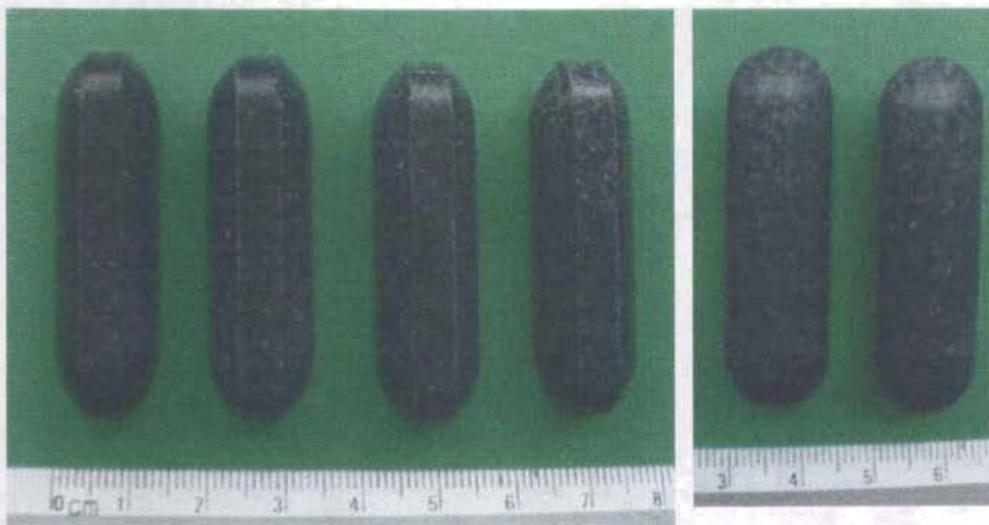


Figura 12. Fotografías de los Bolos de Selenio Etapa 1, mostrando largo y espesor (izquierda) y largo y ancho (derecha).

Con el objetivo de evitar la regurgitación del bolo intra-ruminal, se tenía que fabricar haciéndolo lo suficientemente denso para que permaneciera en el retículo. También había que tomar en cuenta que para evitar daño a la mucosa de este órgano, el bolo debería contar con una geometría que evitara partes agudas.

De acuerdo con Gyurik (1988), una densidad de 2.25 a 3.5 g/cm³ deberá mantenerse para evitar la regurgitación en animales en pastoreo. Este requisito está cubierto por los bolos fabricados en esta etapa ya que cuentan con una densidad de 2.36 g/cm³. En cuanto a la geometría, en la Figura 12 se puede observar que los bolos tienen puntas redondeadas y superficie lisa.

7.1.2. Perfiles Plasmáticos de Selenio *

De acuerdo con el análisis estadístico de los datos de concentración plasmática de selenio obtenidos en esta primera etapa (Anexo 1), se encontró que hubo efecto significativo de los tratamientos ($P = 0.0197$), del tiempo ($P < 0.0001$), y de la interacción entre tratamiento y tiempo ($P < 0.0001$). En contraparte, no hubo efecto significativo de la raza, de la interacción entre la raza y el tratamiento, de la interacción entre raza y tiempo, ni tampoco de la interacción entre raza-tratamiento-tiempo ($P > 0.05$).

En cuanto a los contrastes, las concentraciones plasmáticas de selenio de los animales que recibieron el bolo con yodo resultaron significativamente diferentes de aquellas obtenidas para los animales que recibieron los bolos con selenio y selenio + yodo, respectivamente ($P = 0.0095$).

En virtud de la importancia que tiene el efecto de la interacción entre tratamiento y tiempo, el análisis que se presenta a continuación estará centrado sobre este efecto.

* Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 1.

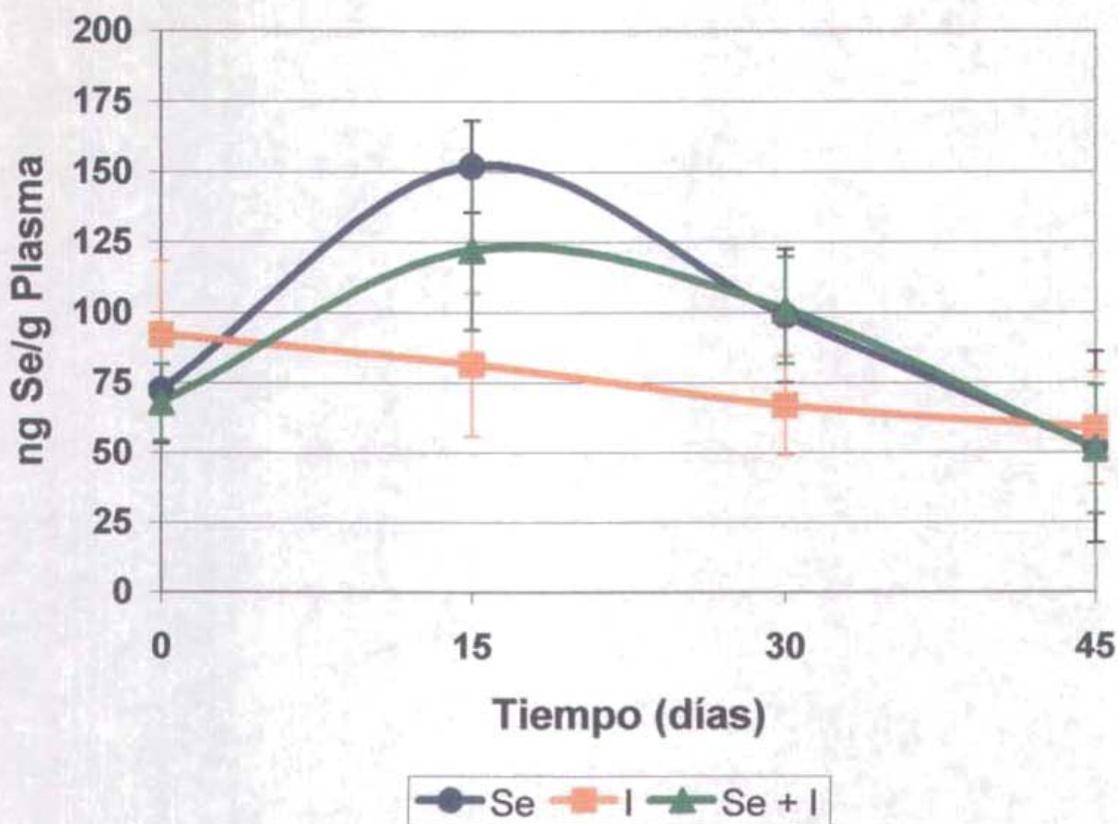


Figura 13. Concentración Plasmática de Selenio en Función del Tiempo (Etapa 1)

La Interacción Tratamiento-Tiempo *

Dentro del tratamiento 1 (Selenio) se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones plasmáticas iniciales (día cero) y las de los días 15, 30 y 45. Las concentraciones plasmáticas de selenio en el día 15 fueron en promedio 80.7917 ng Se/g plasma mayores a las del día cero ($P < 0.0001$). Las concentraciones plasmáticas de selenio en el día 30 fueron en promedio 28.75 ng Se/g plasma mayores a las del día cero ($P = 0.0028$). Sin embargo, a los 45 días las concentraciones fueron menores en promedio 21.6250 ng Se/g plasma a las del día cero. También dentro del tratamiento 1, las concentraciones plasmáticas de selenio a los 15 días resultaron significativamente diferentes a las de los días 30 y 45. Siendo mayores en promedio 52.0417 y 102.42 ng Se/g plasma, ambas con valor de $P < 0.0001$. Asimismo hay diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de selenio en el día 30 y el día 45, siendo mayores las primeras por 50.3750 ng Se/g plasma en promedio con un valor de $P < 0.0001$.

* Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 1.

Esto indica que aquellos animales que recibieron el bolo con selenio mostraron un aumento significativo en la concentración plasmática en los primeros 15 días del tratamiento, y que después la concentración del elemento fue disminuyendo hasta que el día 45 ya estaban por debajo de la concentración inicial.

La concentración plasmática de selenio máxima debió encontrarse dentro de los primeros 15-20 días de tratamiento, por lo que hubiera sido de gran utilidad muestrear con mayor frecuencia durante este periodo, por ejemplo, una muestra inicial y después cada 3-4 días para tener un total de 6 a 8 puntos en los primeros 20-21 días de estudio. Por otro lado, es claro que este tratamiento fue efectivo al menos durante 30 días y con seguridad por menos de 45 días. Aquí la propuesta sería muestrear al día 35 y 40 para tener mejor idea de la duración de este tratamiento.

Dentro del tratamiento 2 (Yodo) no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones plasmáticas iniciales y a los 15 días. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de selenio en el día 30 y 45 fueron menores en promedio 22.2083 y 30.9583 ng Se/g plasma, con respecto a las iniciales ($P = 0.0169$ y $P = 0.0069$, respectivamente). Esto indica que existe una disminución en la concentración plasmática de selenio con el tiempo en los animales que no recibieron bolo con selenio y sólo recibieron yodo. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de selenio en el día 15 y 30, pero sí en el día 15 y 45, siendo mayores las del día 15 en promedio por 21.25 ng Se/g plasma, con un valor de $P = 0.0416$. Tampoco hubo diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de selenio en los días 30 y 45.

Dentro del tratamiento 3 (Selenio + Yodo) se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones plasmáticas de selenio iniciales y las de los días 15 y 30. Las concentraciones plasmáticas de selenio a los 15 y 30 días resultaron mayores a las iniciales en promedio 55.8333 y 33.6667 ng Se/g plasma, respectivamente ($P < 0.001$, y $P = 0.007$, respectivamente). Sin embargo, ya no se encontró diferencia significativa entre las concentraciones iniciales y las obtenidas a los 45 días. Existe diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de selenio en el día 15 con respecto a las de los días 30 y 45, resultando mayores las del día 15 en promedio por 22.1677 y 74.0417 ng Se/g plasma, respectivamente ($P = 0.0056$ y $P < 0.0001$ respectivamente). También hubo diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de selenio en el día 30 y 45, siendo mayores las del día 30 en promedio por 51.8750 ng Se/g plasma, con un valor de $P < 0.0001$.

Al igual que en el caso del tratamiento 1 lo que se observó es un aumento significativo de la concentración plasmática de selenio en los primeros 15 días del tratamiento y una disminución posterior hasta que el día 45 ya no hubo diferencia significativa con respecto a las concentraciones iniciales. Nuevamente la concentración máxima debió estar ubicada en los primeros 15-20 días, y la duración del tratamiento mayor a 30 días pero menor a los 45.

Para el análisis entre tratamientos se consideró un tiempo a la vez, comenzando por el día cero y posteriormente por el día 15, 30 y 45.

En el día cero no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, los tres grupos de animales iniciaron con concentraciones plasmáticas de selenio similares.

En el día 15 se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones plasmáticas de selenio del tratamiento 1 (selenio) con respecto al 2(yodo) y 3 (selenio + yodo). Los animales con el tratamiento 1 mostraron mayores concentraciones, en promedio 73.4583 y 28.75 ng Se/g plasma, que los animales con tratamiento 2 y 3 respectivamente ($P < 0.0001$ y $P = 0.0138$ respectivamente).

En el día 30 se encontró diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de selenio del tratamiento 1 (selenio) y 2 (yodo), siendo mayores las del tratamiento 1 en promedio por 33.9167 ng Se/g plasma, con un valor de $P = 0.0016$. No existió diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de selenio de los animales tratados con selenio y aquellos tratados con la combinación de selenio + yodo.

En el día 45 no se encontró diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de selenio de los animales tratados con selenio, yodo, y selenio + yodo.

Estos resultados indican que los tratamientos de selenio y selenio + yodo difirieron significativamente del tratamiento con yodo durante el primer mes de tratamiento. La diferencia entre el tratamiento 1 (selenio) y 3 (selenio + yodo) ocurrió en los primeros 15 días. Contrario a lo que se esperaba, la presencia del yodo en combinación con selenio resultó en concentraciones plasmáticas más bajas de selenio que cuando el selenio se administra solo.

7.1.3. Concentración de Selenio en Leche †

De acuerdo con el análisis estadístico de las concentraciones de selenio en leche durante la primera etapa (Anexo 2), existió efecto significativo del tratamiento ($P = 0.0133$), del tiempo ($P = 0.0121$), de la interacción entre tratamiento y tiempo ($P = 0.0168$) y de la interacción raza-tratamiento-tiempo ($P = 0.0055$).

Los contrastes indican diferencia significativa entre el tratamiento 2(yodo) con respecto al 1 (selenio) y al 3 (selenio + yodo), con $P = 0.0050$.

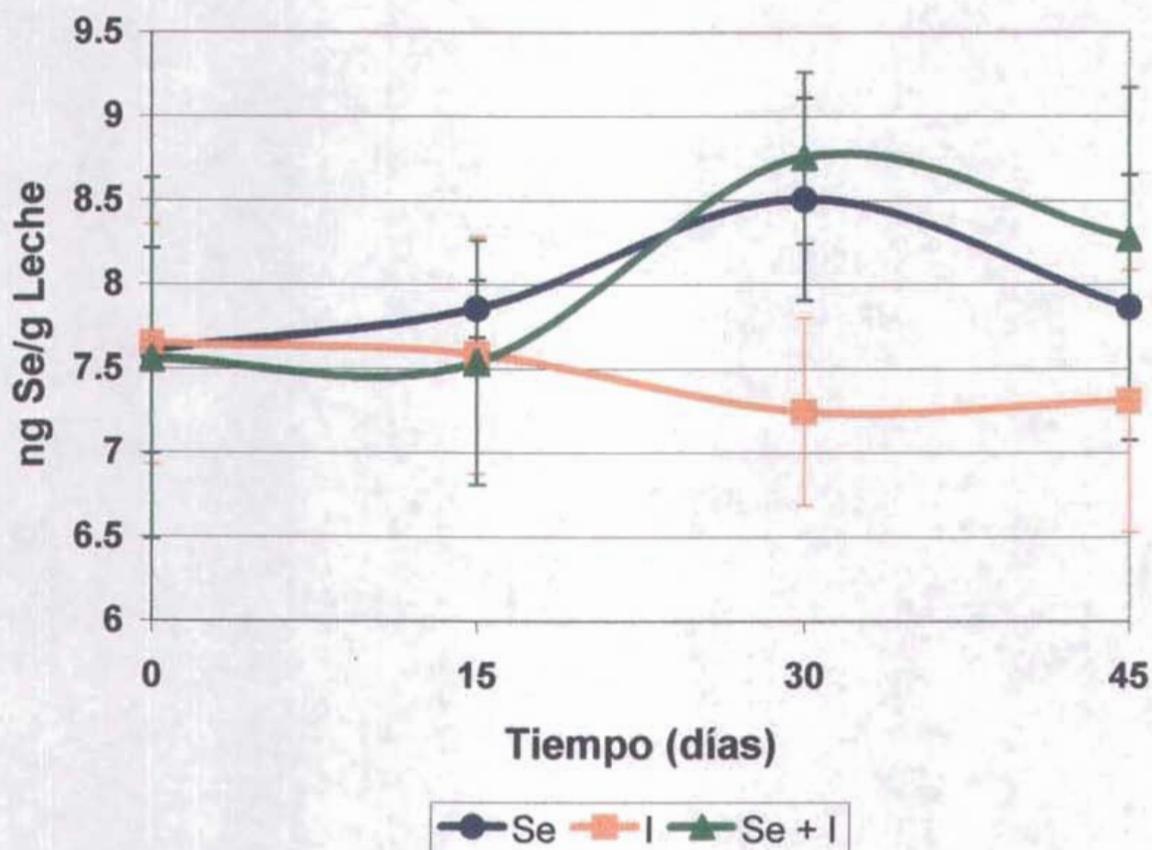


Figura 14. Concentración de Selenio en Leche en función del tiempo (Etapa 1)

† Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 2.

La Interacción Tratamiento-Tiempo †

Dentro del tratamiento 1 (Selenio), la única diferencia significativa se presentó entre la concentración inicial de selenio en leche y aquella observada el día 30. Las concentraciones al día 30 fueron mayores en promedio por 0.9975 ng Se/g Leche, con un valor de $P = 0.0120$.

Dentro del tratamiento 2 (Yodo) no existió diferencia en las concentraciones de selenio en leche con respecto al tiempo. Esto quiere decir que las concentraciones de selenio en leche de los animales que solo recibieron yodo se mantuvieron "estables", es decir, dentro de un mismo intervalo durante todo el periodo de tratamiento.

Dentro del tratamiento 3 (Selenio + Yodo) existió diferencia significativa de las concentraciones iniciales de selenio en leche con respecto a las concentraciones observadas en el día 30 y 45. Las del día 30 fueron mayores en promedio por 1.325 ng Se/g leche, que las iniciales ($P = 0.0004$). Las concentraciones de selenio en leche a los 45 días fueron mayores en promedio por 0.8456 ng Se/g leche, que las iniciales ($P = 0.0540$). Las concentraciones de selenio en leche a los 30 días también fueron mayores a las observadas el día 15 en promedio por 1.155 ng Se/g leche, con un valor de $P = 0.0026$.

En el caso del tratamiento 3 los resultados indican que los animales que recibieron la combinación de elementos (selenio + yodo) mostraron las mayores concentraciones de selenio en leche entre el día 30 y 45, y que estas concentraciones resultaron diferentes de las observadas al inicio y en los primeros 15 días.

Para el análisis entre tratamientos se consideró un tiempo a la vez, comenzando por el día cero y posteriormente por el día 15, 30 y 45.

En el día cero y a los 15 días no hay diferencia significativa entre los tres tratamientos.

† Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 2.

A los 30 días se encontró diferencia significativa entre las concentraciones de selenio en leche de animales tratados con selenio (F1) y aquellos tratados con yodo (F2). Las concentraciones fueron mayores para el grupo que recibió selenio en promedio por 1.205 ng Se/g leche, con un valor de $P = 0.0005$. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones de selenio en leche de animales que recibieron el bolo con selenio y aquellos que recibieron el bolo con selenio + yodo. Existió diferencia significativa en las concentraciones de selenio en leche entre el tratamiento con yodo (F2) y el tratamiento de selenio + yodo (F3), siendo mayores las concentraciones de selenio en leche para los animales que recibieron la combinación de elementos por 1.463 ng Se/g leche y $P < 0.0001$.

A los 45 días los resultados indican que ya no existía diferencia significativa en las concentraciones de selenio en leche de animales que recibieron el bolo con selenio (F1) y aquellos que recibieron el bolo con yodo (F2). Tampoco entre los animales que recibieron el bolo con yodo (F2) y aquellos que recibieron el bolo con selenio + yodo (F3). Comparando los tratamientos 2 y 3, los animales que recibieron la combinación de elementos parecen tener una mayor concentración de selenio en leche (0.9386 ng Se/g leche) aunque el valor de P fue de 0.0561.

En conclusión, la administración de bolos con selenio o de bolos con selenio + yodo produjo mayores concentraciones de selenio en leche a los 30 días de la administración.

Perfiles Plasmáticos de Triyodotironina (T3)[^]

Los resultados del análisis estadístico (Anexo 3), muestran que hubo efecto significativo del tratamiento ($P = 0.0002$), del tiempo ($P < 0.0001$), y de la interacción entre tratamiento y tiempo ($P = 0.0034$).

Los contrastes indican que existió diferencia significativa entre el tratamiento con selenio + yodo (F3) con respecto al tratamiento con yodo (F2) y Selenio (F1) con un valor de $P = 0.0044$. Asimismo, que el tratamiento con yodo (F2) difirió significativamente de los tratamientos en donde se administró selenio (F1 y F3) con un valor de $P < 0.0001$.

[^] Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 3.

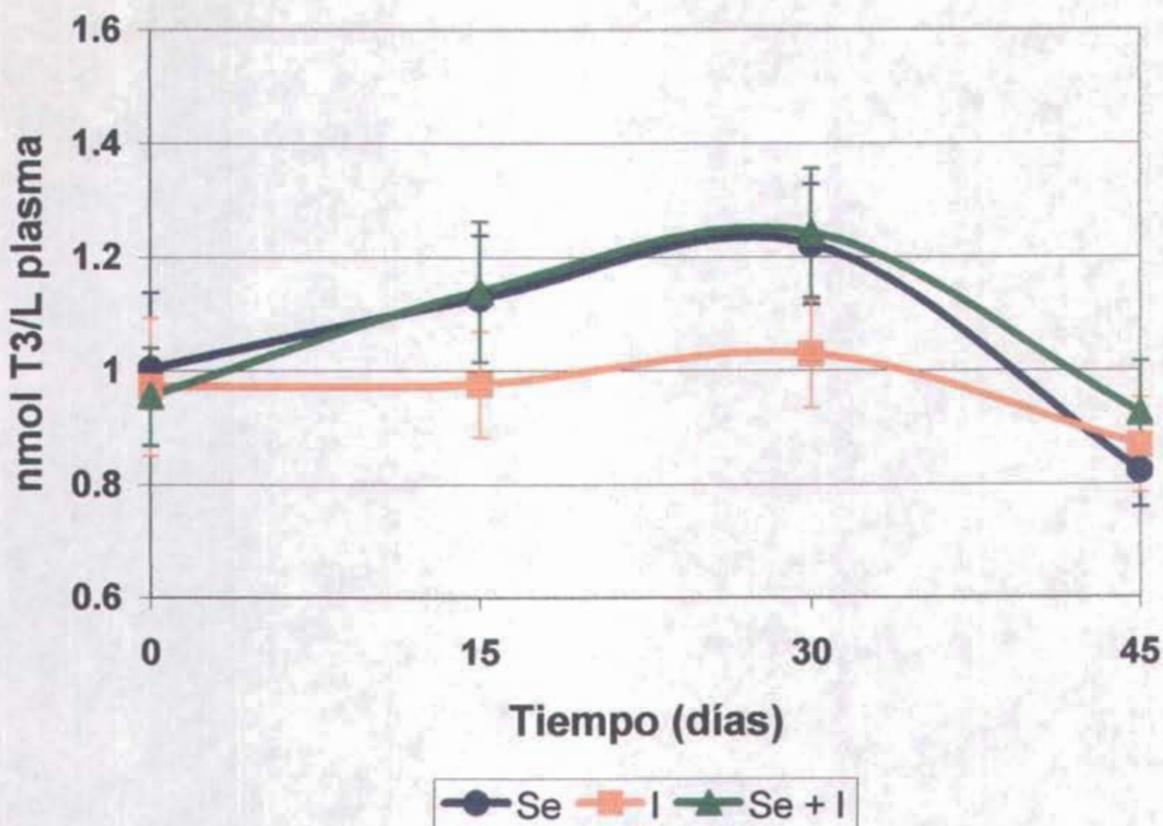


Figura 15. Perfiles plasmáticos de Triyodotironina (T3) en función del tiempo.

La Interacción Tratamiento-Tiempo

Dentro del tratamiento 1 (selenio), la concentración plasmática de T3 aumentó a los 15 días y continuó aumentando hasta el día 30 para después disminuir a los 45 días aún por debajo de las concentraciones iniciales. Existió diferencia significativa entre las concentraciones iniciales de T3 y aquellas observadas a los 15 y 30 días. A los 15 días fueron mayores en promedio por 0.1383 nmol T3/L plasma y a los 30 días por 0.2321 nmol T3/L plasma, con valores de $P = 0.0093$ y $P = 0.0001$ respectivamente. No hubo diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de T3 entre los días 15 y 30. A los 45 días existió diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de T3 con respecto al día cero, 15 y 30 días, en este punto se presentaron las concentraciones más bajas de T3. El efecto positivo del selenio sobre la concentración de T3 tuvo una duración de entre 15 y 30 días.

^ Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 3.

Dentro del tratamiento 2 (yodo), no existió diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de T3 observadas inicialmente, a los 15 y 30 días. Sin embargo, las concentraciones a los 45 días fueron más bajas significativamente de las anteriores, un efecto también observado en los animales tratados con Selenio.

Dentro del tratamiento 3 (selenio + yodo) hubo un aumento en las concentraciones plasmáticas de T3 a los 15 días, y se prolongó hasta el día 30. Existió diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas iniciales de T3 y las observadas a los 15 y 30 días. A los 15 días fueron mayores en promedio por 0.1754 nmol T3/L plasma, y a los 30 días por 0.2862 nmol T3/L, plasma, con valores de $P = 0.0015$ y $P < 0.0001$, respectivamente. No existió diferencia significativa en las concentraciones plasmáticas de T3 entre el día 15 y el 30.

Las concentraciones de T3 a los 45 días difirieron significativamente y fueron menores a las observadas en los días 15 y 30. Sin embargo no difirieron de las observadas inicialmente. En este caso, también se observó una disminución en los niveles plasmáticos de T3 a los 45 días, sin embargo, esta disminución no fue tan marcada como la observada para el grupo 1 y 2, ya que los niveles son comparables a los iniciales.

Para el análisis entre tratamientos se consideró un tiempo a la vez, comenzando por el día cero y posteriormente por el día 15, 30 y 45.

En el día cero no hubo diferencia significativa en los niveles plasmáticos de Triyodotironina entre los tres tratamientos.

A los 15 días, los animales que recibieron el bolo con selenio (F1) mostraron mayores concentraciones de T3 en plasma con respecto a los animales que recibieron yodo (F2). La diferencia resultó significativa, la concentración en los animales del grupo 1 fue mayor en promedio por 0.1579 nmol T3/L plasma, con un valor de $P = 0.0046$. Al mismo tiempo no hubo diferencia significativa en los niveles plasmáticos de T3 en animales que recibieron el bolo con selenio o el bolo con selenio + yodo. La concentración de T3 en animales que recibieron la combinación de selenio + yodo fue mayor en promedio por 0.1567 nmol T3/L plasma, con respecto a los animales que recibieron solo yodo, la diferencia resultó significativa con un valor de $P = 0.0049$.

A los 30 días, la situación resultó similar a la observada a los 15. Los animales que recibieron selenio y selenio + yodo mostraron concentraciones plasmáticas de T3 mayores y significativamente diferentes a las de los animales que recibieron solamente yodo. El tratamiento con el selenio produjo un aumento en promedio de 0.1988 nmol T3/L plasma, y el tratamiento con selenio + yodo de 0.2146 nmol T3/L plasma, por arriba de las concentraciones encontradas en los animales que recibieron el bolo con yodo (los valores de $P = 0.0006$ y de $P = 0.0003$, respectivamente). En este punto no hubo diferencia significativa entre las concentraciones de T3 producidas por el tratamiento con selenio y el tratamiento con selenio + yodo.

A los 45 días ya no hubo diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de los animales que recibieron el bolo con yodo y aquellos que recibieron selenio o la combinación de selenio + yodo. Sin embargo, existió diferencia significativa entre el tratamiento con selenio y el tratamiento con selenio + yodo ($P = 0.0187$). Las concentraciones plasmáticas de T3 fueron mayores en animales que recibieron la combinación de elementos, en promedio por 0.09417 nmol T3/L plasma.

Los resultados mostraron que la liberación de selenio a partir del bolo cesó aproximadamente a los 30 días, después de los cual se observó una disminución en la concentración de T3. La combinación de selenio + yodo evitó que esta disminución fuera tan pronunciada como en el caso del tratamiento que solo suplementó selenio. Hubo un efecto observable de disminución en las concentraciones plasmáticas de Triyodotironina entre los 30 y 45 días no sólo en aquellos animales que recibieron selenio o selenio + yodo, sino también en aquellos que recibieron solamente yodo.

7.1.5. Perfiles Plasmáticos de Tiroxina (T4) [❖]

De acuerdo con el análisis estadístico (Anexo 4), existió efecto significativo del tratamiento ($P = 0.0050$), y del tiempo ($P < 0.0001$), sobre las concentraciones plasmáticas de tiroxina (T4). A diferencia de los análisis anteriores, en este caso no hubo efecto significativo de la interacción entre tratamiento y tiempo ($P = 0.0576$). Los contrastes indican diferencia significativa en los niveles de T4 en el plasma de animales que recibieron el bolo con yodo y aquellos animales que recibieron selenio o selenio + yodo.

[❖] Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 4.

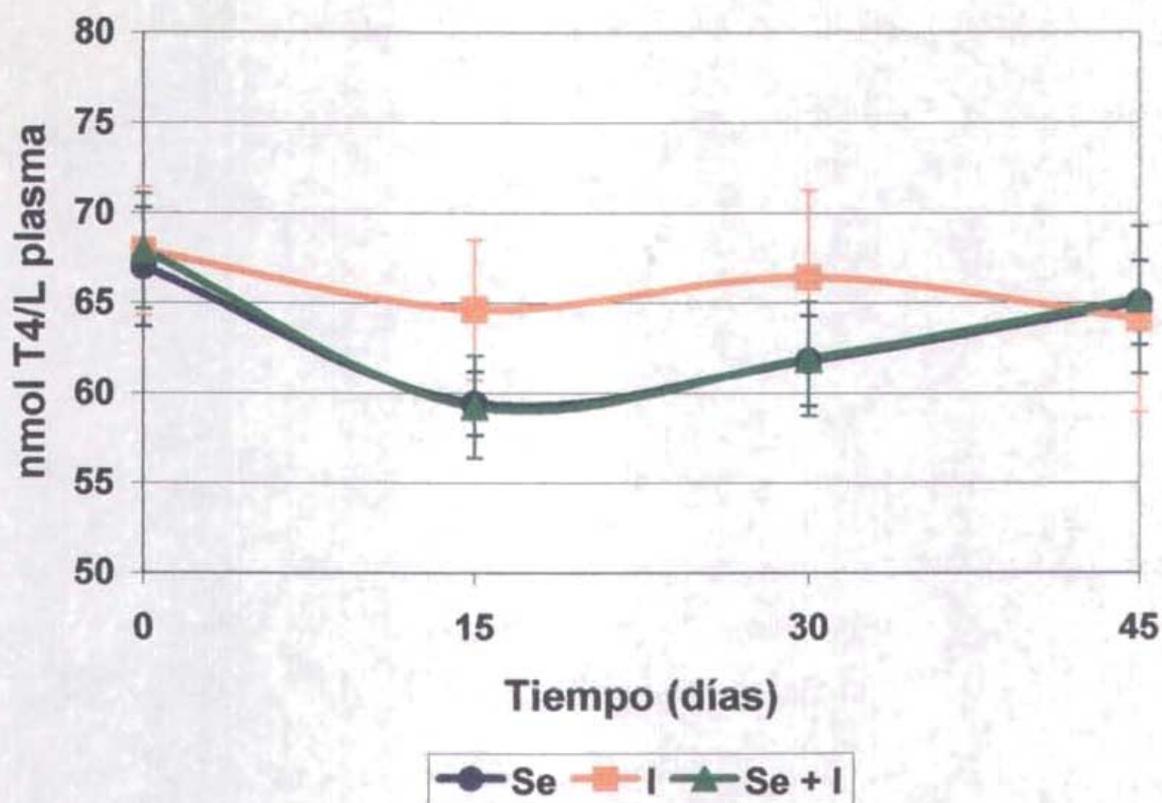


Figura 16. Perfiles plasmáticos de Tiroxina (T4) en función del tiempo

La Interacción Tratamiento-Tiempo[♣]

Dentro del tratamiento 1 (Selenio), se encontró diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas iniciales de T4 y aquellas observadas en los días 15 y 30, pero no con respecto a las del día 45. Hubo una disminución en promedio de 7.3529 nmol T4/L plasma, para el día 15 y una disminución de 5.1017 nmol T4/L plasma, con respecto a la concentración inicial ($P = 0.0004$ y $P = 0.0127$, respectivamente).

Las concentraciones plasmáticas de tiroxina a los 45 días fueron más altas, en promedio por 5.5054 nmol T4/L plasma, y difirieron significativamente de las encontradas en el día 15. Esto indica que después de haber una disminución de los niveles plasmáticos de T4 durante los primeros 15 días, se produjo un aumento hacia los 30 y 45 días.

[♣] Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 4.

Dentro del tratamiento 2 (yodo) la única diferencia significativa se encontró entre las concentraciones iniciales de tiroxina y aquellas observadas a los 45 días. De hecho, las iniciales fueron mayores en promedio por 4.12 nmol T4/L plasma ($P = 0.0170$). Esto quiere decir que los niveles plasmáticos de tiroxina en los animales que recibieron el bolo con yodo son relativamente constantes, aunque hay una disminución progresiva que se hace evidente al comparar las concentraciones iniciales y las de los 45 días.

Al igual que en el caso del grupo 1, los animales que recibieron el tratamiento con la combinación de elementos mostraron una disminución de las concentraciones de tiroxina en plasma a los 15 días y posteriormente un aumento en las mismas en el periodo de los 30 a 45 días. Las concentraciones a los 15 días fueron más bajas en promedio por 8.4417 nmol T4/L plasma, y a los 30 días por 5.4842 nmol T4/L plasma, con respecto a las iniciales ($P < 0.0001$, y $P = 0.0080$, respectivamente). Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de tiroxina a los 45 días fueron mayores y significativamente diferentes de las encontradas a los 15 y 30 días, en promedio por 6.5092 nmol T4/L plasma y 3.5517 nmol T4/L plasma, respectivamente ($P = 0.0004$ y $P = 0.0365$, respectivamente).

Existió por tanto un efecto de reducción en la concentración plasmática de tiroxina debido a la administración del bolo con selenio y del bolo con selenio + yodo durante los primeros 15 días de tratamiento. Aparentemente, no hubo ningún efecto adicional por parte del yodo en el tratamiento 3.

Para el análisis entre tratamientos se consideró un tiempo a la vez, comenzando por el día cero y posteriormente por el día 15, 30 y 45.

En el día cero no se encontró diferencia significativa en las concentraciones plasmáticas de tiroxina entre los diferentes tratamientos.

A los 15 días la diferencia en las concentraciones plasmáticas de tiroxina resultó entre los animales que recibieron el bolo con selenio y selenio con yodo con respecto a los animales que solo recibieron yodo. La administración del bolo con selenio produjo concentraciones más bajas de T4 de en promedio 4.9892 nmol T4/L plasma ($P = 0.0018$). Por su parte, la administración del bolo con selenio + yodo resultó en concentraciones de T4 más bajas en promedio por 5.2921 nmol T4/L plasma ($P = 0.0010$) que las observadas en animales que recibieron el bolo con yodo. No hubo diferencia significativa en la concentración de T4 en plasma de animales que recibieron selenio o selenio + yodo.

A los 30 días, la concentración plasmática de tiroxina en animales que recibieron bolo con selenio permaneció siendo más baja, en promedio por 4.3371 nmol T4/L plasma, y significativamente diferente ($P = 0.0166$), de la concentración encontrada en animales que solamente recibieron yodo. De igual manera, las concentraciones plasmáticas de tiroxina en animales que recibieron la combinación de selenio + yodo fueron mas bajas, en promedio por 3.9338 nmol T4/L plasma, y significativamente diferentes ($P = 0.0282$), de las concentraciones de tiroxina en animales que solo recibieron yodo. No se encontró diferencia significativa entre el tratamiento 1 y el tratamiento 3.

A los 45 días ya no existió diferencia significativa en los niveles de tiroxina entre los animales que recibieron los bolos con selenio, yodo y selenio + yodo.

7.1.6. Análisis de Correlación entre T3 vs Concentración de Selenio en Plasma

Se realizó un análisis de regresión simple usando la concentración de Triyodotironina (T3) como variable dependiente y la concentración plasmática de selenio como variable independiente, para cada uno de los tratamientos. Los modelos resultantes se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Modelos que describen la relación entre T3 y la concentración de selenio en plasma

Tratamiento	Modelo	Valor de P	R-cuadrada
Selenio	$T3 = 0.4881 * SePlasma^{0.1691}$ <p style="text-align: center;">o</p> $\ln(T3) = -0.7171 + 0.1691 * \ln(SePlasma)$	0.0003	29.4782%
Yodo	$T3 = 0.9977 - 2.3027/SePlasma$	0.3120	2.7615%
Selenio + Yodo	$T3 = 0.4024 * SePlasma^{0.2208}$ <p style="text-align: center;">o</p> $\ln(T3) = -0.9102 + 0.2208 * \ln(SePlasma)$	0.0000	43.9454%

Los resultados que se muestran en el Anexo 5, indican que para el tratamiento 1 (Selenio), un modelo multiplicativo es el que mejor ajuste tiene a los datos. Debido a que el valor de P en el ANOVA es menor a 0.01, existe una relación estadísticamente significativa entre la concentración plasmática de Triyodotironina (T3), y la concentración plasmática de selenio (SePlasma) con un nivel de confianza del 99%.

La R-cuadrada indica que el modelo explica el 29.47% de la variabilidad en T3 después de transformarla a una escala logarítmica para linealizar el modelo. El coeficiente de correlación (0.5429), indica una relación moderada entre las variables.

En el caso del tratamiento con Yodo, el modelo recíproco que se muestra en el cuadro 5 tiene un valor de $P = 0.3120$ en el ANOVA (Anexo 6), indicativo de que no hay relación significativa entre las variables con un nivel de confianza del 90% o mayor.

Por su parte, los datos del tratamiento 3 (Selenio + Yodo) son descritos mejor por un modelo multiplicativo, y debido a que el valor de P en el ANOVA (Anexo 7) es menor al 0.01, existe una relación estadísticamente significativa entre T3 y la concentración plasmática de selenio con un nivel de confianza del 99%. La R-cuadrada indica que el modelo explica el 43.94% de la variabilidad en T3 después de su transformación a una escala logarítmica para linealizar el modelo. El coeficiente de correlación (0.6629), indica una relación moderada entre las variables.

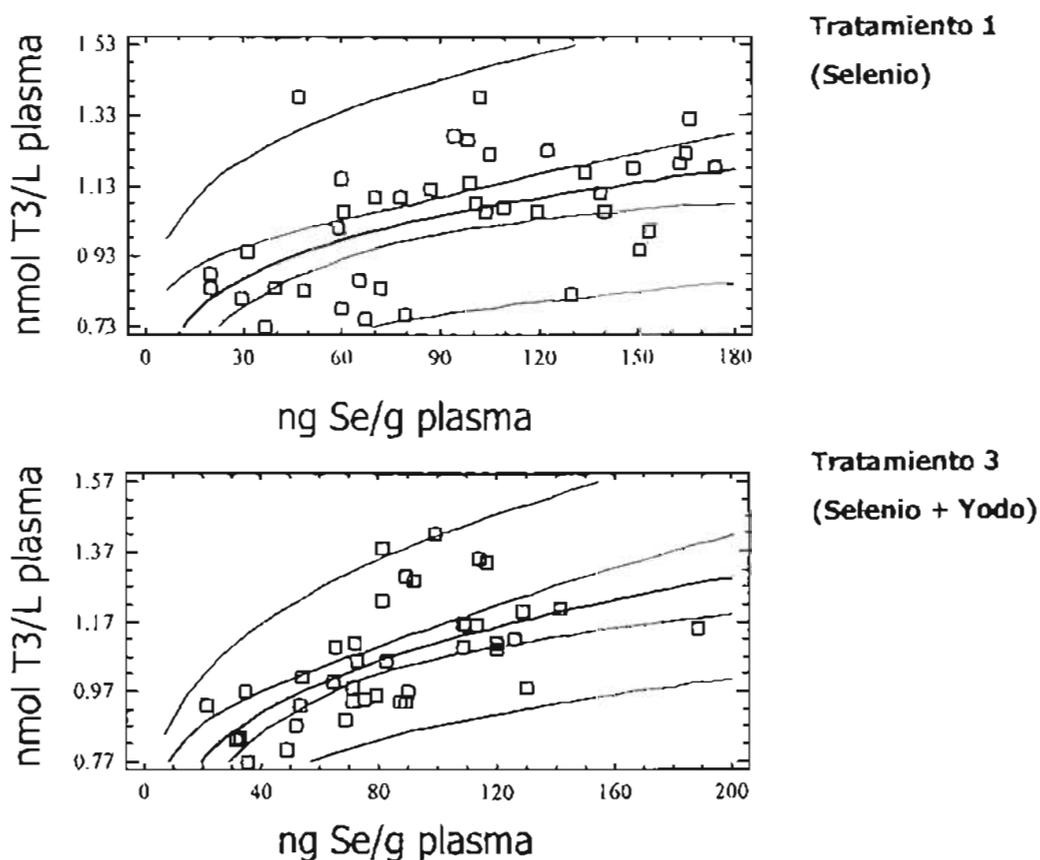


Figura 17. Gráficos de Ajuste del Modelo para T3 en función de la concentración plasmática de selenio. Arriba : tratamiento 1 (Selenio); Abajo: tratamiento 3 (Selenio + Yodo).

7.1.7. Análisis de Correlación entre T4 vs Concentración de Selenio en Plasma

En este caso el análisis de regresión se realizó usando como variable dependiente la concentración plasmática de tiroxina (T4) y como variable independiente a la concentración plasmática de selenio (SePlasma). Los modelos resultantes se muestran en el Cuadro 6.

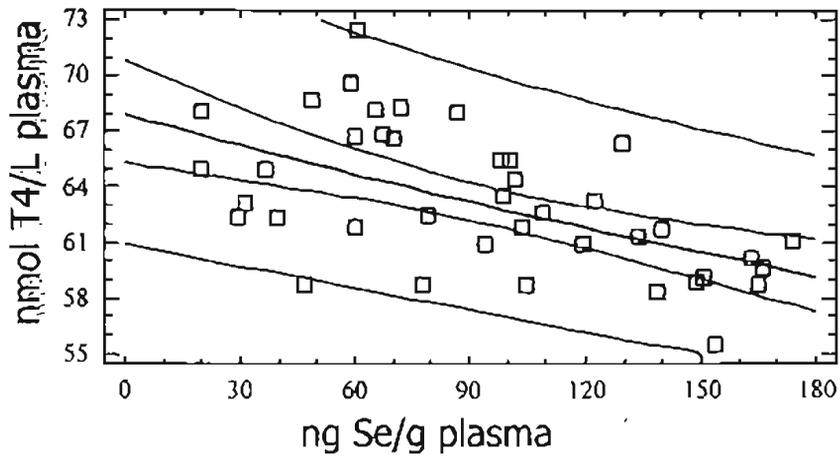
Cuadro 6. Modelos que describen la relación entre T4 y la concentración de selenio en plasma

Tratamiento	Modelo	Valor de P	R-cuadrada
Selenio	$T4 = 1 / (0.014715 + 0.00001212 * \text{SePlasma})$	0.0001	32.5321%
Yodo	$T4 = 52.4917 * \text{SePlasma}^{0.051793}$ o $\ln(T4) = 3.96066 + 0.51793 * \ln(\text{SePlasma})$	0.0714	8.52057%
Selenio + Yodo	$T4 = 76.11 - 1.3896 * \sqrt{\text{SePlasma}}$	0.0001	34.2753%

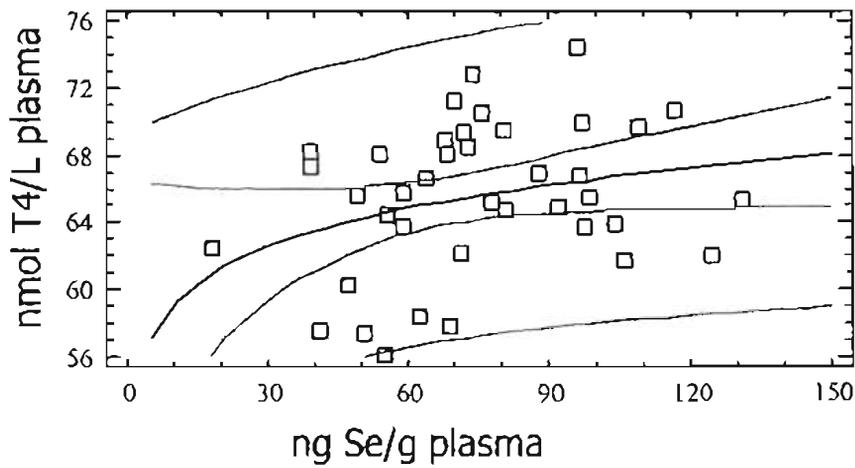
Los resultados para el tratamiento 1 (Selenio), muestran el ajuste con un modelo recíproco-Y para describir la relación entre T4 y la concentración plasmática de selenio. Debido a que el valor de P en el ANOVA (Anexo 8), es menor a 0.01, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 99%. La R-cuadrada indica que el modelo explica el 32.53% de la variabilidad en T4 después de transformarla a una escala recíproca para linealizar el modelo. El coeficiente de correlación (0.570369), indica una relación moderada entre las variables.

Para el tratamiento 2 (Yodo), es un modelo multiplicativo el que tiene mejor ajuste a los datos. El valor de P en el ANOVA (Anexo 9), es menor de 0.10, por lo que existe una relación estadísticamente significativa entre T4 y la concentración plasmática de selenio con un nivel de confianza del 90%. La R-cuadrada indica que el modelo explica solamente el 8.52% de la variabilidad en T4 una vez que ha sido transformada a una escala logarítmica para linealizar el modelo. El coeficiente de correlación (0.2919), indica una relación débil entre las variables.

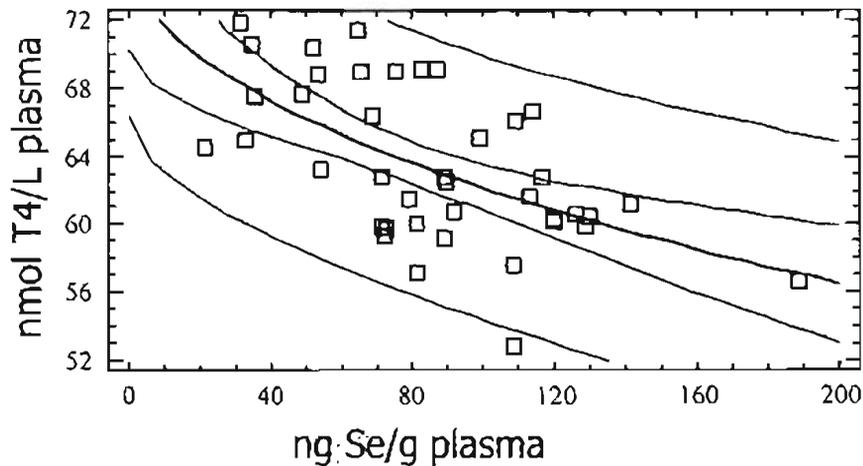
En el caso del tratamiento 3 (Selenio + Yodo), los resultados muestran un modelo de la raíz cuadrada de X para describir la relación entre las variables. El valor de P en el ANOVA (Anexo 10), es menor al 0.01, por lo que la relación es estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 99%. La R-cuadrada indica que el modelo explica el 34.27% de la variabilidad en T4. El coeficiente de correlación (-0.585451), indica una relación moderada entre las variables.



**Tratamiento 1
(Selenio)**



**Tratamiento 2
(Yodo)**



**Tratamiento 3
(Selenio + Yodo)**

Figura 18. Gráficos de ajuste del modelo para T4 en función de la concentración plasmática de selenio. Arriba: Tratamiento 1 (Selenio); Al centro: tratamiento 2 (Yodo); Abajo: tratamiento 3 (Selenio + Yodo).

7.2. Etapa 2.

Con base en los resultados de la primera etapa, en donde se observó que la duración de los bolos conteniendo selenio era relativamente corta 15-30 días, se decidió aumentar la concentración de selenio y mantener la de yodo en el mismo nivel. De esta forma, los bolos F1 y F3 en la segunda etapa tendrían un contenido de 4 gramos de selenito de sodio equivalente a 1.8 gramos (1800mg) de Selenio. El tamaño del bolo aumentó desde una masa de 13 gramos hasta una de 31 gramos.

7.2.1. Dimensiones Físicas y Densidad de los Bolos.

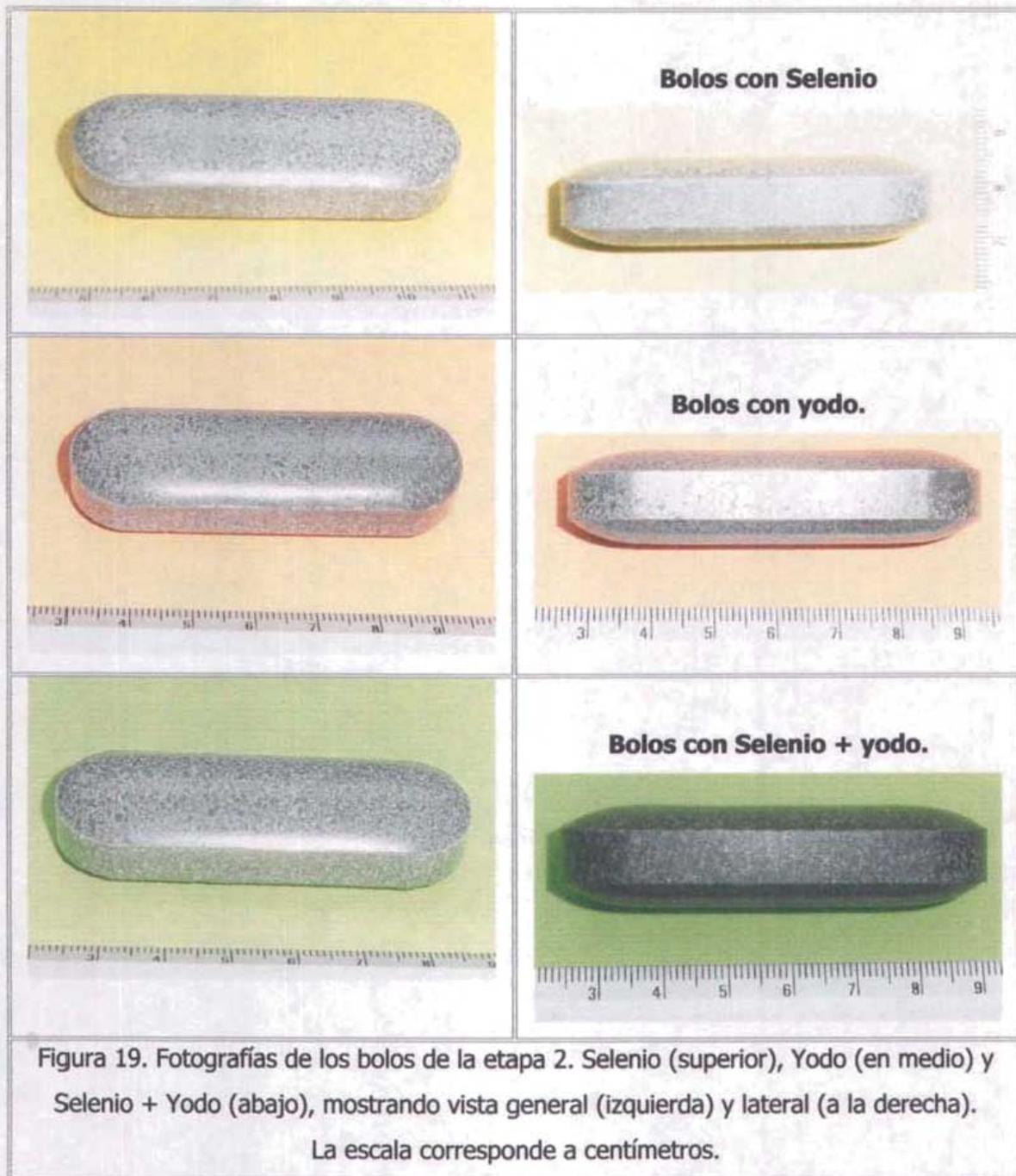
Se determinaron las dimensiones físicas a 12 bolos de cada formulación, la densidad de los bolos se determinó por desplazamiento de agua al interior de una probeta graduada empleando un bolo en cada ocasión y realizando la prueba por triplicado. El Cuadro 7 muestra los resultados de forma resumida.

Cuadro 7. Dimensiones físicas de los Bolos en Etapa 2.

Bolo	Masa (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Espesor (mm)	Densidad (g/cm ³)
F1 (Selenio)	30.9426 (0.1218)	64.4358 (0.0323)	19.6925 (0.0105)	15.495 (0.0362)	2.0683 (0.0101)
F2 (yodo)	30.9747 (0.0431)	64.3933 (0.0257)	19.6775 (0.0105)	14.9033 (0.1192)	2.1856 (0.0429)
F3 (Selenio + yodo)	30.9658 (0.0702)	64.3918 (0.0107)	19.6845 (0.0112)	15.3781 (0.0708)	2.0667 (0.0069)

Los datos entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

Los bolos de las tres formulaciones son prácticamente idénticos en cuanto a su largo y ancho, pues estos parámetros están definidos por las dimensiones de la matriz y punzones usados para su fabricación. Sin embargo, el espesor de los bolos conteniendo yodo es menor debido a que contiene menor cantidad de "activos" y en compensación contiene una mayor cantidad de agente densificador. Esto sin lugar a duda se refleja en una mayor densidad.



La Figura 19 muestra fotografías de bolos correspondientes a cada una de las formulaciones. Es posible apreciar el color gris metálico debido al agente densificador. Una superficie lisa y continua a causa de la deformación plástica del agente formador de la matriz y controlador de la liberación. También se pueden observar las puntas y bordes redondeados para facilitar su dosificación y evitar daño a mucosas. Los bolos cuentan con una densidad por arriba de los 2 g/cm³ que en combinación con la masa total del dispositivo de aproximadamente 31 gramos aseguran la retención en rumen.

7.2.2. Perfiles Plasmáticos de Selenio*

De acuerdo con los resultados del análisis estadístico (Anexo 11), existe efecto significativo del tratamiento ($P < 0.0001$), tiempo ($P < 0.0001$) y de la interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P < 0.0001$).

En cuanto a los contrastes, el grupo que recibió el bolo con selenio + yodo mostró niveles plasmáticos de selenio diferentes de los animales que recibieron selenio o yodo ($P < 0.0001$). Además el tratamiento con yodo produce niveles plasmáticos de selenio diferentes a los de animales que recibieron selenio o selenio + yodo ($P < 0.0001$).

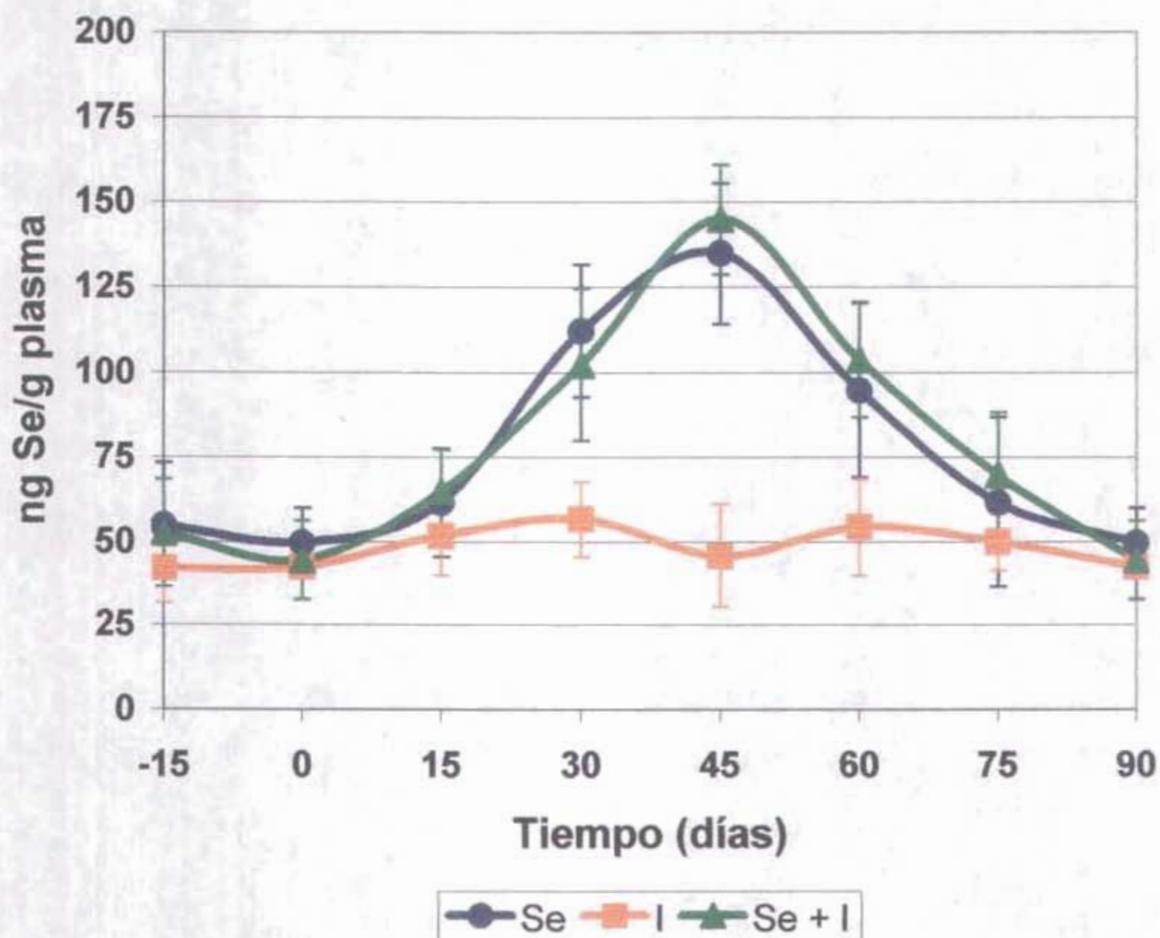


Figura 20. Concentración plasmática de selenio en función del tiempo en etapa 2.

* Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 11.

La Interacción Tratamiento-Tiempo♣

Dentro del tratamiento 1 (Selenio), no existió diferencia significativa en las concentraciones plasmáticas de selenio desde 15 días antes de iniciar el tratamiento y hasta el día 15 posterior a la administración del bolo con selenio. Se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones iniciales de selenio en plasma y aquellas observadas a los 30, 45 y 60 días. En el día 30, las concentraciones son mayores en promedio por 62.6667 ng Se/g plasma, en el día 45 por 85.3333 ng Se/g plasma, y en el día 60 por 45 ng Se/g plasma con respecto a las iniciales (día cero) y con valores de $P < 0.0001$ en los tres casos. El punto máximo se presentó en el día 45 y las concentraciones plasmáticas son mayores a las del día 30 por 22.6667 ng Se/g plasma, y a las del día 60 por 40.3333 ng Se/g plasma, con valores de $P = 0.0004$ y $P < 0.0001$, respectivamente.

Las concentraciones de selenio en plasma a los 75 y 90 días ya no difirieron significativamente de las encontradas inicialmente. Por tanto, el efecto positivo del bolo con selenio se observó en 15 días < tiempo < 75 días.

Dentro del tratamiento 2 (yodo) y a pesar de que el bolo administrado no contenía selenio, se observaron algunas diferencias en el transcurso del tiempo que duró el estudio. Por ejemplo, las concentraciones plasmáticas de selenio en el día 30 resultaron mayores en promedio por 14.4143 ng Se/g plasma, a las iniciales (día cero) y significativamente diferentes ($P = 0.0238$). Esto indica que en el transcurso de los primeros 30 días existió un aumento en los niveles de selenio plasmático y por lo tanto alguna fuente externa de selenio o movilización tisular. La concentración en el día 30 también resultó mayor que la observada en el día 90 por 10.714 ng Se/g plasma, así que también se da una disminución en las concentraciones de selenio en los dos meses siguientes.

Dentro del tratamiento 3 (selenio + yodo) no se observó diferencia significativa en las concentraciones plasmáticas 15 días antes y el día de la administración del bolo (día cero). Durante los primeros 45 días la concentración de selenio en plasma aumentó de manera significativa siendo en el día 15 mayor en promedio por 15.8889 ng Se/g plasma, en el día 30 por 50.3333 ng Se/g plasma, y en el día 45 por 98.1111 ng Se/g plasma, con respecto a la concentración inicial, con un valor de $P = 0.0285$ para la diferencia entre el día cero y el 15, y con valores de $P < 0.0001$ para las diferencias entre el día cero y los días 30 y 45.

♣ Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 11.

Un efecto positivo de la administración del bolo con selenio + yodo es notorio un mes después del máximo, es decir, hasta el día 75 en donde todavía hay una diferencia de 23.11 ng Se/g plasma, sobre la concentración plasmática inicial.

El punto máximo en el perfil se ubicó, al igual que en el caso del tratamiento 1, en el día 45 posterior a la administración del bolo. En este punto la concentración de selenio en el plasma de los animales fue mayor por más de 40 ng Se/g plasma, a las observadas los días 30 y 60, con valores de $P < 0.0001$ en ambos casos. Para el día 90 ya no existió diferencia significativa con respecto a la concentración inicial de selenio en plasma.

Para el análisis entre tratamientos se consideró un tiempo a la vez, comenzando por el día cero y posteriormente por el día 15, 30, 45, 60, 75 y 90.

En el día cero no existe diferencia significativa en las concentraciones plasmáticas de los animales asignados a los diferentes tratamientos. 15 días después de la administración de los bolos (tratamientos), aún no existía diferencia en los niveles plasmáticos de selenio entre animales de diferentes grupos.

En el día 30, los niveles plasmáticos de selenio en animales que recibieron el bolo con selenio fueron mayores y significativamente diferentes de los niveles de selenio en animales que recibieron el bolo con yodo y en aquellos que recibieron el bolo con la combinación de selenio + yodo. En promedio, resultaron mayores por 55.7238 ng Se/g plasma con respecto a F2 ($P < 0.0001$), y por 14.7778 ng Se/g plasma, con respecto a F3 ($P = 0.0391$). En esta misma fecha, los animales que recibieron el bolo con selenio + yodo alcanzaron niveles plasmáticos de selenio mayores en promedio por 40.9460 ng Se/g plasma a los encontrados en animales del grupo tratado con yodo ($P < 0.0001$).

En el día 45, los animales que recibieron los bolos con selenio y selenio + yodo (F1 y F3), no mostraron diferencia significativa en los niveles plasmáticos de selenio. Sin embargo, ambos muestran concentraciones plasmáticas del elemento mayores a los animales que recibieron solamente yodo (F2). La diferencia con respecto a F1 fue de 88.4619 ng Se/g plasma, y la diferencia con respecto a F3 fue de 98.7952 ng Se/g plasma, ambas con valor de $P < 0.0001$.

El mismo tipo de diferencia ocurrió entre los animales tratados con selenio y selenio + yodo con respecto a los que recibieron yodo en el día 60. En promedio 40.7571 ng Se/g plasma, y 48.4794 ng Se/g plasma, más de selenio en el plasma de los animales que recibieron bolo con selenio y selenio + yodo respectivamente, en comparación con los animales que solo recibieron yodo ($P < 0.0001$ en ambos casos). No hubo diferencia entre F1 y F3.

En el día 75 posterior a la administración del bolo correspondiente, ya no hubo diferencia en la concentración plasmática de selenio entre animales que recibieron el bolo con selenio y aquellos que recibieron el bolo con yodo. Tampoco se encontró diferencia entre los que recibieron bolo con selenio y bolo con selenio + yodo. Sin embargo, si existe diferencia significativa en la concentración plasmática de selenio entre animales que recibieron la combinación selenio + yodo en relación a aquellos que solamente recibieron yodo. Esta diferencia fue por 19.8095 ng Se/g plasma, de F3 en comparación con F2 ($P = 0.0062$).

Para el día 90 ya no existió diferencia en las concentraciones plasmáticas de selenio entre animales dosificados con Selenio, Yodo, y Selenio + Yodo.

Concentración de Selenio en Leche ♦

De acuerdo con los resultados del análisis estadístico (Anexo 12), existió efecto significativo del tratamiento ($P < 0.0001$), del tiempo ($P < 0.0001$), y de la interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P < 0.0001$), sobre la concentración de selenio en leche.

Los contrastes indican que hubo diferencia significativa en la concentración de selenio en leche entre animales que recibieron el bolo con la combinación de elementos (F3), en comparación a aquellos que recibieron el bolo con yodo (F2) y con los que recibieron el bolo con selenio (F1), con un valor de $P < 0.0001$. Además, que los niveles de selenio en leche de los animales que solo recibieron yodo, fueron diferentes a los encontrados en animales que recibieron bolos que contenían selenio (F1 y F3), con un valor de $P < 0.0001$.

♦ Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 12.

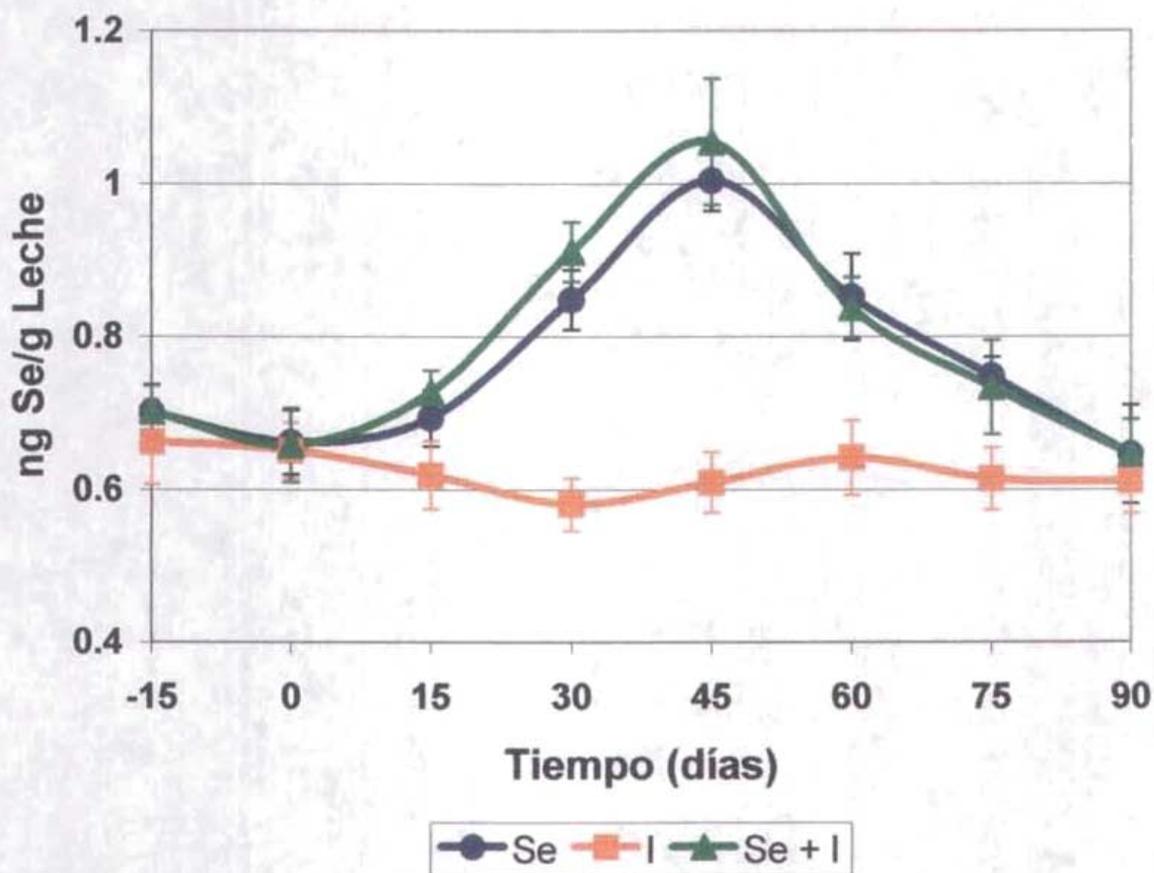


Figura 21. Concentración de selenio en leche en función del tiempo en etapa 2.

La Interacción Tratamiento-Tiempo ♦

Dentro del tratamiento 1 (Selenio), no hubo diferencia significativa entre las concentraciones iniciales (día cero) de selenio en leche y las observadas 15 días después de la administración del bolo. Posteriormente, y hasta el día 45 en donde se presentó la máxima concentración de selenio en leche, existió un aumento significativo en las concentraciones del elemento. Al día 30 las concentraciones de selenio en leche se encontraban en promedio 1.7870 ng Se/g leche, por arriba de las iniciales ($P < 0.0001$), y al día 45 la diferencia llegó a ser de 3.4267 ng Se/g leche ($P < 0.0001$). Entre el día 45 y el 75 de tratamiento se observó una disminución en los niveles de selenio en leche. Sin embargo, la diferencia es significativa y positiva con respecto a las iniciales.

♦ Los resultados numéricos del análisis estadístico correspondiente se encuentran en el Anexo 12.

En el día 60 se encontraba en promedio 1.8117 ng Se/g leche, por arriba de la inicial ($P < 0.0001$), y el día 75 aún estaba por arriba de la inicial por 0.8297 ng Se/g leche ($P = 0.0012$). Ya para el día 90 no hubo diferencia en concentración de selenio en leche con respecto a las observadas inicialmente.

Como se puede observar, inicialmente hubo una tendencia a la disminución en la concentración de selenio en leche, la cual fue revertida por la administración del bolo con selenio. Sin embargo, el efecto del bolo se comenzó a notar hasta el día 30 posterior a la administración, alcanzando su máximo en el día 45 y manteniendo un efecto positivo hasta el día 75.

Dentro del tratamiento 2 (yodo), se observó la tendencia a la disminución en la concentración de selenio en leche durante los primeros 30 días. En el día 30, de hecho existió diferencia significativa con respecto a la inicial. En este punto la concentración de selenio en leche fue menor en promedio por 0.6972 ng Se/g leche, con respecto a la observada en el día cero. Después se observó un periodo de recuperación y ya para el día 60 las concentraciones en leche eran equiparables a las iniciales y se mantuvieron sin diferencia significativa hasta el día 90.

Dentro del tratamiento 3 (selenio + yodo), ya para el día 15 existió una pequeña diferencia, pero significativa, con respecto a la concentración inicial de selenio en leche. La diferencia fue por 0.6988 ng Se/g leche ($P = 0.0030$). Esto marca una diferencia con respecto al tratamiento 1 en donde solo se administró selenio. Lo cual quiere decir que el selenio está llegando de manera relativamente más rápida y en cantidad relativamente mayor cuando se encuentra presente la combinación de selenio + yodo. El aumento más significativo ocurrió entre el día 30 y 45 del tratamiento. Las diferencias alcanzaron en promedio 2.5496 ng Se/g leche en el día 30, y 3.99 ng Se/g plasma, en el día 45 ($P < 0.0001$ en ambos casos).

Posteriormente se observó la fase de disminución en la concentración de selenio en leche. No obstante, la diferencia siguió siendo positiva hasta el día 75. Ya en el día 90 no se encontró diferencia con respecto a las concentraciones iniciales de selenio en leche.

Para el análisis entre tratamientos se consideró un tiempo a la vez, comenzando por el día cero y posteriormente por el día 15, 30, 45, 60, 75 y 90.

En el día cero no existió diferencia significativa en los niveles de selenio en leche entre los animales asignados a los diferentes tratamientos.

En el día 15, la concentración de selenio en la leche de los animales que recibieron el bolo con selenio o selenio + yodo fue mayor y significativamente diferente a la encontrada en la leche de los animales que solo recibieron yodo. Los animales que recibieron el bolo con selenio mostraron 0.7638 ng Se/g leche más de selenio que los que solo recibieron yodo ($P = 0.0009$). En el caso de los animales que recibieron la combinación de selenio + yodo la diferencia alcanzó 1.0486 ng Se/g leche, en relación con los animales tratados con yodo ($P < 0.0001$). No se encontró diferencia entre el tratamiento 1 y 3.

En el día 30, las mayores concentraciones de selenio se encontraron en la leche de los animales tratados con la combinación de selenio + yodo y estas difieren significativamente de aquellas encontradas en los animales tratados con yodo y con selenio de forma individual. La concentración en leche de los animales del grupo 3 fue mayor en promedio por 0.6523 ng Se/g leche, con respecto al grupo 1 ($P = 0.0044$), y de 3.2849 ng Se/g leche, con respecto al grupo que sólo recibió yodo ($P < 0.0001$). Los animales que recibieron el bolo con selenio (F1) mostraron mayor concentración de selenio en leche, 2.6327 ng Se/g leche en promedio, que aquellos que recibieron el bolo con yodo (F2), con un valor de $P < 0.0001$.

En el día 45, la diferencia se presentó entre las concentraciones de selenio en la leche de los animales que recibieron los bolos con selenio o selenio + yodo y aquellas encontradas en la leche de animales que solamente recibieron yodo. El selenio en la leche de animales que recibieron el bolo con selenio fue mayor en promedio por 3.9898 ng Se/g leche, con respecto a la concentración del elemento encontrada en los animales que recibieron el bolo con yodo ($P < 0.0001$).

De igual manera, la concentración de selenio en leche de animales que recibieron la combinación selenio + yodo fue en promedio 4.4428 ng Se/g leche mayor a la observada en la leche de los animales que recibieron solamente yodo ($P < 0.0001$). No hubo diferencia entre el tratamiento 1 (selenio) y el 3 (selenio + yodo).

En el día 60, y una vez que pasó el máximo en las curvas, las diferencias entre los tratamientos con selenio y selenio + yodo con respecto al tratamiento con yodo persistieron, y aunque fueron menores resultaron significativas. La concentración de selenio en leche de animales que recibieron el bolo con selenio fue mayor en promedio por 2.0388 ng Se/g leche a la encontrada en animales que recibieron el bolo con yodo ($P < 0.0001$). Por su parte, los animales que recibieron la combinación de selenio + yodo mostraron mayor concentración de selenio en leche, 1.9764 ng Se/g leche más que los animales que solo recibieron yodo ($P < 0.0001$). No hubo diferencia entre los niveles de selenio en leche de animales que recibieron bolo con selenio o el bolo con la combinación de selenio + yodo.

En el día 75, las diferencias fueron pequeñas pero significativas. El grupo que recibió el bolo con selenio alcanzó concentraciones de selenio en leche que fueron mayores en promedio por 1.3588 ng Se/g leche, que las encontradas en la leche de los animales que recibieron bolo con yodo ($P < 0.0001$). El grupo que recibió el bolo con selenio + yodo alcanzó concentraciones de selenio en leche mayores en promedio por 1.2443 ng Se/g leche a aquellas observadas en los animales que solamente recibieron yodo ($P < 0.0001$). No existió diferencia significativa en los niveles de selenio en la leche de animales tratados con selenio o con la combinación de selenio + yodo.

En el día 90, ya no hubo diferencia significativa en las concentraciones de selenio en leche de animales que recibieron bolos con selenio, selenio + yodo o solamente yodo.

En esta segunda etapa, la duración del efecto positivo de los tratamientos con selenio (F1) y selenio + yodo (F3) fue de aproximadamente 75 días. Existe un efecto sutil del yodo en los primeros 15 días del estudio, sin llegar a marcar diferencias significativa entre los tratamientos 3 y 1.

7.2.4. Análisis de Correlación entre la Concentración de Selenio en leche vs la concentración de selenio en Plasma

La comparación de las líneas de regresión se llevo a cabo empleando a la concentración de selenio en leche (SeLeche) como variable dependiente y a la concentración de selenio en plasma (SePlasma) como la variable independiente, evaluando cada tratamiento. El Cuadro 8 muestran los modelos de regresión lineal que describen la relación entre las variables para cada tratamiento.

Cuadro 8. Modelos que describen la relación entre la concentración de selenio en leche y la concentración de selenio en plasma

Tratamiento	Modelo	Valor de P	R-cuadrada
Selenio	$SeLeche = 5.27555 + 0.28823 * SePlasma$	0.0000	47.4624%
Yodo	$SeLeche = 6.72774 - 46.1568 / SePlasma$	0.1429	3.12905%
Selenio + Yodo	$SeLeche = \exp(1.70931 + 0.00408575 * SePlasma)$	0.0000	74.0875%

En el caso del tratamiento con selenio el modelo con el mejor ajuste para describir la relación entre la concentración de selenio en leche y la concentración de selenio en plasma es el modelo lineal. Debido a que el valor de P en el ANOVA (Anexo 13) es menor a 0.01, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 99%. La R-cuadrada indica que el modelo explica el 47.46% de la variabilidad en la concentración de selenio en leche. El coeficiente de correlación (0.688929), indica una relación moderada entre las variables.

Para el tratamiento con Yodo, se muestra un modelo recíproco para describir la relación entre las variables. Sin embargo, el valor de P en el ANOVA (Anexo 14) es mayor a 0.10, por lo que se considera que no hay una relación significativa entre la concentración de selenio en leche y la concentración de selenio en el plasma con un nivel de confianza del 90% o mayor. La R-cuadrada indica que el modelo solo explica el 3.12% de la variabilidad en la concentración de selenio en leche. El coeficiente de correlación (-0.176891), indica una relación débil entre las variables.

Un modelo exponencial es el que mejor se ajusta a los datos del tratamiento 3 para explicar la relación entre la concentración de selenio en leche y la concentración de selenio en plasma. Ya que el valor de P en el ANOVA (Anexo 15) es menor al 0.01, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 99%. La R-cuadrada indica que el modelo explica el 74.0875% de la variabilidad en la concentración de selenio en leche después de transformarla a una escala logarítmica para linealizar el modelo. El coeficiente de correlación (0.860741), indica una relación moderadamente fuerte entre las variables.

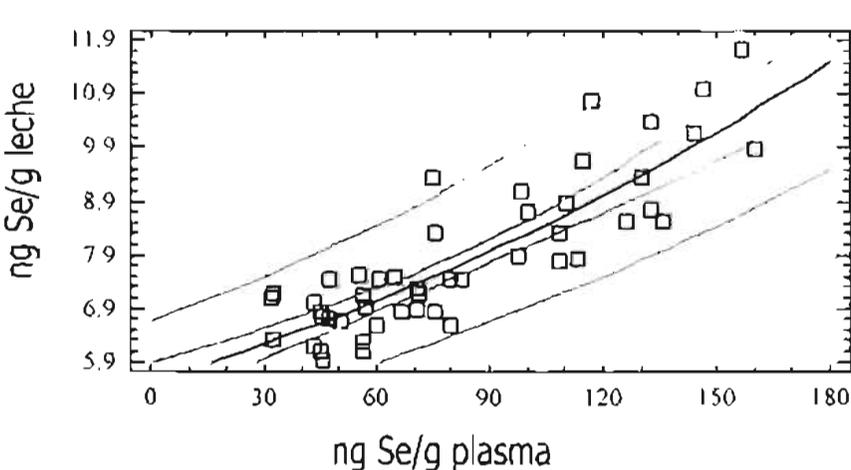
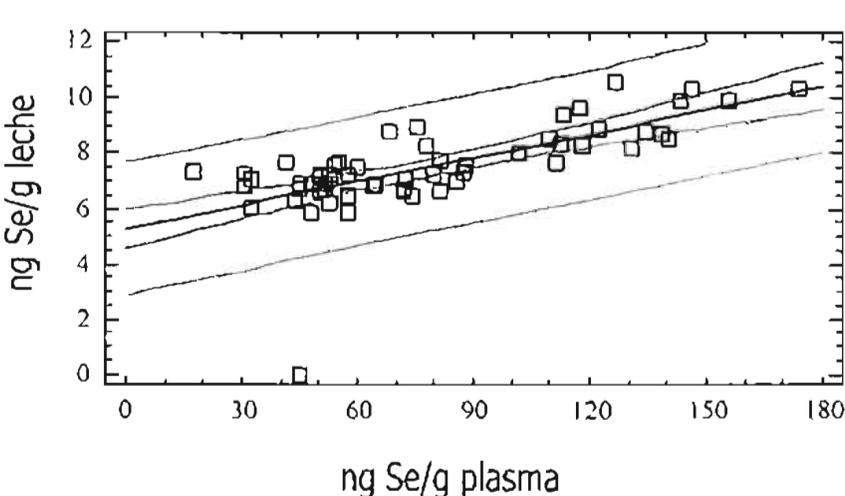


Figura 22. Gráficos de ajuste del modelo para la concentración de selenio en leche en función de la concentración plasmática de selenio.

8. DISCUSIÓN

Hacer una análisis comparativo de valores absolutos de concentración de selenio en plasma es difícil, debido a que datos reportados en literatura provienen de estudios realizados bajo muy diversas condiciones (localización geográfica, tipo de animales, dietas, suplementación), el tipo de muestra (sangre total, suero, plasma), y también a la forma en que son reportados los datos (masa/masa, masa/volumen, nmol/masa, nmoles/volumen). No obstante, en el Anexo 16 se presenta una recapitulación de algunos de estos datos.

Al inicio del experimento en la etapa 1 en el mes de julio, la concentración de Se en el plasma de los animales se encontraba alrededor de los 70 ng/g, comparable a los datos en sangre total reportados por Pavlata et al., para la República Checa en el 2001, o para los valores plasmáticos de Ohio en los estados Unidos de América también en el 2001 (Ivancic y Weiss). El valor más bajo se encontraba cercano a los 40 ng/g, comparable a los datos de Ohio de 1990 (Weiss et al.) y a los de Washington de 1995 (Abdelrahman y Kincaid). También en etapa 1, los valores más altos alcanzados el día 15 posterior a la administración de los bolos con selenio y selenio + yodo lograron 122-150 ng/g en promedio, mayores a los considerados por Awadeh et al., 1996, como adecuados (115.3 ng/ml) en su estudio en Washington. El valor más alto encontrado en el estudio fue de aproximadamente 188 ng/g en la primera etapa.

En etapa 2 los animales comenzaron con niveles plasmáticos de selenio cercanos a 50 ng/g en promedio. Nuevamente comparables a los datos de Ohio (1990) o Washington (1995). El valor más bajo fue de aproximadamente 20 ng/g. Los valores más altos se lograron en el día 45 posterior a la administración de los bolos con selenio y selenio + yodo y fueron de 134-140 ng/g, también mayores a los considerados adecuados por Awadeh et al., 1996, como adecuados y lejos de los considerados excesivos por los mismos autores (287 ng/g). El valor más alto observado en esta etapa fue de aproximadamente 174 ng/g.

Utilizando el esquema de Puls (1988), para la clasificación del estado de los animales en función de la concentración plasmática de selenio (ver Cuadro 9), los animales en el estudio comenzaron con niveles marginales de 20-60 ng/g y con la administración de los bolos con selenio y selenio + yodo alcanzaron niveles adecuados de hasta 150 ng/g, e incluso en algunos casos más allá de este valor llegando hasta 170 ng/g. No obstante, la duración del efecto positivo en la etapa 1 es de poco más de 30 días, tiempo después del cual hay una marcada tendencia a la disminución de selenio en plasma y un regreso a los niveles marginales.

Cuadro 9. Condición del animal en función de la concentración de selenio en plasma y sangre total de acuerdo con Puls (1988).

Condición	Suero o Plasma		Sangre Total	
	(Natural)	(Selenito)	(Natural)	(Selenito)
Deficiente	0.002-0.025		0.004-0.080	
Marginal	0.030-0.060	0.020-0.060	0.060-0.160	0.040-0.150
Adecuado	0.080-0.300	0.025-0.150	0.200-1.200	0.160-1.200
Alto (Elevado)	2.500-3.500	0.800-3.500	10.00-14.00	0.800-2.290
Toxico	3.500-4.100		14.00-16.40	1.900-3.400
	ppm en base húmeda.			

El inicio de la etapa 2 en el mes de octubre, las concentraciones iniciales son relativamente más bajas que las del mes de julio, la concentración plasmática de selenio siguió disminuyendo con el tiempo. Los resultados indican niveles marginales y en algunos casos de deficiencia del mineral pues se observan concentraciones plasmáticas menores a 20 ng/g.

Con la administración de los bolos con selenio y selenio + yodo comienza una recuperación de las concentraciones del mineral en plasma, sin embargo, a los 15 días todavía no es significativa. A partir de los 15 y hasta los 75 días los tratamientos 1 y 3 generan un estado adecuado de selenio en los animales. En el día 45, hay animales suplementados con selenio o selenio + yodo que alcanzan concentraciones plasmáticas que rondan los 170 ng/g.

Respecto del grado o proporción de aumento en la concentración plasmática de selenio por efecto de la suplementación con los bolos de selenio o selenio + yodo, en la etapa 1 los animales suplementados con selenio pasaron de 72 ng/g al inicio a 152 ng/g en el día 15 esto significa un incremento de 2.1 veces la concentración, lo cual en términos prácticos significa que la concentración se duplicó en solo 15 días. Los animales suplementados con la combinación de selenio + yodo pasaron de 68 ng/g en un inicio a 122 ng/g en el día 15, lo que representa un incremento de 1.79 veces la concentración inicial o en otros términos un aumento del 79.41% en 15 días.

En etapa 2, los animales suplementados con selenio pasaron de una concentración plasmática de selenio de 49.58 ng/g en el inicio (día cero) a 134.83 ng/g en el día 45, lo cual representa un incremento de 2.7194 veces la concentración inicial, o visto de otra manera un aumento del 171.94% en la concentración. Por su parte, los animales tratados con selenio + yodo en el día cero mostraron una concentración plasmática de selenio de 44.419 ng/g y alcanzaron 144.85 ng/g en el día 45, lo que representa un incremento de 3.2609 veces la concentración inicial, o en otras palabras un aumento del 226.09% en 45 días.

Aparentemente, los animales en este estudio con una condición marginal respondieron positivamente a la suplementación con selenio o selenio + yodo, observándose un aumento en los niveles plasmáticos de selenio hasta niveles considerados adecuados y un poco más allá.

El contenido mineral de la leche varía ampliamente debido a numerosos factores, como el periodo de lactación, la raza, el clima, la estación o temporada, la composición de la dieta y contaminantes en el suelo. Por lo tanto, una comparación en números absolutos es complicada. El Anexo 17 muestra las concentraciones de selenio en leche de vaca en diversos países, e indican que las concentraciones de selenio encontradas en la leche de los animales son relativamente bajas. Al inicio de la etapa 1, la concentración de selenio en leche se encontraba alrededor de los 7.5 ng Se/g leche, más baja que la reportada en la mayoría de los países que aparecen en el Anexo 17, excepto España y Nueva Zelanda (6.1 y 7.2 $\mu\text{g/L}$ respectivamente).

Con la administración de los bolos conteniendo selenio o selenio + yodo, la concentración alcanzó los 8.6 ng Se/g leche, un aumento modesto en la concentración. Los animales tratados con selenio pasaron de una concentración inicial de 7.6 ng Se/g leche a 8.5 ng Se/g leche en el día 30 posterior a la administración del bolo, lo que representa un incremento de 1.1184 veces la concentración inicial, es decir, un aumento de solamente el 11.84%.

En etapa 2, las concentraciones de selenio en leche en el día cero se encontraban alrededor de 6.5 ng Se/g leche, con la administración del bolo con selenio o selenio + yodo se alcanzó en promedio 10 ng Se/g leche. Este aumento representó un incremento de 1.53 veces la concentración inicial, es decir, un aumento del 53.84% en la concentración de selenio en leche para el día 45 posterior a la administración de los tratamientos. El valor más alto fue observado en el grupo tratado con la combinación de elementos, en el día 45 fue de 11.76 ng Se/g leche. Valores comparables a los reportados para Bélgica 10 $\mu\text{g/L}$, y mayores a los reportados por Debski para Estados Unidos 9.6 $\mu\text{g/L}$.

Aspila (1991) ha propuesto que una concentración deseable estaría alrededor de los 20 $\mu\text{g/L}$. Este mismo autor concluyó que, usando selenito de sodio como fuente de selenio, las vacas necesitarían ser alimentadas con dietas conteniendo al menos 0.7 mg/kg DM.

En cuanto a la concentración de hormonas tiroideas en el plasma de los animales hay varios factores a considerar. Primeramente no se encontró información del valor de la vida media de estas hormonas en ganado bovino, la información de Fischer y colaboradores data de 1972 y fue obtenida en ovinos (1-1.7 días para T4 y 5-6 horas para T3). Por lo que los principales cambios se pudieron dar en las primeras horas o días posteriores a la administración de los bolos. En este estudio se realizaron muestreos cada 15 días.

En cuanto a los valores, las concentraciones sanguíneas de T3 y T4 en bovinos se encuentran en el rango de 0.8-1.9 nmol/L y de 57-119 nmol/L, respectivamente (Burton, 1992), los resultados en este trabajo demostraron concentraciones de T3 en el rango de 0.8-1.4 nmol/L, y de T4 en el rango de 55-75 nmol/L, concordante con lo reportado y sugerentes de que los bajos niveles de selenio no estaban afectando la actividad tiroidea.

Se observó en los primeros 15-30 días de tratamiento con los bolos de selenio o selenio + yodo un aumento en la concentración de T3. Este efecto puede ser explicado por la acción de la deiodinasa tipo 1 (ID I), la principal enzima que interviene en la conversión de T4 a T3, la cual es una selenoproteína con un residuo de selenocisteína en su sitio activo, el aporte de selenio pudo mejorar la actividad enzimática y determinar variación en la concentración de las hormonas tiroideas, con aumento de T3. La disminución de T4 es notoria solamente en los primeros 15 días de tratamiento y después se observa una recuperación de su concentración.

Las hormonas tiroideas tienen un ritmo circadiano en el plasma de las vacas lecheras (Bitman et al., 1994), y la concentración de T4 y T3 en el ganado está influida por una variedad de factores ambientales, como la temperatura ambiente (Pratt y Wettemann, 1986) y los componentes de la ingesta (Awadeh et al., 1998; Richards et al., 1995; Tiirats, 1997). La correlación positiva entre las concentraciones circulantes de hormonas tiroideas y el balance de energía es bien conocido en varias especies incluido el ganado (Janan et al., 1995; Leyva-Ocariz et al., 1997; Nikolic et al., 1997; Capuco et al., 2001; Cassar-Malek et al., 2001). Las vacas con balance de energía negativo (NEB) posparto responden con una disminución en la concentración de T3 y T4 y un incremento de rT3 (Petches et al., 1985; McGuire et al., 1991; Yambayamba et al., 1996). En vacas lecheras se ha observado baja de T3 y T4 en el primer trimestre de lactación (Petches et al., 1985). En vacas lecheras lactantes las concentraciones plasmáticas de T3 y T4 están correlacionadas negativamente con la producción de leche (Tiirats, 1997).

Alteraciones en los niveles plasmáticos de T4 asociados con el balance de energía y el metabolismo reflejan los cambios en la tasa de secreción de TSH (regulación central; Riis y Madsen, 1985) y el balance de la activación e inactivación extratiroideo de T4 (autorregulación periférica; Petches et al., 1985; Capuco et al., 2001; Cassar-Malek et al., 2001)

9. CONCLUSIONES

- Los bolos fabricados mostraron características geométricas y físicas (masa de 13 gramos y densidad de 2.3 g/cm³), que los hacen adecuados para su manejo, administración y retención ruminal.
- Las concentraciones plasmáticas de selenio en los animales que recibieron el bolo con selenio o selenio + yodo resultaron mayores y significativamente diferentes de las encontradas en los animales que recibieron el bolo con yodo.
- No existió interacción entre selenio y yodo en términos de la concentración plasmática de selenio, pues no existió diferencia entre las concentraciones plasmáticas de animales tratados con selenio y aquellos tratados con selenio + yodo.
- La concentración máxima de selenio en plasma se observó en el día 15 y la duración del efecto positivo tuvo una duración mayor a 30 días y menor a los 45.
- Los animales inicialmente con concentraciones marginales de selenio, alcanzaron niveles plasmáticos de selenio considerados como adecuados con la administración de los bolos con selenio o selenio + yodo.
- Los incrementos en la concentración plasmática de selenio fueron del 111% y del 79.41% para el tratamiento 1 (selenio) y el tratamiento 3 (selenio + yodo), respectivamente.
- La administración de bolos con selenio o bolos con selenio + yodo produjo mayores concentraciones de selenio en leche a los 30 días de la administración.
- El incremento en la concentración de selenio en leche representó un aumento del 11.84%.
- La administración de bolos con selenio o selenio + yodo produjo un incremento de las concentraciones plasmáticas de Triyodotironina durante 30 días, y una disminución en la de T4 por 15 días.

- En el día 45 las concentraciones plasmáticas de T3 fueron mayores en animales que recibieron el bolo con selenio + yodo. Este es un efecto positivo de la combinación de los elementos.
- En segunda etapa se fabricaron bolos con masa de 31 gramos y densidad de 2 g/cm³,
- Las concentraciones plasmáticas de selenio en los animales que recibieron el bolo con selenio o selenio + yodo resultaron mayores y significativamente diferentes de las encontradas en los animales que recibieron el bolo con yodo.
- Las concentraciones plasmáticas de selenio máximas se observaron a los 45 días de la administración y el efecto positivo de la administración de selenio duró hasta el día 75.
- Al inicio de la etapa 2 los animales mostraban niveles plasmáticos de selenio considerados como marginales y en algunos casos como deficientes, la administración de los bolos con selenio o selenio + yodo produjo un estado adecuado de selenio en los animales.
- Los incrementos en la concentración plasmática de selenio correspondieron a un aumento del 171% y del 226% para los tratamientos 1 (selenio) y 3(selenio + yodo), respectivamente.
- Los animales suplementados con el bolo con selenio o selenio + yodo mostraron mayores concentraciones de selenio en leche durante 75 días que aquellos que solamente recibieron yodo.
- El aumento en la concentración de selenio en leche representó un incremento del 53.84%.

Propuestas:

- Realizar estudios de biodisponibilidad de selenio a partir de los bolos desarrollados en etapa 1 y 2 de este trabajo, poniendo especial atención a la frecuencia en el muestreo; este deberá ser de al menos 3 veces por semana al menos durante las tres primeras semanas.

- En caso de realizar el análisis de los perfiles de hormonas tiroideas, sería apropiado realizar un seguimiento que incluyera las primeras 4, 8, 12, 24, 48 y 72 horas posteriores a la administración y después 2-3 veces por semana.
- Desarrollar un dispositivo intra-uminal con base en matrices lipídicas que incluya un sistema de aislamiento y/o retención que permita en primera instancia una encapsulación de la formulación, su protección de la erosión en rumen, y un mejor y mayor control de la liberación basado en la reducción del área superficial expuesta a los fluidos ruminales.
- Desarrollar dispositivos intra-uminales basados en otro tipo de tecnología, por ejemplo, sistemas cerámicos o vítreos, o aún el desarrollo de sistemas con liberación osmótica o electrónica que puedan prolongar el tiempo de liberación y que controlen de manera efectiva la velocidad de liberación, mejorando de esta manera la dosificación y seguridad total.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

10. REFERENCIAS

Abdelrahman M. M., Kincaid R. L. (1995): Effect of selenium supplementation on maternal transfer of selenium to fetal and newborn calves. *J. Dairy Sci.*, 78, 625-630.

Aluja A. S. De, Rocha A. M., Ochoa P. (1981): Determinación de niveles de selenio sérico en becerros y vacas de dos establos localizados en el Estado de México. *Vet. Mex.* 12(2):85-88.

Andrewartha, K.A., Caple, I.W., Davies, W.D. and McDonald, J.W. (1980): Observations on serum thyroxine concentrations in lambs and ewes to assess iodine nutrition. *Aust. Vet. J.*, 56, 18-21.

Arthur J. R., Beckett G. J. (1994): New metabolic roles for selenium. *Proc. Nutr. Soc.*, 53, 615-624.

Arthur J. R., Bermano G., Mitchell J. H., Hesketh J. E. (1996): Regulation of selenoprotein gene expression and thyroid hormone metabolism. *Biochem. Soc. Trans.*, 24, 384-388.

Arthur J. R., Bermano G., Mitchell J. H. (1999): The interactions between selenium and iodine deficiencies in man and animals. *Nutr. Res. Rev.*, 12, 55-73.

Arthur J. R., Nicol F., Beckett G. J. (1990a): Hepatic iodothyronine deiodinase: The role of selenium. *Biochem. J.*, 272, 537- 540.

Arthur J. R., Nicol F., Beckett G. J., Trayhurn P. (1991): Impairment of iodothyronine 5'-deiodinase activity in brown adipose tissue and its acute stimulation by cold in selenium deficiency. *Can. J. Phys. Pharm.*, 69, 782- 785.

Arthur J. R., Nicol F., Boyne R., Allen K. G. D., Hayes J. D., Beckett G. J. (1987): Old and new roles for selenium. In *Trace Substances in Environmental Health XXI*, pp. 487- 498 [DD Hemphill, editor]. Columbia, MO: University of Missouri.

Arthur J. R., Nicol F., Rae P. W. H., Beckett G. J. (1990c): Effects of selenium deficiency on the thyroid gland and on plasma and pituitary thyrotrophin and growth hormone concentrations in the rat. *Clin. Chem. Enzymol. Comm.*, 3, 209- 214.

Arthur, J.R., Nicol F., Guo Y., Trayhurn P. (1992): Progressive effects of selenium deficiency on the acute cold induced stimulation of type II deiodinase activity in rat brown adipose tissue. *Proc. Nutr. Soc.*, 51, 63A.

Aspila P., (1991): Metabolism of selenite, selenomethionine and feed-incorporated selenium in lactating goats and dairy cows. *J. Sci. Food Agric.*, 63: 1-74.

Awadeh F. T., Kincaid, R. L., Johnson, K. A. (1998): Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of Thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. *J. Anim. Sci.*, 76, 1204-1215.

Barradas H. V. (1980): Interrelationships among the mineral content of soils, forages and cattle in the central and northern region of Veracruz, México. M. Sc. Thesis. Michigan State University, Michigan.

- Beckett G. J. y Arthur J. R. (1994): The iodothyronine deiodinases and 5'-deiodination. *Baillieres Clin. Endocrinol. Met.*, 8, 285- 304.
- Beckett G. J., Beddows S. E., Morrice P. C., Nicol F., Arthur J. R. (1987): Inhibition of hepatic deiodination of thyroxine caused by selenium deficiency in rats. *Biochem. J.*, 248, 443- 447.
- Beckett G. J., MacDougall D. A., Nicol F., Arthur J. R. (1989): Inhibition of type I and type II iodothyronine deiodinase activity in rat liver, kidney and brain produced by selenium deficiency. *Biochem. J.*, 259, 887- 892.
- Beech S. G., Walker S. W., Dorrance A. M., Arthur J. R., Nicol F., Lee D., Beckett G. J. (1993): The role of thyroidal type-I iodothyronine deiodinase in tri-iodothyronine production by human and sheep thyrocytes in primary culture. *J. Endocrinol.*, 136, 361-370.
- Behne D., Hilmert H., Scheid S., Gessner H. Elger W. (1988): Evidence for specific selenium target tissues and new biologically important selenoproteins. *Biochim. Biophys. Acta*, 966, 12- 21.
- Behne D., Kyriakopoulos A., Meinhold H., Kohrle J. (1990): Identification of type-I iodothyronine 5'-deiodinase as a selenoenzyme. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 173, 1143-1149.
- Behne D., Kyriakopoulos A., Weissnowak C., Kalckloesch M., Westphal C., Gessner H. (1996): Newly found seleniumcontaining proteins in the tissues of the rat. *Biol. Trace Element Res.*, 55, 99-110.
- Beilstein M. A., Whanger P. D.(1992): Selenium metabolism and glutathione peroxidase activity in cultured human lymphoblasts. Effects of transsulfuration defects and pyridoxal phosphate. *Biol. Trace Element Res.*;35(2):105–18.
- Bermano G., Nicol F., Dyer J. A., Sunde R. A., Beckett G. J., Arthur J. R., Hesketh J. E. (1995): Tissue-specific regulation of selenoenzyme gene expression during selenium deficiency in rats. *Biochem. J.*, 311, 425-430.
- Berry M. J., Banu L., Chen Y , Mandel S., Kieffer J., Harney J., Larsen P. (1991a): Recognition of UGA as a selenocysteine codón in type I deiodinase requires sequences in the 3' untranslated region. *Nature*, 353, 273–276
- Berry M. J., Banu L., Larsen P. R. (1991b): Type-I iodothyronine deiodinase is a selenocysteine-containing enzyme. *Nature* 349, 438- 440.
- Berry M. J., Kieffer J. D., Harney J. W., Larsen P. R. (1991c): Selenocysteine confers the biochemical properties characteristic of the type-I iodothyronine deiodinase. *J. Biol. Chem.*, 266, 14155- 14158.
- Bianco A. S., Sheng X., Silva J. E. (1988): Triiodothyronine amplifies norepinephrine stimulation of uncoupling protein gene transcription by a mechanism requiring protein synthesis. *J. Biol. Chem.*, 263, 18168- 18172.
- Bitman J., Kahl S., Wood, D. L., Lefcourt A. M. (1994): Circadian and ultradian rhythms of plasma thyroid hormone concentrations in lactating dairy cows. *Am. J. Physiol.* 266, R1797-R1803.

- Bjorkman U. y Ekholm R. (1992): Hydrogen peroxide generation and its regulation in FRTL5 and porcine thyroid cells. *Endocrinol.*, 130, 393-399.
- Brown T. A., Shrift A. (1981): Exclusion of selenium from proteins in selenium-tolerant *Astragalus* species. *Plant Physiol.*, 67: 1951-1953.
- Burk RF & Hill KE (1992) Some properties of selenoprotein-P. *Biological Trace Element Research* 33, 151± 153.
- Burk R. F., Hill K. E., Awad J. A., Morrow J. D., Kato T., Cockell K. A., Lyons P. R. (1995): Pathogenesis of diquat-induced liver necrosis in selenium-deficient rats: Assessment of the roles of lipid peroxidation and selenoprotein P. *Hepatology* 21, 561-569.
- Byard J. L. (1969): Trimethyl selenide. A urinary metabolite of selenite. *Arch. Biochem. Biophys.*, 130(1):556-60.
- Campbell, D. T., J. Maas, D. W. Weber, O. R. Hedstrom and B. B. Norman. (1990): Safety and efficacy of two sustained-release intra-reticular selenium supplements and the associated placental and colostrum transfer of selenium in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 51 (5):813-817.
- Capuco A. V., Wood D. L., Elsasser T. H., Kahl S., Erdman R. A., Van Tassell, C. P., Lefcourt A., Piperova L. S. (2001): Effect of somatotropin on thyroid hormones and cytokines in lactating dairy cows during ad libitum and restricted feed intake. *J. Dairy Sci.*, 84, 2430-2439.
- Cassar-Malek I., Kahl S., Jurie C., Picard C. (2001): Influence of feeding level during postweaning growth on circulating concentrations of thyroid hormones and extrathyroidal 5'-deiodination in steers. *J. Anim. Sci.*, 79, 2679-2687.
- Conrad, H. R., and A. L. Moxon. (1979): Transfer of dietary selenium to milk. *J. Dairy Sci.* 62: 404-411.
- Copeland P., Fletcher J., Carlson B., Hatfield D., Driscoll D. (2000): A novel RNA binding protein, SBP2, is required for translation of mammalian selenoprotein mRNAs. *EMBO J.*, 19, 306-314.
- Corvilain B., Laurent E., Lecomte M., Vasande J., Dumont J. E. (1994): The role of cyclic adenosine-3',5' monophosphate and phosphatidylinositol Ca²⁺ cascades in mediating the effects of thyrotropin and iodide on hormone synthesis and secretion in human thyroid slices. *J. Clin. Endocrinol. Met.*, 79, 152-159.
- Dai G., Levy O., Carrasco N. (1996): Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature* 379, 458-460.
- De Souza M. P., Pilon-Smits E. A. H., Lytle C. M., Hwang S., Tai J., Honma TSU, Yeh L., Terry N. (1998): Rate-limiting steps in selenium assimilation and volatilization by Indian mustard. *Plant Physiol.*, 117: 1487-1494.
- Deescobar G. M., Obregon M. J., Calvo R., Delrey F. E. (1993): Effects of iodine deficiency on thyroid hormone metabolism and the brain in fetal rats : the role of the maternal transfer of thyroxin. *Am. J. Clin. Nutr.*, S280-S285.

- Delange F. M., y Ermans A. M. (1996): Iodine deficiency. In Werner and Ingbar's *The Thyroid*, 7th ed., pp. 296-316 y pp. 736-767 [LE Braverman and RD Utiger, editors]. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven.
- Díaz S. R., Montes de Oca R., Velásquez V., Wilsmore J. (1994): Actividad de glutatión peroxidasa (GSH-PX) y niveles de selenio en sangre de ovinos y niveles de selenio en suelo y pasto de áreas ovinas. XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Acapulco, México. p. 237.
- Downer, J.V., Hemken, R.W., Fox, J.D. Bull, L.J. (1981): Effect of dietary iodine on tissue iodine content of the bovine. *J. Anim. Sci.*, 52, 413-417.
- Dumont J. E. (1971): The action of thyrotropin on thyroid metabolism. *Vitamins and Hormones* 29, 287- 412.
- Ellis R. D. y Salt D. E. (2003): Plants, selenium and human health. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 6: 273-279
- Erenberg A., Omori K., Menkes J.N., Oh W., Fisher D.A. (1974): Growth and development of thyroidectomised ovine fetus. *Pediatric. Res.*, 8, 783-789.
- Esaki N., Nakamura T., Tanaka H., Soda K. (1982): Selenocysteine lyase, a novel enzyme that specifically acts on selenocysteine. Mammalian distribution and purification and properties of pig liver enzyme. *J. Biol. Chem.*, 257(8):4386-91.
- Escobosa A., González M. O., Rocha A. M., Rosas N., O'Connor J., Figueroa F. De M. (1978). Determinación de selenio, calcio, fósforo, manganeso en forrajes y pH de suelos en algunas regiones de la República Mexicana. Mem. X Congreso Nacional de Buiatria. México. P.839.
- Evenson J. K. y Sunde R. A. (1988): Selenium incorporation into selenoproteins in the Se-adequate and Se- deficient rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 187, 169-180.
- Ferguson, K.A., Schinckel, P.G., Carter, H.B. and Clarke, W.H. (1956): The influence of the thyroid on wool follicle development in the lamb. *Aust. J. Biol. Sci.*, 9, 575-585.
- Food and Drug Administration. (1997): Food additives permitted in feed and drinking water of animals; selenium. *Federal Register* (Aug. 25) 62:44892-44894.
- Ganyher H. E. (1971): Reduction of the selenotrisulfide derivative of glutathione to a persulfide analog by glutathione reductase. *Biochem.*, 10(22):4089-98.
- Garberg P., Stahl A., Warholm M., Hogberg J. (1988): Studies of the role of DNA fragmentation in selenium toxicity. *Biochem. Pharmacol.* 37, 3401-3406.
- Gates N. L. y Johnson K. A. (1995): *Selenium and Related disorders in Washington Livestock*. Washington State University.
- Geloën A., Arthur J. R., Beckett G. J., Trayhurn P. (1990): Effect of selenium and iodine deficiency on the level of uncoupling protein in brown adipose tissue of rats. *Biochem. Soc. Trans.*, 18, 1269-1270.

- Gladyshev V. N., Jeang K. T., Stadtman T. C. (1996): Selenocysteine, identified as the penultimate C-terminal residue in human T-cell thioredoxin reductase, corresponds to TGA in the human placental gene. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA* 93, 6146-6151.
- Grace, N. D., Lee J., Mills R. A., Death A. F. (1997): Influence of Se status on milk Se concentrations in dairy cows. *N. Z. J. Ag. Res.* 40:75-78.
- Groppe B. y Anke M. (1986): Iodine content of feedstuffs, plants and drinking water in the GDR. In: Anke, M., Boumann, W., Braunich, H., Bruckner, B. and Groppe, B. (eds) Spurenelement Symposium Proceedings, vol 5. Iodine. Friedrich Schiller University, Jena. Pp 19-28.
- Gyurik R. J. (1988): Rumen retention devices. In *Drug Delivery Devices* Praveen Tyle Ed., Marcel Dekker, New York. Cap. 4, pp 549-561.
- Hansen D., Hathaway R., Oldfield J.E. (1993): White muscle and other selenium-responsive diseases of livestock. Oregon State University, PNW 157.
- Harington, C.R. (1953): *The thyroid Gland, its Chemistry and Physiology*. Oxford University Press, London.
- Harrison, J. H., y Conrad H. R. (1984): Effect of selenium intake on selenium utilization by the nonlactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 67:219-223.
- Hemken, R.W. (1960): Iodine. *J. Dairy Sci.*, 53, 1138-1143.
- Hetzel, B.S. (1991): The international public health significance of iodine deficiency. In: Momcilovic, B. (ed) *Proc. 7th Int. Symp. on Trace Elements in Man and Animals*, Dabrovnik, IMI, Zagreb, 7-1 – 7-3.
- Hetzel, B.S. y Welby, M.C. (1997): Iodine In: O'Dell, B.L. and Sunde, R.A. (eds) *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*, Marcel Dekker, New York, pp. 557-582
- Hill K. E., Lloyd R. S., Yang J. G., Read R., Burk R. F. (1991): The cDNA for rat selenoprotein-P contains 10 TGA Codons in the open reading frame. *J. Biol. Chem.*, 266, 10050-10053.
- Hill K. E., Lloyd R. S., Burk R. F. (1993): Conserved nucleotide sequences in the open reading frame and 3'-untranslated region of selenoprotein P mRNA. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 90(2):537-41.
- Hill, R. (1991): Rapeseed meal in the diet of ruminants. *Nutr. Abstr. Rev.*, series B 61, 139-155.
- House, W. A., y Bell A. W. (1994): Sulfur and selenium accretion in the gravid uterus during late gestation in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:1860-1869.
- Howie A. F., Arthur J. R., Nicol F., Walker S. W., Beech S. G., Beckett G. J. (1998): Identification of a 57-kilodalton selenoprotein in human thyrocytes as thioredoxin reductase and evidence that its expression is regulated through the calcium-phosphoinositol signalling pathway. *J. Clin. Endocrinol. Met.*, 83, 2052-2058.
- Hubert N., Walczak R., Carbon P., Krol A. (1996): A protein binds the selenocysteine insertion element in the 3'-UTR of mammalian selenoproteina mRNAs. *Nucl. Acids Res.*, 24, 464-469.

- Huerta M. (2002): Nutrición mineral de animales en pastoreo. Curso de Nutrición de Rumiantes, Universidad Autónoma Chapingo, Posgrado en Producción Animal.
- Itoh M., Suzuki K. T. (1997): Effects of dose on the methylation of selenium to monomethylselenol and trimethylselenonium ion in rats. *Arch. Toxicol.*;71(7) 461-6.
- Ivancic, J. y Weiss W. P. (2001): Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84, 225-232.
- Janan J., Rudas P., Bartha T., Bozó S., Gábor Gy. (1995): Effect of severe energy restriction and feeding on thyroid hormones in bulls. *Acta Vet. Hung.*, 43, 173-177.
- Judson, G.H., Ellis N.F., Kempe B.R., Shallow M. (1991): Long-acting selenium treatment for sheep. *Aust. Vet. J.* 68:263-265.
- Jukola, E., Hakkarainen J., Saloniemi H., Sankari S. (1996): Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and B-carotene concentrations and udder health, fertility treatments and fertility. *J Dairy Sci.* 79:838-845.
- Karmarkar M. G., Prabakaran D., Godbole M. M. (1993): 5'-Monodeiodinase activity in developing human cerebral cortex. *Am. J. Clin. Nutr.*, 57, S291-S294.
- Kendall, N.R., Mackenzie A.M., Telfer S.B. (2001). In: Trace Elements in Man and Animals-10 . P.W. Fischer, M.R. Lábbé, K.A. Cockell and R.S. Gibson, eds. p. 784, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- King, C.F. (1976): Ovine congenital goiter associated with minimal thyroid enlargement. *Austr. J. Exp. Agr. & Anim. Hus.*, 16, 651-655.
- Knights, G. L., O'Rourke, P. K. and Hopkins, P. S. (1979) Effects of Iodine supplementation of pregnant and lactating ewes on the growth and maturation of their offspring. *Austr. J. Exp. Agr. & Anim. Hus.*, 19, 19-22.
- Knowles, S. O., Grace N. D., Wurms K., Lee J. (1999): Significance of amount and form of dietary selenium in blood, milk and casein concentrations in grazing cows. *J. Dairy Sci.* 82:429-437.
- Kobayashi Y., Ogra Y., Suzuki K. T. (2001): Speciation and metabolism of selenium injected with ⁸²Se-enriched selenite and selenate in rats. *J. Chromatogr. B* 760, 73-81
- Koenig, K. M., Buckley W. T., Shelford J. A. (1991a): Measurement of endogenous fecal excretion and true absorption of selenium in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 71:167-174.
- Koenig, K. M., Buckley W. T., Shelford J. A. (1991b): True absorption of selenium in dairy cows. Stable isotope tracer methodology and effect of dietary copper. *Can. J. Anim. Sci.* 71:175-183.
- Kohrle J. (1994): Thyroid hormone deiodination in target tissues : A regulatory role for the trace element selenium?. *Experimental Clin. Endocrinol.*, 102, 63-89.
- KoopdonkKool J. M., deVijlder J. J. M., Veenboer G. J. M, RisStalpers C., Kok J. H., Vulsma T., Boer K., Visser T. J. (1996): Type II and type III deiodinase activity in human placenta as a function of gestational age. *J. Clin. Endocrinol. Met.*, 81, 2154-2158

- Kramer G.F., Ames B.N. (1988): Mechanism of mutagenicity and toxicity of sodium selenite (Na_2SeO_3) in *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.* 201 (1) 169-180.
- Kuchel, R. E., y Buckley R. A. (1969): The provision of Se to sheep by means of heavy pellets. *Aust. J. Agric. Res.* 201:1099-1107.
- Larsen P. R., y Berry M. J. (1995): Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases. *Ann. Rev. Nutr.*, 15, 323-352.
- Lean, L. J., Troutt H. F., Boermans H., Moller G., Webster G., Tracy M. (1990): An investigation of bulk tank milk selenium levels in the San Joaquin Valley of California. *Cornell Vet* 80:41-51.
- Leyva-Ocariz H., Lucciola K., Puzzar S. (1997): Serum thyroid hormone concentrations during growth and puberty in Carora dairy heifers of Venezuela. *Theriogenology*, 48, 19-31.
- Lindmark_Mansson H., Fondén R., Pettersson H. E. (2003): Composition of Swedish dairy milk. *Int. Dairy J.*, 13: 409-425
- Larsen P. R., y Berry M. J. (1995): Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases. *Ann. Rev. Nutr.* 15, 323-352.
- Lobinski R., Edmonds J. S., Suzuki K. T. (2000): Species-selective determination of selenium compounds in biological materials. *Pure Appl. Chem.*, 72 (3), 447-461.
- McGuire M. A., Beede D. K., Collier R. J., Buonomo F. C., DeLorenzo M. A., Wilcox C. J. (1991): Effects of acute thermal stress and amount of feed intake on concentrations of somatotropine insuline-like growth factor (IGF)-I and IGF-II, and thyroidhormones in plasma of lactating Holstein cows. *J. Anim. Sci.*, 69, 2050-2056.
- Mahan, D. C. (1999): Organic selenium: using nature's model to redefine selenium supplementation for animals. In: *Biotechnology in the Feed Industry*. Nottingham Univ. Press. Loughborough, Leicester, UK. pp 523-535.
- Mahan, D. C. (2000): Effect of organic and inorganic selenium sources and levels on sow colostrum and milk selenium content. *J. Anim. Sci.* 78:100-105.
- Maus, R. W., Martz F. A., Belyca R. L., Weiss M. F. (1980): Relationship of dietary selenium to selenium in plasma. *J. Dairy Sci.* 65:532-539.
- McCoy M. A., Smyth J. A., Ellis W. A., Arthur J. R., Kennedy D. G. (1997): Experimental reproduction of iodine deficiency in cattle. *Vet. Rec.*, 141, 544-547.
- McDowell L. R., Valle G., Cristaldi L., Davis P. A., Rosendo O., Wilkinson N. S. (2002): Selenium availability and methods of selenium supplementation for grazing ruminants. *Proc. 13th Ann. Florida Ruminant Nutr. Symp.*, pp 86-102
- McDowell, L. R. (1997): Trace element supplementation in Latin America and the potential for organic selenium. *Proc. Alltech's 13th Ann. Biotechnol. Feed Industry.* p 45 (Abstract).
- McGowan A. C. (1983): The use of "Lipidol" for subclinical iodine deficiency in livestock. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.*, 43, 135-136.

- Meinhold H, Campos-Barros A, Walzog B, Kohler R, Muller F., Behne D. (1993): Effects of selenium and iodine deficiency on type-I, type-II and type-III iodothyronine deiodinases and circulating thyroid hormones in the rat. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 101, 87-93.
- Miller, J. K., Ramsey N., Madsen F. C. (1988): The trace elements. pp 342-400 in *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*, D. C. Church, ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, Inc.
- Miller J. K., Swanson E. W., Spalding. G. E., Lyke W. A., Hall R. F. (1974). The role of the abomasums in recycling of iodine in the bovine. In: Hoekstra, W.G., Suttie, J.W., Ganther, H.E. and Mertz, W. (eds) *Proc. 2th Int. Symp. on Trace Elements in Man and Animals*. University Park Press, Baltimore, pp. 638-640.
- Mitchell J. H., Nicol F., Beckett G. J., Arthur J. R. (1996): Selenoenzyme expression in thyroid and liver of second generation selenium- and I-deficient rats. *J. Mol. Endocrinol.*, 16, 259-267.
- Mitchell J. H, Nicol F., Beckett G. J., Arthur J. R. (1997): Selenium and iodine deficiencies: effects on brain and brown adipose tissue selenoenzyme activity and expression. *J. Endocrinol.*, 155, 255-263.
- Mizutani T., Tanabe K., Yamada K. (1988): AGU base pair in the eukaryotic selenocysteine tRNA is important for interaction with SePF, the putative selenocysteine specific elongation factor. *FEBS Lett.*, 429 (2), 189-193.
- Mizutani T., Goto C., Totsuka T.(2000): Mammalian selenocysteine tRNA, its enzymes and selenophosphate. *J. Health Sci.*, 46(6) 399-404.
- National Research Council NRC (1983): *Selenium in nutrition (Rev. Ed) Subcommittee on Selenium, Committee on Animal Nutrition, Washington D.C., National Academy Press.*
- National Research Council NRC. (1989): *Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th revised edition. Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, Committee on Animal Nutrition, Washington DC. National Academy Press.*
- National Research Council NRC. (2001): *Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th revised edition. Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, Committee on Animal Nutrition, Washington DC. National Academy Press.*
- Nikolic J. A., Samanc H., Begovic J., Damjanovic Z., Dokovic R., Kostic G., Kramanovic J., Resanovic, V. (1997): Low peripheral serum thyroid hormone status independently affects the hormone profiles of healthy and ketotic cows during the first week postpartum. *Acta Vet. (Belgr.)*, 47, 3-14.
- Oldfield J. E. (2002): *A Brief History of Selenium Research: From Alkali Disease to Prostate Cancer (From Poison to Prevention)*, *Am. Soc. Anim. Sci.*, 1-4.
- Oldfield James E., *Selenium in Nutrition: The Early Years*, Oregon State University. Special Circular 167-99.
- Oldfield, J. E. (1997). *Observations on efficacy of various forms of selenium for livestock: A review. Biomed. Environ. Sci.* 10: 280-291.

- Ortman, K. y Pehrson B. (1999): Effect of selenate as feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. *J. Anim. Sci.* 77:3365-3370.
- Palmer I. S., Fischer D. D., Halverson A. W., Olson O. E. (1969): Identification of a major selenium excretory product in rat urine. *Biochem. Biophys. Acta*, 177(2):336-42.
- Pavlata L., Pechova A., Illek J. (2000): Direct and indirect assessment of selenium status in cattle – a comparison. *Acta Vet. Brno.*, 69, 281-287.
- Pavlata L., Illek J., Pechova A. (2001): Blood and tissue selenium concentrations in calves treated with inorganic or organic selenium compounds –a comparison. *Acta Vet. Brno.*, 70, 19-26.
- Petches Gy., Bokori J., Rudas P., Frenyó V.L., Fekete S. (1985): Thyroxin, triiodothyronine, reverse-triiodothyronine and other physiological characteristics of preparturient cows fed restricted energy. *J. Dairy Sci.*, 68, 1148-1154.
- Potter B. J., Mano M. T., Belling G. B., McIntosh G. H., Hua C, Cragy B. G., Marshall J., Wellby M. L., Hetzel, B. S. (1982): Retarded fetal brain development resulting from severe iodine deficiency in sheep. *Appl. Neurobiol.*, 8, 303-313.
- Potter B. J., McIntosh G. H., Hetzel, B. S. (1981): The effect of iodine deficiency on foetal brain development in the sheep. In: Hetzel, B.S. and Smith, R.M. (eds) *Fetal Brain Disorders –Recent Approaches to the Problem of Mental Deficiency*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 119-147.
- Pratt B. R., Wettemann R. P. (1986): The effect of environmental temperature on concentrations of thyroxin and triiodothyronine after thyrotropin releasing hormone in steers. *J. Anim. Sci.*, 62, 1346-1352.
- Puls R. (1988): Mineral levels in animal health diagnostic data, publicado por Sherpa International, Impreso en Canada por Trinity western University Press, p. 115.
- Ramírez Bribiesca, J. E. (1995): La carencia de selenio, su diagnóstico y suplementación en un sistema de producción caprina del sureste del estado de Tlaxcala. Tesis de Maestría en Ciencias. FESC, UNAM.
- Richard K., Hume R., Kaptein E., Sanders J. P., VanToor H., Deherder W. W., DenHollander J. C., Krenning E. P., Visser T. J. (1998): Ontogeny of iodothyronine deiodinases in human liver. *J. Clin. Endocrinol. Met.*, 83, 2868-2874.
- Richards M. W., Spicer L. J., Wetteman R. P. (1995): Influence of diet and ambient temperature on bovine serum insulin-like growth factor-I and thyroxin: relationships with non-esterified fatty acids, glucose, insulin, luteinizing hormone and progesterone. *Anim. Reprod. Sci.*, 37, 267-279.
- Riis P. M., Madsen A. (1985): Thyroxin concentrations and secretion rates in relation to pregnancy, lactation and energy balance in goats. *J. Endocrinol.*, 107, 421-427.
- Rodríguez E. M., Sanz M., Diaz C., (2001). Mineral Concentrations in Cow's Milk from the Canary Island. *J. Food Comp. Anal.*, 14, 419-430.

Rosiles M. R., González V. M., López L., Peña P. (1993): Niveles comparativos de selenio en pelo de bovinos sanos a nivel del mar, con los de insuficiencia cardiaca en el Valle de México. *Vet. Mex.* 24(2):135-137.

Safran M, Farwell A. P., Leonard J. L. (1991): Evidence that type-II 5'-deiodinase is not a selenoprotein. *J. Biol. Chem.*, 266, 13477-13480.

Sandholm M. (1973): The metabolism of selenite in cow blood in vitro. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 33 (1), 6-16.

Seko Y., Saito Y., Kitahara J., Imura N. (1989): Active oxygen generation by the reaction of selenite with reduced glutathione in vivo. In *Selenium in Biology and Medicine* (Wendel A., ed), Springer-Verlag, Berlin, pp. 70-73.

Shaw W. H., Anderson J. W. (1999): Comparative enzymology of the adenosine triphosphate sulfurylase from spinach leaf tissue. *Biochem. J.*, 139: 37-42

Shen Q., McQuilkin P., Newberger P. (1998): Identification and molecular cloning of a human selenocysteine insertion sequence-binding protein. *J. Biol. Chem.*, 273, 5443-5446.

Shiobara Y., Yoshida T., Suzuki K. T. (1998): Effects of dietary selenium species on Se concentrations in hair, blood, and urine. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*:152(2):309-14.

Shiobara Y., Ogra Y., Suzuki K. T. (2000): Exchange of endogenous selenium for dietary selenium as ⁸²Se-enriched selenite in brain, liver, kidney and testes. *Life Sci.* 67(25), 3015-3129.

Shiobara Y., Ogra Y., Suzuki K. T. (1999): Speciation of metabolites of selenate in rats by HPLC-ICP-MS. *Analyst*, 123(1), 63-67.

Shiobara Y., y Suzuki K. T. (1998): Binding of selenium administered as selenite to albumin after efflux from red blood cells. *J. Chromatogr. B* 710, 49-56.

Sihombling D. T. H., Cromwell G. L., Hays V. M. (1974): Effects of protein source, goitrogens and iodine level on performance and thyroid status of pigs. *J. Anim. Sci.*, 39, 1106-1112.

Smyth J. A., McNamee P. T., Kennedy D. G., McCullough S. J., Logan E. F., Ellis W. A. (1992): Stillbirth/perinatal weak calf syndrome: preliminary pathological, microbiological and biochemical findings. *Vet. Rec.*, 130, 237-240.

Sorensen P. (1962): Studies of thyroid function in cattle and pigs. In *Use of Radioisotopes in Animal Biology and Medical Sciences*, Vol. 1. New York: Academic Press. p. 455

Spross S. A. K. (1982): Evaluación del contenido mineral en el suelo, planta y animal, de cinco ranchos del estado de México y estado de Hidalgo. Tesis de Maestría, FESC, UNAM.

St Germain D. L., y Galton V. A. (1997): The deiodinase family of selenoproteins. *Thyroid* 7, 655-668.

Statham M. y Koen T. B. (1981): Control of goiter in lambs by injection of ewes with iodized poppy seed oil. *Austr. J. Exp. Agr. Anim. Hus.*, 22, 29-34.

- Strouth M. K. D. (1985): Niveles de selenio en alfalfa y sangre de vacas Holstein y correlación entre niveles de selenio y glutatión peroxidasa. Tesis de Maestría, FMVZ, UNAM.
- Sunde R. A. (1990): Molecular biology of selenoproteins. *Ann. Rev. Nutr.*, 10, 451-474.
- Suzuki K. T., Shiobara Y., Itoh M., Omichi M. (1998): Selective uptake of selenite by red blood cells. *Analyst*, 123(1), 63-67.
- Suzuki K. T., Itoh M. (1997): Metabolism of selenite labelled with enriched stable isotope in the blood stream. *J. Chromatogr. B* 692, 15-22.
- Suzuki K. T., Ishiwata K., Ogra Y. (1999): Incorporation of selenium into selenoprotein-P and extracellular glutathione peroxidase: HPLC-ICP-MS data with enriched selenite. *Analyst* 124, 1749-1754.
- Suzuki K. T., Ogra Y. (1999): Speciation of biological trace elements by HPLC-ICP MS: Application to elucidate mechanisms underlying the interaction between mercury and selenium. *Biomed. Res.on Trace Elements*, 10:95-102.
- Tagmount A., Berken A., Terry N. (2002): An essential role of S-adenosyl-L-methionine: L-methionine S-methyltransferase in selenium volatilization by plants. Methylation of selenomethionine to selenium-methyl-L-selenium-methionine, the precursor of volatile selenium. *Plant Physiol.*, 130: 847-856.
- Tanaka H., Esaki N., Soda K. (1985): Selenocysteine metabolism in mammals. *Curr. Top. Cell. Regul.*, 27:487-95.
- Taurog A. (1986): Hormone synthesis and secretion. In Werner and Ingbar's *The Thyroid*, 7th ed., pp. 47± 81 [LE Braverman and RD Utiger, editors]. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven.
- Telfer, S. B., Zewas G., Knott P. (1983): Water soluble glass articles, their manufacture and their use in the treatment of ruminant animals. U.K. Patent Appl. GB 2116421 A.
- Terada A., M. Yoshida, Y. Seko, T. Kobayashi, K. Yoshida, M. Nakada, K. Nakada, H. Echizen, H. Ogata, T. Rikihisa. (1999): Active oxygen species generation and cellular damage by additives of parenteral preparations: selenium and sulfhydryl compounds. *Nutrition* 15, 651-655.
- Thomson C. D., Stewart R. D. H. (1973): Metabolic studies of ⁷⁵Se selenomethionine and ⁷⁵Se selenite in the rat. *Br. J. Nutr.*, 30(1):139-47.
- Tirats T. (1997): Thyroxin, triiodothyronine and reverse-triiodothyronine concentrations in blood plasma in relation to lactational stage, milk yield, energy and dietary protein intake in Estonian dairy cows. *Acta Vet. Scand.*, 38, 339-348.
- Tinggi U. (2003): Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicol. Lett.*, 137, 103-110.
- Toledo P., Andrén A., Björck L., (2002): Composition of raw milk from sustainable production systems, *Int. Dairy J.*, 12: 75-80.
- Underwood, E.J. y Suttle N.F. (1999): *The Mineral Nutrition of Livestock*. 3rd ed. Wallingford: CABI Publishing, UK.

Van Dael, P. G., Vlaemyneck, R. V., Renterghem, and H. Deelstra. (1991): Selenium content of cow's milk and its distribution in protein fractions. *Z Lebensm Unters Forsch* 192: 422-426.

Van Saun, R. J., Herdt T.H., Stowe H. D. (1989): Maternal and fetal selenium concentrations and their interrelationships in dairy cattle. *J. Nutr.* 119:1128-1137.

Waldron M. R., Ward T. L., Socha M. T., Overton T. R. (2004). Tissue selenium content and whole-blood glutathione peroxidase activity of lactating cows are increased by two organic forms of dietary selenium. *Am. Dairy Sci. Assoc.* 87 (suppl 1.): 118.

Weiss W. P., Todhunter D. A., Hogan J. S., Smith K. L. (1990): Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 73, 3187-3194.

Wen W., Weiss S., Sunde R. (1998): UGA codón position affects the efficiency of selenocysteine incorporation into glutathione peoxidase. *J. Biol. Chem.*, 273, 28533–28541.

Wu L., McGarry L., Lanfear J., Harrison P. R. (1995): Altered selenium-binding protein levels associated with selenium resistance. *Carcinogenesis* 16, 2819-2824.

Yamada K. (1995): A new translational elongation factor for selenocysteyl tRNA in eucaryotes. *FEBS Lett.*, 377, 313–317

Yamada K., Mizutani T., Ejiri S., Totsuka T. (1994): A factor protecting mammalian [75Se]SeCys-tRNA is different from EF-1 alpha. *FEBS Lett.*, 347, 137–142

Yambayamba E. S. K., Price M. A., Foxcroft G. R. (1996): Hormonal status, metabolic changes, and resting metabolic rate in beef heifers undergoing compensatory growth. *J. Anim. Sci.*, 74, 57-69.

Yan L., Spallholz J. E. (1993): Generation of reactive oxygen species from the reaction of selenium compounds with thiols and mammary tumor cells. *Biochem. Pharmacol.* 45, 429–437.

Zagrodski, P., Nicol, F., McCoy, M.A., Smyth, J.A., Kennedy, D.G., Beckett, G.J. and Arthur, J.R. (1998): Iodine deficiency in cattle: compensatory changes in thyroidal selenoenzymes. *Res. Vet. Sci.*, 64, 209-211.

Anexo 1. Resultados del Análisis Estadístico para los Perfiles Plasmáticos de Selenio en Etapa 1.

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.EAG_01
Dependent Variable	Se
Covariance Structure	Unstructured
Subject Effect	vaca(trat)
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	None
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Between-Within

Class Level Information

Class	Levels	Values
vaca	30	103HO 112HO 121HO 122HO 128HO 136HO 140HO 141HO 143HO 144HO 145HO 146HO 148HO 150HO 155HO 156HO 5HO 8HO J2421 J2832 J2845 J2868 J2869 J2878 J2887 J2890 J2935 J2938 J2939 J2940.
raza	2	HOLSTEIN JERSEY
trat	3	1 2 3
time	4	0 15 30 45

Dimensions

Covariance Parameters	10
Columns in X	60
Columns in Z	0
Subjects	30
Max Obs Per Subject	4
Observations Used	120
Observations Not Used	0
Total Observations	120

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	909.79449565	
1	1	893.92741869	0.00000000

Convergence criteria met.

Estimated R Matrix for vaca(trat) 103HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4
1	343.89	103.78	30.8576	2.2222
2	103.78	561.62	243.57	170.17
3	30.8576	243.57	435.53	216.56
4	2.2222	170.17	216.56	714.28

Estimated R Correlation Matrix for vaca(trat) 103HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4
1	1.0000	0.2361	0.07973	0.004484
2	0.2361	1.0000	0.4925	0.2687
3	0.07973	0.4925	1.0000	0.3883
4	0.004484	0.2687	0.3883	1.0000

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Subject	Estimate
UN(1,1)	vaca(trat)	343.89
UN(2,1)	vaca(trat)	103.78
UN(2,2)	vaca(trat)	561.62
UN(3,1)	vaca(trat)	30.8576
UN(3,2)	vaca(trat)	243.57
UN(3,3)	vaca(trat)	435.53
UN(4,1)	vaca(trat)	2.2222
UN(4,2)	vaca(trat)	170.17
UN(4,3)	vaca(trat)	216.56
UN(4,4)	vaca(trat)	714.28

Fit Statistics

Res Log Likelihood	-447.0
Akaike's Information Criterion	-457.0
Schwarz's Bayesian Criterion	-464.0
-2 Res Log Likelihood	893.9

Null Model Likelihood Ratio Test

DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
9	15.87	0.0697

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
raza	1	24	1.05	0.3155
trat	2	24	4.65	0.0197*
raza*trat	2	24	0.97	0.3945
time	3	24	52.19	<.0001*
raza*time	3	24	1.80	0.1744
trat*time	6	24	13.06	<.0001*
raza*trat*time	6	24	0.94	0.4878

Contrasts

Label	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Se y l vs Se+l	1	24	0.16	0.6912
l vs Se+l	1	24	3.46	0.0754
Lineal	1	24	1.35	0.2564
Cubico	1	24	7.94	0.0095*

Least Squares Means

Effect	trat	time	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t
trat	1		93.5208	4.8342	24	19.35	<.0001
trat	2		72.8646	4.8342	24	15.07	<.0001
trat	3		85.5729	4.8342	24	17.70	<.0001
time		0	75.9583	3.4555	24	21.98	<.0001
time		15	118.26	4.4160	24	26.78	<.0001
time		30	89.3611	3.8888	24	22.98	<.0001
time		45	52.3611	4.9801	24	10.51	<.0001
trat*time	1	0	71.5417	5.9852	24	11.95	<.0001
trat*time	1	15	152.33	7.6487	24	19.92	<.0001
trat*time	1	30	100.29	6.7355	24	14.89	<.0001
trat*time	1	45	49.9167	8.6258	24	5.79	<.0001
trat*time	2	0	88.5833	5.9852	24	14.80	<.0001
trat*time	2	15	78.8750	7.6487	24	10.31	<.0001
trat*time	2	30	66.3750	6.7355	24	9.85	<.0001
trat*time	2	45	57.6250	8.6258	24	6.68	<.0001
trat*time	3	0	67.7500	5.9852	24	11.32	<.0001
trat*time	3	15	123.58	7.6487	24	16.16	<.0001
trat*time	3	30	101.42	6.7355	24	15.06	<.0001
trat*time	3	45	49.5417	8.6258	24	5.74	<.0001

Differences of Least Squares Means

Effect	trat	trat	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t
trat	1	2	20.6563	6.8367	24	3.02	0.0059*
trat	1	3	7.9479	6.8367	24	1.16	0.2564
trat	2	3	-12.7083	6.8367	24	-1.86	0.0754

Effect	time	time	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t
time	0	15	-42.3056	4.9229	24	-8.59	<.0001*
time	0	30	-13.4028	4.9920	24	-2.68	0.0129*
time	0	45	23.5972	6.0488	24	3.90	0.0007*
time	15	30	28.9028	4.2082	24	6.87	<.0001*
time	15	45	65.9028	5.6995	24	11.56	<.0001*
time	30	45	37.0000	4.9885	24	7.42	<.0001*

Effect	trat	time	trat	time	Estimate	Standard Error	DF	t value	Pr > t
trat*time	1	0	1	15	-80.7917	8.5267	24	-9.48	<.0001*
trat*time	1	0	1	30	-28.7500	8.6464	24	-3.33	0.0028*
trat*time	1	0	1	45	21.6250	10.4768	24	2.06	0.0500*
trat*time	1	0	2	0	-17.0417	8.4643	24	-2.01	0.0554
trat*time	1	0	3	0	3.7917	8.4643	24	0.45	0.6582
trat*time	1	15	1	30	52.0417	7.2888	24	7.14	<.0001*
trat*time	1	15	1	45	102.42	9.8719	24	10.37	<.0001*
trat*time	1	15	2	15	73.4583	10.8169	24	6.79	<.0001*
trat*time	1	15	3	15	28.7500	10.8169	24	2.66	0.0138*
trat*time	1	30	1	45	50.3750	8.6403	24	5.83	<.0001*
trat*time	1	30	2	30	33.9167	9.5255	24	3.56	0.0016*
trat*time	1	30	3	30	-1.1250	9.5255	24	-0.12	0.9070

Effect	trat	time	trat	time	Estimate	Standard Error	DF	t value	Pr > t
trat*time	1	45	2	45	-7.7083	12.1987	24	-0.63	0.5334
trat*time	1	45	3	45	0.3750	12.1987	24	0.03	0.9757
trat*time	2	0	2	15	9.7083	8.5267	24	1.14	0.2661
trat*time	2	0	2	30	22.2083	8.6464	24	2.57	0.0169*
trat*time	2	0	2	45	30.9583	10.4768	24	2.95	0.0069*
trat*time	2	0	3	0	20.8333	8.4643	24	2.46	0.0214*
trat*time	2	15	2	30	12.5000	7.2888	24	1.71	0.0992
trat*time	2	15	2	45	21.2500	9.8719	24	2.15	0.0416*
trat*time	2	15	3	15	-44.7083	10.8169	24	-4.13	0.0004*
trat*time	2	30	2	45	8.7500	8.6403	24	1.01	0.3213
trat*time	2	30	3	30	-35.0417	9.5255	24	-3.68	0.0012*
trat*time	2	45	3	45	8.0833	12.1987	24	0.66	0.5139
trat*time	3	0	3	15	-55.8333	8.5267	24	-6.55	<.0001*
trat*time	3	0	3	30	-33.6667	8.6464	24	-3.89	0.0007*
trat*time	3	0	3	45	18.2083	10.4768	24	1.74	0.0950
trat*time	3	15	3	30	22.1667	7.2888	24	3.04	0.0056*
trat*time	3	15	3	45	74.0417	9.8719	24	7.50	<.0001*
trat*time	3	30	3	45	51.8750	8.6403	24	6.00	<.0001*

Anexo 2. Resultados del Análisis Estadístico para la Concentración de Selenio en Leche Etapa 1.

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.LECHE1
Dependent Variable	Se
Covariance Structure	Unstructured
Subject Effect	vaca(trat)
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	None
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Between-Within

Class Level Information

Class	Levels	Values
vaca	21	121HO 122HO 128HO 140HO 141HO 144HO 145HO 146HO 148HO 150HO 155HO J2421 J2832 J2845 J2869 J2878 J2887 J2935 J2938 J2939 J2940
raza	2	Holstein Jersey
trat	3	1 2 3
tiempo	4	0 15 30 45

Dimensions

Covariance Parameters	10
Columns in X	60
Columns in Z	0
Subjects	21
Max Obs Per Subject	4
Observations Used	80
Observations Not Used	4
Total Observations	84

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	135.04128684	
1	2	129.99312287	0.00000919
2	1	129.99299792	0.00000000

Convergence criteria met.

Estimated R Matrix for vaca(trat) 128HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4
1	0.3816	0.05088	0.01546	0.02163
2	0.05088	0.3702	-0.05023	-0.05177
3	0.01546	-0.05023	0.2350	0.06051
4	0.02163	-0.05177	0.06051	0.6879

Estimated R Correlation Matrix for vaca(trat) 128HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4
1	1.0000	0.1354	0.05162	0.04221
2	0.1354	1.0000	-0.1703	-0.1026
3	0.05162	-0.1703	1.0000	0.1505
4	0.04221	-0.1026	0.1505	1.0000

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Subject	Estimate
UN(1,1)	vaca(trat)	0.3816
UN(2,1)	vaca(trat)	0.05088
UN(2,2)	vaca(trat)	0.3702
UN(3,1)	vaca(trat)	0.01546
UN(3,2)	vaca(trat)	-0.05023
UN(3,3)	vaca(trat)	0.2350
UN(4,1)	vaca(trat)	0.02163
UN(4,2)	vaca(trat)	-0.05177
UN(4,3)	vaca(trat)	0.06051
UN(4,4)	vaca(trat)	0.6879

Fit Statistics

Res Log Likelihood	-65.0
Akaike's Information Criterion	-75.0
Schwarz's Bayesian Criterion	-80.2
-2 Res Log Likelihood	130.0

Null Model Likelihood Ratio Test

DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
9	5.05	0.8301

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
raza	1	15	1.85	0.1934
trat	2	15	5.85	0.0133*
raza*trat	2	15	0.51	0.6097
tiempo	3	15	5.14	0.0121*
raza*tiempo	3	15	0.89	0.4667
trat*tiempo	6	15	3.79	0.0168*
raza*trat*tiempo	6	15	4.95	0.0055*

Contrasts

Label	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Se y l vs Se+l	1	15	3.49	0.0815
l vs Se+l	1	15	10.13	0.0062*
lineal	1	15	0.10	0.7549
cuadratico	1	15	10.78	0.0050*

Least Squares Means

Effect	raza	trat	tiempo	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t
trat		1		7.9447	0.1731	15	45.90	<.0001
trat		2		7.4597	0.1153	15	64.69	<.0001
trat		3		8.0136	0.1303	15	61.50	<.0001
tiempo			0	7.5156	0.1407	15	53.43	<.0001
tiempo			15	7.6821	0.1385	15	55.45	<.0001
tiempo			30	8.1802	0.1104	15	74.10	<.0001
tiempo			45	7.8461	0.2261	15	34.71	<.0001
trat*tiempo		1	0	7.4983	0.2820	15	26.59	<.0001
trat*tiempo		1	15	7.8558	0.2777	15	28.29	<.0001
trat*tiempo		1	30	8.4958	0.2213	15	38.39	<.0001
trat*tiempo		1	45	7.9288	0.5044	15	15.72	<.0001
trat*tiempo		2	0	7.6203	0.2072	15	36.78	<.0001
trat*tiempo		2	15	7.5923	0.2041	15	37.20	<.0001
trat*tiempo		2	30	7.2910	0.1626	15	44.84	<.0001
trat*tiempo		2	45	7.3354	0.3021	15	24.28	<.0001
trat*tiempo		3	0	7.4283	0.2359	15	31.49	<.0001
trat*tiempo		3	15	7.5983	0.2323	15	32.70	<.0001
trat*tiempo		3	30	8.7537	0.1851	15	47.28	<.0001
trat*tiempo		3	45	8.2740	0.3379	15	24.48	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	1	0	8.0067	0.3567	15	22.45	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	1	15	7.8167	0.3513	15	22.25	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	1	30	8.5267	0.2799	15	30.46	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	1	45	7.4860	0.5834	15	12.83	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	2	0	7.7980	0.2763	15	28.23	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	2	15	7.4420	0.2721	15	27.35	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	2	30	6.8220	0.2168	15	31.47	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	2	45	7.1940	0.3709	15	19.39	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	3	0	6.5567	0.3567	15	18.38	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	3	15	8.0667	0.3513	15	22.96	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	3	30	8.7900	0.2799	15	31.40	<.0001
raza*trat*tiempo	Holstein	3	45	7.8300	0.4789	15	16.35	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	1	0	6.9900	0.4368	15	16.00	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	1	15	7.8950	0.4302	15	18.35	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	1	30	8.4650	0.3428	15	24.69	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	1	45	8.3716	0.8230	15	10.17	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	2	0	7.4425	0.3089	15	24.10	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	2	15	7.7425	0.3042	15	25.45	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	2	30	7.7600	0.2424	15	32.01	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	2	45	7.4768	0.4770	15	15.67	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	3	0	8.3000	0.3089	15	26.87	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	3	15	7.1300	0.3042	15	23.44	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	3	30	8.7175	0.2424	15	35.96	<.0001
raza*trat*tiempo	Jersey	3	45	8.7179	0.4770	15	18.28	<.0001

Differences of Least Squares Means

Effect	trat	trat	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat	1	2	0.4850	0.2080	15	0.0341*
trat	1	3	-0.06890	0.2167	15	0.7549
trat	2	3	-0.5539	0.1740	15	0.0062*

Effect	tiempo	tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
tiempo	0	15	-0.1665	0.1836	15	0.3788
tiempo	0	30	-0.6646	0.1743	15	0.0017*
tiempo	0	45	-0.3304	0.2620	15	0.2265
tiempo	15	30	-0.4981	0.1913	15	0.0200*
tiempo	15	45	-0.1639	0.2751	15	0.5601
tiempo	30	45	0.3341	0.2388	15	0.1820

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	1	0	1	15	-0.3575	0.3680	15	0.3467
trat*tiempo	1	0	1	30	-0.9975	0.3493	15	0.0120*
trat*tiempo	1	0	1	45	-0.4305	0.5700	15	0.4618
trat*tiempo	1	0	2	0	-0.1219	0.3499	15	0.7324
trat*tiempo	1	0	3	0	0.07000	0.3676	15	0.8515
trat*tiempo	1	15	1	30	-0.6400	0.3834	15	0.1158
trat*tiempo	1	15	1	45	-0.0730	0.5942	15	0.9039
trat*tiempo	1	15	2	15	0.2636	0.3446	15	0.4562
trat*tiempo	1	15	3	15	0.2575	0.3621	15	0.4879
trat*tiempo	1	30	1	45	0.5670	0.5274	15	0.2993
trat*tiempo	1	30	2	30	1.205	0.2746	15	0.0005*
trat*tiempo	1	30	3	30	-0.2579	0.2885	15	0.3855
trat*tiempo	1	45	2	45	0.5934	0.5880	15	0.3289
trat*tiempo	1	45	3	45	-0.3452	0.6072	15	0.5781
trat*tiempo	2	0	2	15	0.02800	0.2704	15	0.9189
trat*tiempo	2	0	2	30	0.3293	0.2567	15	0.2191
trat*tiempo	2	0	2	45	0.2849	0.3596	15	0.4407
trat*tiempo	2	0	3	0	0.1919	0.3140	15	0.5502
trat*tiempo	2	15	2	30	0.3013	0.2818	15	0.3019
trat*tiempo	2	15	2	45	0.2569	0.3802	15	0.5096
trat*tiempo	2	15	3	15	-0.0061	0.3092	15	0.9846
trat*tiempo	2	30	2	45	-0.0444	0.3227	15	0.8924
trat*tiempo	2	30	3	30	-1.463	0.2464	15	<.0001*
trat*tiempo	2	45	3	45	-0.9386	0.4533	15	0.0561
trat*tiempo	3	0	3	15	-0.1700	0.3079	15	0.5890
trat*tiempo	3	0	3	30	-1.325	0.2923	15	0.0004*
trat*tiempo	3	0	3	45	-0.8456	0.4044	15	0.0540
trat*tiempo	3	15	3	30	-1.155	0.3208	15	0.0026*
trat*tiempo	3	15	3	45	-0.6756	0.4281	15	0.1354
trat*tiempo	3	30	3	45	0.4798	0.3617	15	0.2045

Anexo 3. Resultados del Análisis Estadístico para los Perfiles Plasmáticos de Triyodotironina (T3).

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.T3
Dependent Variable	T3
Covariance Structure	Unstructured
Subject Effect	vaca(trat)
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	None
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Between-Within

Class Level Information

Class	Levels	Values
vaca	30	103HO 112HO 121HO 122HO 128HO 136HO 140HO 141HO 143HO 144HO 145HO 146HO 148HO 150HO 155HO 156HO 5HO 8HO J2421 J2832 J2845 J2868 J2869 J2878 J2887 J2890 J2935 J2938 J2939 J2940
raza	2	HOLSTEIN JERSEY
trat	3	1 2 3
tiempo	4	0 15 30 45

Dimensions

Covariance Parameters	10
Columns in X	60
Columns in Z	0
Subjects	30
Max Obs Per Subject	4
Observations Used	120
Observations Not Used	0
Total Observations	120

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	-121.34665419	
1	1	-128.41418503	0.00000000

Convergence criteria met.

Estimated R Matrix for vaca(trat) 103HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4
1	0.01337	0.001351	0.000740	-0.00011
2	0.001351	0.01229	-0.00348	-0.00158
3	0.000740	-0.00348	0.01212	-0.00081
4	-0.00011	-0.00158	-0.00081	0.006693

Estimated R Correlation Matrix for vaca(trat) 103HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4
1	1.0000	0.1054	0.05810	-0.01160
2	0.1054	1.0000	-0.2855	-0.1738
3	0.05810	-0.2855	1.0000	-0.08962
4	-0.01160	-0.1738	-0.08962	1.0000

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Subject	Estimate
UN(1,1)	vaca(trat)	0.01337
UN(2,1)	vaca(trat)	0.001351
UN(2,2)	vaca(trat)	0.01229
UN(3,1)	vaca(trat)	0.000740
UN(3,2)	vaca(trat)	-0.00348
UN(3,3)	vaca(trat)	0.01212
UN(4,1)	vaca(trat)	-0.00011
UN(4,2)	vaca(trat)	-0.00158
UN(4,3)	vaca(trat)	-0.00081
UN(4,4)	vaca(trat)	0.006693

Fit Statistics

Res Log Likelihood	64.2
Akaike's Information Criterion	54.2
Schwarz's Bayesian Criterion	47.2
-2 Res Log Likelihood	-128.4

Null Model Likelihood Ratio Test

DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
9	7.07	0.6301

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
raza	1	24	3.74	0.0650
trat	2	24	12.25	0.0002*
raza*trat	2	24	0.42	0.6621
tiempo	3	24	50.24	<.0001*
raza*tiempo	3	24	0.34	0.7977
trat*tiempo	6	24	4.51	0.0034*
raza*trat*tiempo	6	24	0.65	0.6862

Contrasts

Label	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Se y l vs Se+l	1	24	9.85	0.0044*
l vs Se+l	1	24	21.45	0.0001*
lineal	1	24	0.65	0.4285
cuadratico	1	24	23.85	<.0001*

Least Squares Means

Effect	trat	tiempo	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t
trat	1		1.0420	0.01546	24	67.41	<.0001
trat	2		0.9583	0.01546	24	62.00	<.0001
trat	3		1.0596	0.01546	24	68.55	<.0001
tiempo		0	0.9703	0.02154	24	45.04	<.0001
tiempo		15	1.0765	0.02066	24	52.12	<.0001
tiempo		30	1.1624	0.02052	24	56.65	<.0001
tiempo		45	0.8707	0.01524	24	57.11	<.0001
trat*tiempo	1	0	0.9913	0.03732	24	26.56	<.0001
trat*tiempo	1	15	1.1296	0.03578	24	31.57	<.0001
trat*tiempo	1	30	1.2233	0.03554	24	34.42	<.0001
trat*tiempo	1	45	0.8238	0.02641	24	31.20	<.0001
trat*tiempo	2	0	0.9667	0.03732	24	25.91	<.0001
trat*tiempo	2	15	0.9717	0.03578	24	27.16	<.0001
trat*tiempo	2	30	1.0246	0.03554	24	28.83	<.0001
trat*tiempo	2	45	0.8704	0.02641	24	32.96	<.0001
trat*tiempo	3	0	0.9529	0.03732	24	25.54	<.0001
trat*tiempo	3	15	1.1283	0.03578	24	31.54	<.0001
trat*tiempo	3	30	1.2392	0.03554	24	34.87	<.0001
trat*tiempo	3	45	0.9179	0.02641	24	34.76	<.0001

Differences of Least Squares Means

Effect	Trat	Trat	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat	1	2	0.08365	0.02186	24	0.0008*
trat	1	3	-0.01760	0.02186	24	0.4285
trat	2	3	-0.1012	0.02186	24	0.0001*

Effect	Tiempo	tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
tiempo	0	15	-0.1063	0.02823	24	0.0010*
tiempo	0	30	-0.1921	0.02887	24	<.0001*
tiempo	0	45	0.09958	0.02654	24	0.0010*
tiempo	15	30	-0.08583	0.03301	24	0.0157*
tiempo	15	45	0.2058	0.02772	24	<.0001*
tiempo	30	45	0.2917	0.02664	24	<.0001*

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	1	0	1	15	-0.1383	0.04890	24	0.0093*
trat*tiempo	1	0	1	30	-0.2321	0.05001	24	0.0001*
trat*tiempo	1	0	1	45	0.1675	0.04596	24	0.0013*
trat*tiempo	1	0	2	0	0.02458	0.05277	24	0.6455
trat*tiempo	1	0	3	0	0.03833	0.05277	24	0.4746
trat*tiempo	1	15	1	30	-0.09375	0.05717	24	0.1141
trat*tiempo	1	15	1	45	0.3058	0.04802	24	<.0001*
trat*tiempo	1	15	2	15	0.1579	0.05060	24	0.0046*
trat*tiempo	1	15	3	15	0.001250	0.05060	24	0.9805
trat*tiempo	1	30	1	45	0.3996	0.04613	24	<.0001*

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	1	30	2	30	0.1988	0.05026	24	0.0006*
trat*tiempo	1	30	3	30	-0.01583	0.05026	24	0.7555
trat*tiempo	1	45	2	45	-0.04667	0.03734	24	0.2235
trat*tiempo	1	45	3	45	-0.09417	0.03734	24	0.0187*
trat*tiempo	2	0	2	15	-0.00500	0.04890	24	0.9194
trat*tiempo	2	0	2	30	-0.05792	0.05001	24	0.2582
trat*tiempo	2	0	2	45	0.09625	0.04596	24	0.0470*
trat*tiempo	2	0	3	0	0.01375	0.05277	24	0.7967
trat*tiempo	2	15	2	30	-0.05292	0.05717	24	0.3639
trat*tiempo	2	15	2	45	0.1012	0.04802	24	0.0456*
trat*tiempo	2	15	3	15	-0.1567	0.05060	24	0.0049*
trat*tiempo	2	30	2	45	0.1542	0.04613	24	0.0027*
trat*tiempo	2	30	3	30	-0.2146	0.05026	24	0.0003*
trat*tiempo	2	45	3	45	-0.04750	0.03734	24	0.2156
trat*tiempo	3	0	3	15	-0.1754	0.04890	24	0.0015*
trat*tiempo	3	0	3	30	-0.2862	0.05001	24	<.0001*
trat*tiempo	3	0	3	45	0.03500	0.04596	24	0.4538
trat*tiempo	3	15	3	30	-0.1108	0.05717	24	0.0644
trat*tiempo	3	15	3	45	0.2104	0.04802	24	0.0002*
trat*tiempo	3	30	3	45	0.3213	0.04613	24	<.0001*

Anexo 4. Resultados del Análisis Estadístico para los Perfiles Plasmáticos de Tiroxina (T4).

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.T4
Dependent Variable	T4
Covariance Structure	Unstructured
Subject Effect	vaca(trat)
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	None
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Between-Within

Class Level Information

Class	Levels	Values
vaca	30	103HO 112HO 121HO 122HO 128HO 136HO 140HO 141HO 143HO 144HO 145HO 146HO 148HO 150HO 155HO 156HO 5HO 8HO J2421 J2832 J2845 J2868 J2869 J2878 J2887 J2890 J2935 J2938 J2939 J2940
raza	2	HOLSTEIN JERSEY
trat	3	1 2 3
tiempo	4	0 15 30 45

Dimensions

Covariance Parameters	10
Columns in X	60
Columns in Z	0
Subjects	30
Max Obs Per Subject	4
Observations Used	120
Observations Not Used	0
Total Observations	120

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	552.63265332	
1	1	540.41119913	0.00000000

Convergence criteria met.

Estimated R Matrix for vaca(trat) 103HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4
1	11.8812	-4.4538	-4.4746	0.8715
2	-4.4538	9.6478	-1.2268	0.3894
3	-4.4746	-1.2268	13.6190	1.7919
4	0.8715	0.3894	1.7919	14.6388

Estimated R Correlation Matrix for vaca(trat) 103HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4
1	1.0000	-0.4160	-0.3518	0.06608
2	-0.4160	1.0000	-0.1070	0.03277
3	-0.3518	-0.1070	1.0000	0.1269
4	0.06608	0.03277	0.1269	1.0000

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Subject	Estimate
UN(1,1)	vaca(trat)	11.8812
UN(2,1)	vaca(trat)	-4.4538
UN(2,2)	vaca(trat)	9.6478
UN(3,1)	vaca(trat)	-4.4746
UN(3,2)	vaca(trat)	-1.2268
UN(3,3)	vaca(trat)	13.6190
UN(4,1)	vaca(trat)	0.8715
UN(4,2)	vaca(trat)	0.3894
UN(4,3)	vaca(trat)	1.7919
UN(4,4)	vaca(trat)	14.6388

Fit Statistics

Res Log Likelihood	-270.2
Akaike's Information Criterion	-280.2
Schwarz's Bayesian Criterion	-287.2
-2 Res Log Likelihood	540.4

Null Model Likelihood Ratio Test

DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
9	12.22	0.2011

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
raza	1	24	0.01	0.9213
trat	2	24	6.65	0.0050*
raza*trat	2	24	2.05	0.1511
tiempo	3	24	13.37	<.0001*
raza*tiempo	3	24	0.42	0.7375
trat*tiempo	6	24	2.41	0.0576*
raza*trat*tiempo	6	24	1.24	0.3232

Contrasts

Label	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Se y l vs Se+l	1	24	1.68	0.2075
l vs Se+l	1	24	7.99	0.0093*
lineal	1	24	0.34	0.5654
cuadratico	1	24	12.97	0.0014*

Least Squares Means

Effect	trat	tiempo	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t
trat	1		63.2966	0.4813	24	131.51	<.0001
trat	2		65.6175	0.4813	24	136.33	<.0001
trat	3		63.6933	0.4813	24	132.34	<.0001
tiempo		0	67.5057	0.6423	24	105.10	<.0001
tiempo		15	61.0813	0.5788	24	105.53	<.0001
tiempo		30	63.3506	0.6877	24	92.12	<.0001
tiempo		45	64.8724	0.7129	24	90.99	<.0001
trat*tiempo	1	0	66.8721	1.1125	24	60.11	<.0001
trat*tiempo	1	15	59.5192	1.0025	24	59.37	<.0001
trat*tiempo	1	30	61.7704	1.1911	24	51.86	<.0001
trat*tiempo	1	45	65.0246	1.2349	24	52.66	<.0001
trat*tiempo	2	0	67.9871	1.1125	24	61.11	<.0001
trat*tiempo	2	15	64.5083	1.0025	24	64.35	<.0001
trat*tiempo	2	30	66.1075	1.1911	24	55.50	<.0001
trat*tiempo	2	45	63.8671	1.2349	24	51.72	<.0001
trat*tiempo	3	0	67.6579	1.1125	24	60.82	<.0001
trat*tiempo	3	15	59.2163	1.0025	24	59.07	<.0001
trat*tiempo	3	30	62.1737	1.1911	24	52.20	<.0001
trat*tiempo	3	45	65.7254	1.2349	24	53.23	<.0001

Differences of Least Squares Means

Effect	Trat	Trat	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat	1	2	-2.3209	0.6807	24	0.0023*
trat	1	3	-0.3968	0.6807	24	0.5654
trat	2	3	1.9242	0.6807	24	0.0093*

Effect	Tiempo	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
tiempo	0	15	6.4244	1.0280	24	<.0001*
tiempo	0	30	4.1551	1.0937	24	0.0009*
tiempo	0	45	2.6333	0.9275	24	0.0091*
tiempo	15	30	-2.2693	0.9450	24	0.0244*
tiempo	15	45	-3.7911	0.9035	24	0.0003*
tiempo	30	45	-1.5218	0.9256	24	0.1132

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Stanadrd Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	1	0	1	15	7.3529	1.7806	24	0.0004*
trat*tiempo	1	0	1	30	5.1017	1.8943	24	0.0127*
trat*tiempo	1	0	1	45	1.8475	1.6065	24	0.2615
trat*tiempo	1	0	2	0	-1.1150	1.5733	24	0.4853
trat*tiempo	1	0	3	0	-0.7858	1.5733	24	0.6220
trat*tiempo	1	15	1	30	-2.2513	1.6368	24	0.1817
trat*tiempo	1	15	1	45	-5.5054	1.5648	24	0.0018*
trat*tiempo	1	15	2	15	-4.9892	1.4177	24	0.0018*
trat*tiempo	1	15	3	15	0.3029	1.4177	24	0.8326
trat*tiempo	1	30	1	45	-3.2542	1.6032	24	0.0536

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	1	30	2	30	-4.3371	1.6844	24	0.0166*
trat*tiempo	1	30	3	30	-0.4033	1.6844	24	0.8128
trat*tiempo	1	45	2	45	1.1575	1.7464	24	0.5138
trat*tiempo	1	45	3	45	-0.7008	1.7464	24	0.6917
trat*tiempo	2	0	2	15	3.4787	1.7806	24	0.0625
trat*tiempo	2	0	2	30	1.8796	1.8943	24	0.3310
trat*tiempo	2	0	2	45	4.1200	1.6065	24	0.0170*
trat*tiempo	2	0	3	0	0.3292	1.5733	24	0.8360
trat*tiempo	2	15	2	30	-1.5992	1.6368	24	0.3383
trat*tiempo	2	15	2	45	0.6412	1.5648	24	0.6856
trat*tiempo	2	15	3	15	5.2921	1.4177	24	0.0010*
trat*tiempo	2	30	2	45	2.2404	1.6032	24	0.1751
trat*tiempo	2	30	3	30	3.9338	1.6844	24	0.0282*
trat*tiempo	2	45	3	45	-1.8583	1.7464	24	0.2979
trat*tiempo	3	0	3	15	8.4417	1.7806	24	<.0001*
trat*tiempo	3	0	3	30	5.4842	1.8943	24	0.0080*
trat*tiempo	3	0	3	45	1.9325	1.6065	24	0.2407
trat*tiempo	3	15	3	30	-2.9575	1.6368	24	0.0833
trat*tiempo	3	15	3	45	-6.5092	1.5648	24	0.0004*
trat*tiempo	3	30	3	45	-3.5517	1.6032	24	0.0365*

Anexo 5. Resultados del Análisis de Regresión Simple para T3 en Función de la Concentración Plasmática de Selenio (tratamiento 1)

Simple Regression - T3 vs. SePlasma

Regression Analysis - Multiplicative model: $Y = a \cdot X^b$

Dependent variable: T3

Independent variable: SePlasma

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	-0.717123	0.188345	-3.8075	0.0005
Slope	0.169167	0.0424457	3.98548	0.0003

NOTE: intercept = $\ln(a)$

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	0.375534	1	0.375534	15.88	0.0003
Residual	0.898403	38	0.0236422		
Total (Corr.)	1.27394	39			

Correlation Coefficient = 0.542939

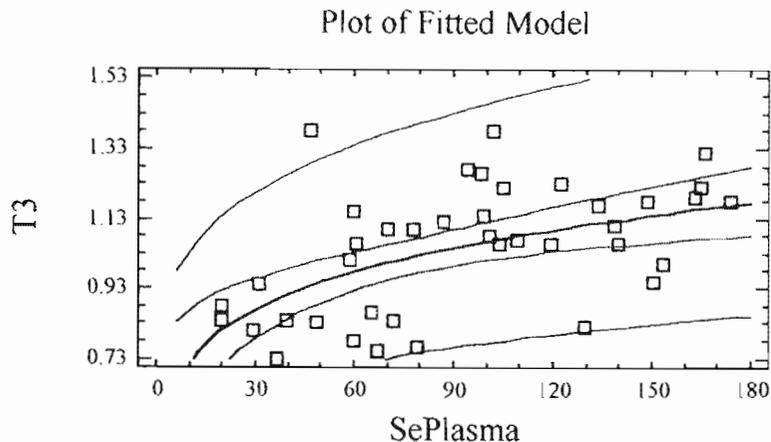
R-squared = 29.4782 percent

Standard Error of Est. = 0.15376

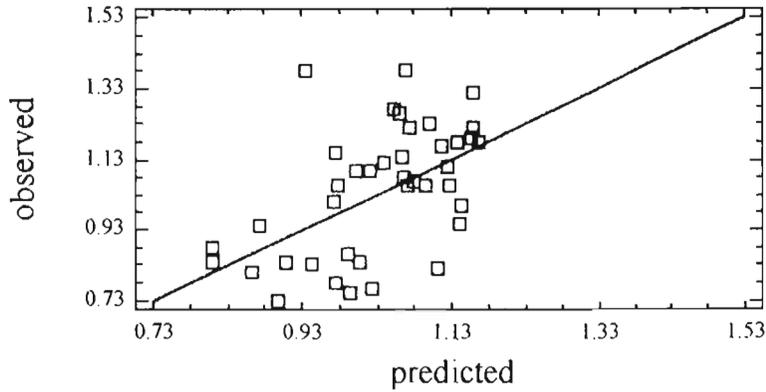
$$T3 = 0.488154 \cdot \text{SePlasma}^{0.169167}$$

or

$$\ln(T3) = -0.717123 + 0.169167 \cdot \ln(\text{SePlasma})$$



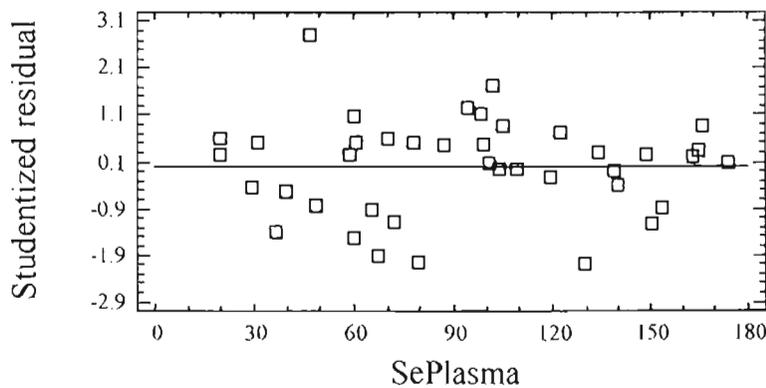
Plot of T3



Comparison of Alternative Models

Model	Correlation	R-Squared
Multiplicative	0.5429	29.48%
Reciprocal-Y	-0.5348	28.60%
Logarithmic-X	0.5296	28.05%
Square root-X	0.5271	27.78%
Exponential	0.5268	27.75%
Square root-Y	0.5203	27.08%
Linear	0.5123	26.24%
Double reciprocal	0.4973	24.73%
S-curve	-0.4954	24.54%
Reciprocal-X	-0.4866	23.68%
Logistic		<no fit>
Log probit		<no fit>

Residual Plot



Anexo 6. Resultados del Análisis de Regresión Simple para T3 en Función de la Concentración Plasmática de Selenio (tratamiento 2)

Simple Regression - T3 vs. SePlasma

Regression Analysis - Reciprocal-X model: $Y = a + b/X$

Dependent variable: T3

Independent variable: SePlasma

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	0.997711	0.0392371	25.4278	0.0000
Slope	-2.30279	2.24644	-1.02508	0.3120

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	0.0134995	1	0.0134995	1.05	0.3120
Residual	0.475336	37	0.0128469		
Total (Corr.)	0.488836	38			

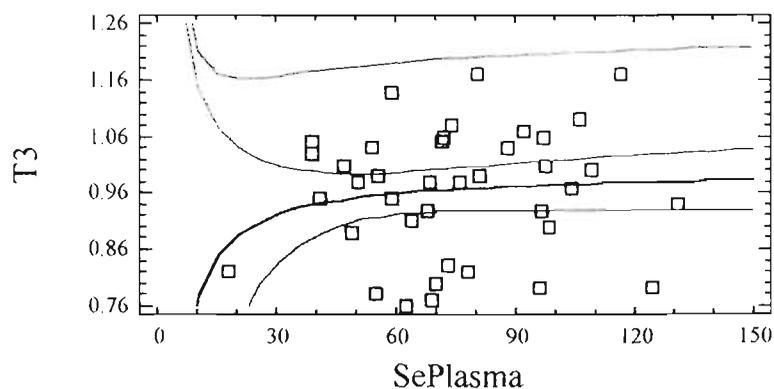
Correlation Coefficient = -0.16618

R-squared = 2.76156 percent

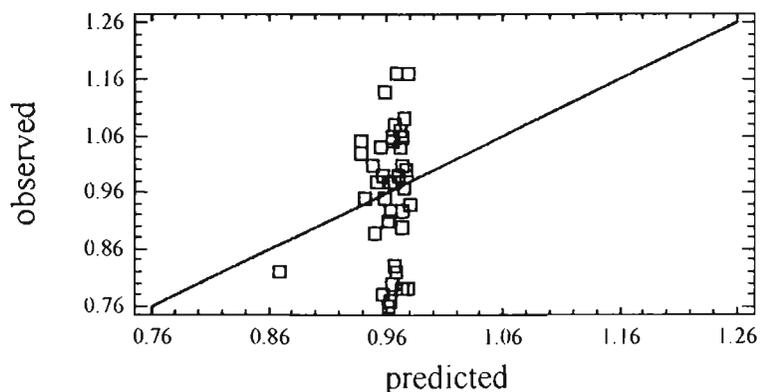
Standard Error of Est. = 0.113344

$$T3 = 0.997711 - 2.30279/SePlasma$$

Plot of Fitted Model



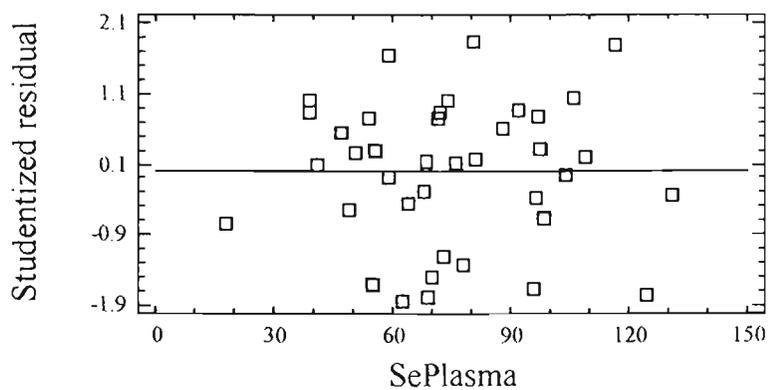
Plot of T3



Comparison of Alternative Models

Model	Correlation	R-Squared
Reciprocal-X	-0.1662	2.76%
S-curve	-0.1619	2.62%
Double reciprocal	0.1569	2.46%
Logarithmic-X	0.1368	1.87%
Multiplicative	0.1303	1.70%
Square root-X	0.1224	1.50%
Linear	0.1099	1.21%
Square root-Y	0.1065	1.13%
Exponential	0.1031	1.06%
Reciprocal-Y	-0.0965	0.93%
Logistic		<no fit>
Log probit		<no fit>

Residual Plot



Anexo 7. Resultados del Análisis de Regresión Simple para T3 en Función de la Concentración Plasmática de Selenio (tratamiento 3)

Simple Regression - T3 vs. SePlasma

Regression Analysis - Multiplicative model: $Y = a \cdot X^b$

Dependent variable: T3

Independent variable: SePlasma

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	-0.910244	0.177172	-5.13765	0.0000
Slope	0.220864	0.0404652	5.45812	0.0000

NOTE: intercept = $\ln(a)$

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	0.414563	1	0.414563	29.79	0.0000
Residual	0.528796	38	0.0139157		
Total (Corr.)	0.943359	39			

Correlation Coefficient = 0.662914

R-squared = 43.9454 percent

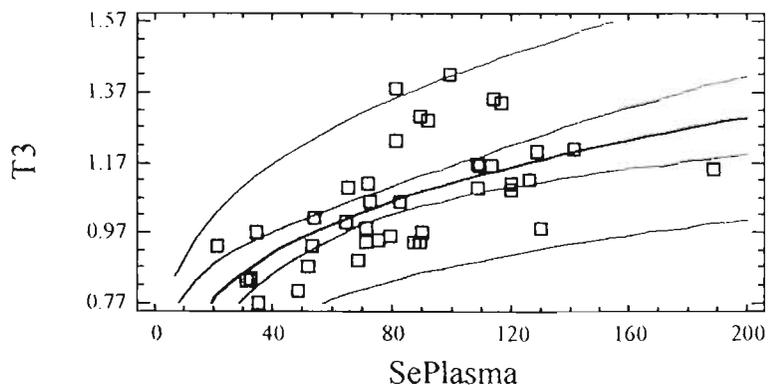
Standard Error of Est. = 0.117965

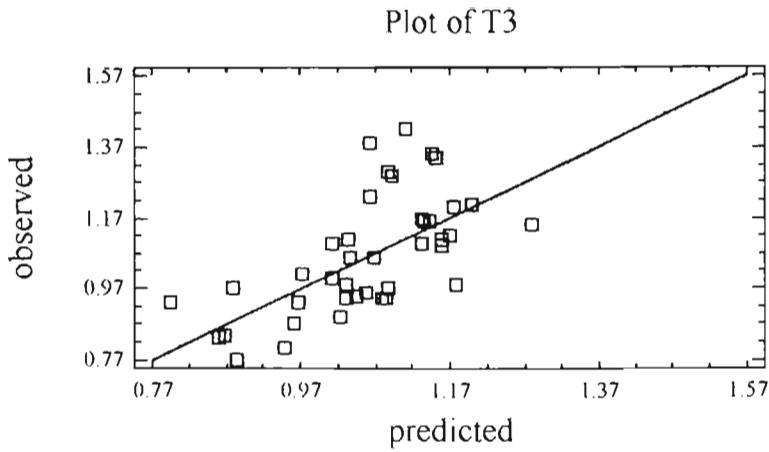
$$T3 = 0.402426 \cdot \text{SePlasma}^{0.220864}$$

or

$$\ln(T3) = -0.910244 + 0.220864 \cdot \ln(\text{SePlasma})$$

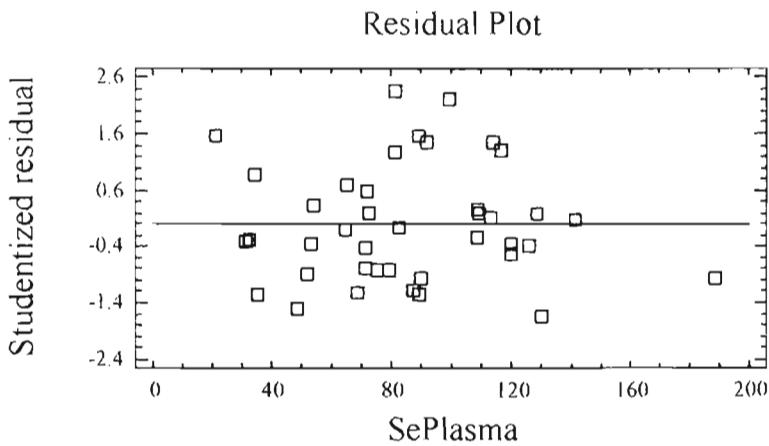
Plot of Fitted Model





Comparison of Alternative Models

Model	Correlation	R-Squared
Multiplicative	0.6629	43.95%
Reciprocal-Y	-0.6446	41.55%
Logarithmic-X	0.6353	40.35%
Double reciprocal	0.6321	39.96%
Square root-X	0.6276	39.39%
Exponential	0.6250	39.06%
Square root-Y	0.6128	37.55%
S-curve	-0.6113	37.37%
Linear	0.5991	35.89%
Reciprocal-X	-0.5854	34.27%
Logistic		<no fit>
Log probit		<no fit>



Anexo 8. Resultados del Análisis de Regresión Simple para T4 en Función de la Concentración Plasmática de Selenio (tratamiento 1)

Simple Regression - T4 vs. SePlasma

Regression Analysis - Reciprocal-Y model: $Y = 1/(a + b*X)$

Dependent variable: T4

Independent variable: SePlasma

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	0.0147156	0.00029338	50.1589	0.0000
Slope	0.000012127	0.00000283305	4.28055	0.0001

Analysis of Variance

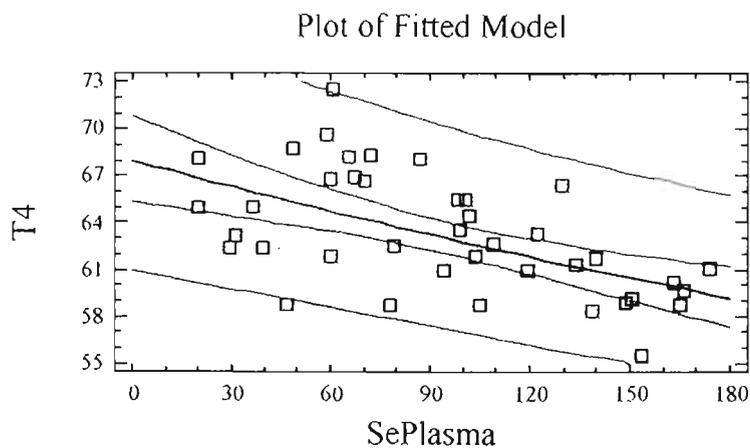
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	0.0000114143	1	0.0000114143	18.32	0.0001
Residual	0.0000236719	38	6.22945E-7		
Total (Corr.)	0.0000350862	39			

Correlation Coefficient = 0.570369

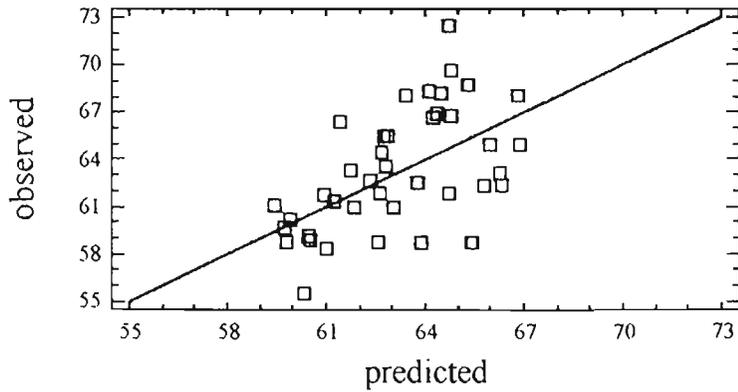
R-squared = 32.5321 percent

Standard Error of Est. = 0.000789269

$$T4 = 1/(0.0147156 + 0.000012127*SePlasma)$$



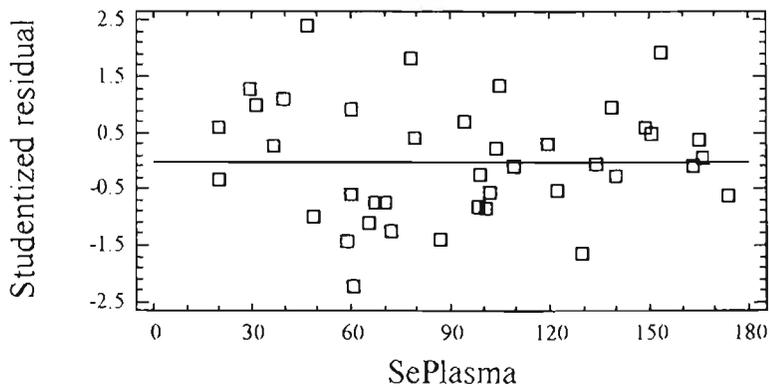
Plot of T4



Comparison of Alternative Models

Model	Correlation	R-Squared
Reciprocal-Y	0.5704	32.53%
Exponential	-0.5672	32.18%
Square root-Y	-0.5654	31.96%
Linear	-0.5633	31.73%
Square root-X	-0.5278	27.85%
Multiplicative	-0.4812	23.16%
Logarithmic-X	-0.4773	22.78%
Double reciprocal	-0.3622	13.12%
S-curve	0.3586	12.86%
Reciprocal-X	0.3543	12.56%
Logistic	<no fit>	
Log probit	<no fit>	

Residual Plot



Anexo 9. Resultados del Análisis de Regresión Simple para T4 en Función de la Concentración Plasmática de Selenio (tratamiento 2)

Simple Regression - T4 vs. SePlasma

Regression Analysis - Multiplicative model: $Y = a \cdot X^b$

Dependent variable: T4

Independent variable: SePlasma

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	3.96066	0.119167	33.2361	0.0000
Slope	0.051793	0.0278996	1.85641	0.0714

NOTE: intercept = $\ln(a)$

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	0.0153878	1	0.0153878	3.45	0.0714
Residual	0.165209	37	0.0044651		
Total (Corr.)	0.180596	38			

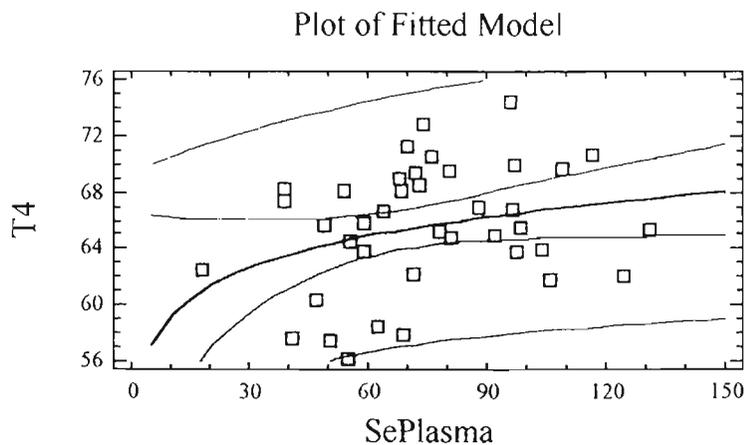
Correlation Coefficient = 0.2919

R-squared = 8.52057 percent

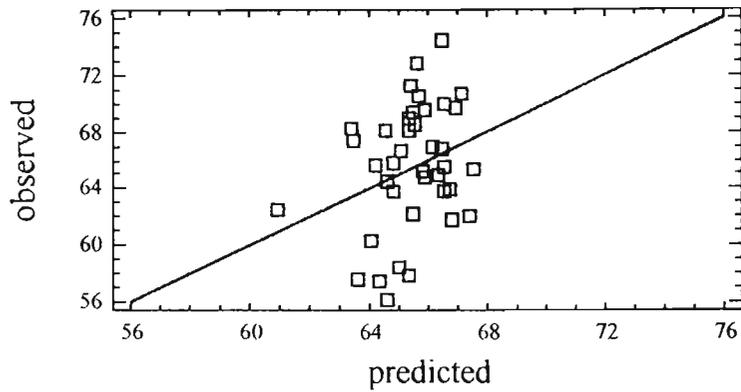
Standard Error of Est. = 0.0668214

$$T4 = 52.4917 \cdot \text{SePlasma}^{0.051793}$$

or



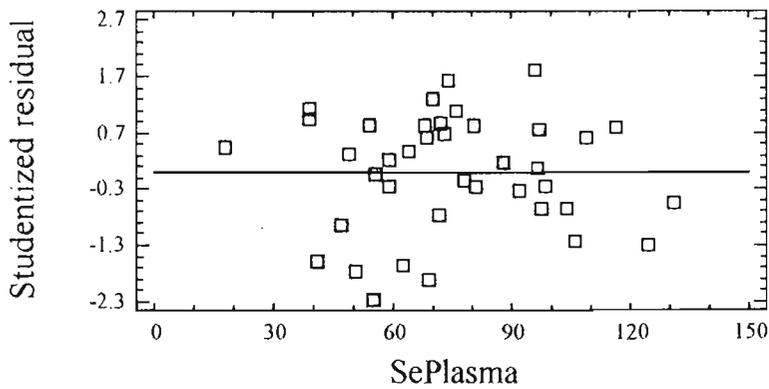
Plot of T4



Comparison of Alternative Models

Model	Correlation	R-Squared
Multiplicative	0.2919	8.52%
Logarithmic-X	0.2900	8.41%
Square root-X	0.2844	8.09%
Reciprocal-Y	-0.2766	7.65%
Exponential	0.2727	7.44%
Square root-Y	0.2707	7.33%
Linear	0.2687	7.22%
Reciprocal-X	-0.2587	6.69%
S-curve	-0.2578	6.64%
Double reciprocal	0.2564	6.57%
Logistic		<no fit>
Log probit		<no fit>

Residual Plot



Anexo 10. Resultados del Análisis de Regresión Simple para T4 en Función de la Concentración Plasmática de Selenio (tratamiento 3)

Simple Regression - T4 vs. SePlasma

Regression Analysis - Square root-X model: $Y = a + b*\sqrt{X}$

Dependent variable: T4

Independent variable: SePlasma

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	76.11	2.88618	26.3705	0.0000
Slope	-1.3896	0.312155	-4.45162	0.0001

Analysis of Variance

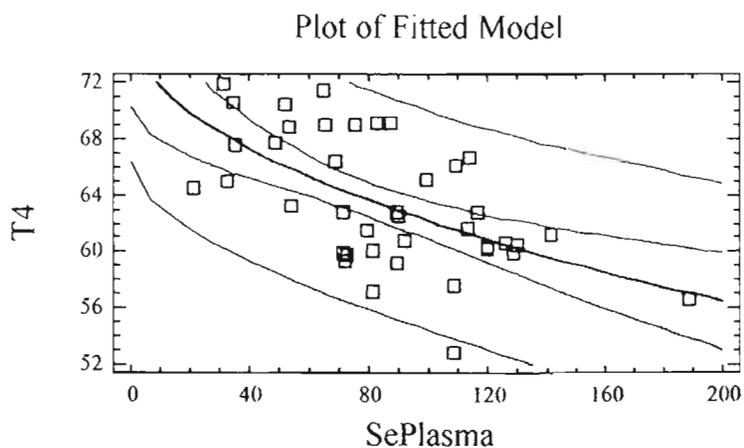
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	286.336	1	286.336	19.82	0.0001
Residual	549.064	38	14.449		
Total (Corr.)	835.4	39			

Correlation Coefficient = -0.585451

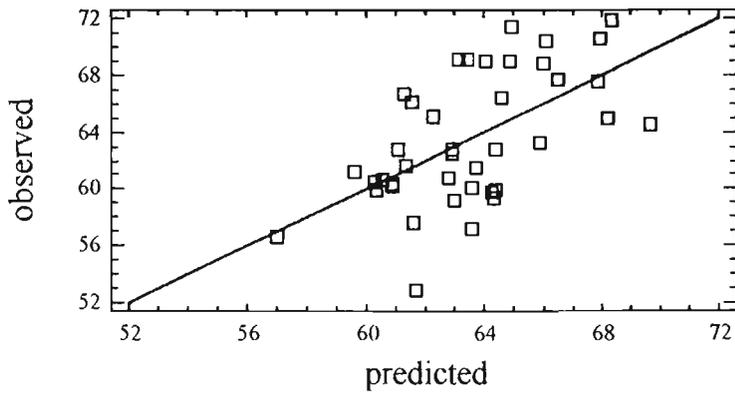
R-squared = 34.2753 percent

Standard Error of Est. = 3.80119

$$T4 = 76.11 - 1.3896*\sqrt{\text{SePlasma}}$$



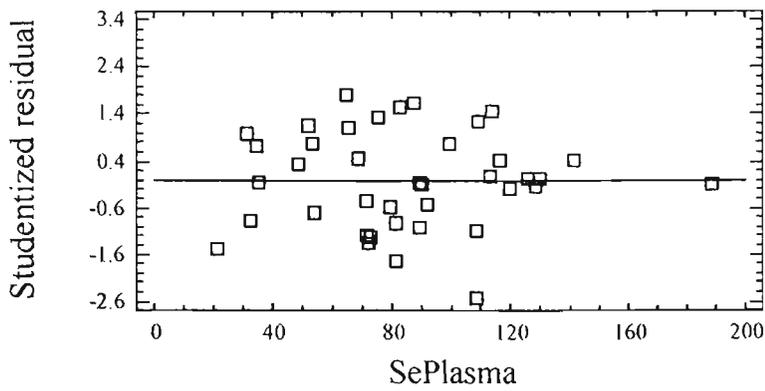
Plot of T4



Comparison of Alternative Models

Model	Correlation	R-Squared
Square root-X	-0.5855	34.28%
Linear	-0.5843	34.14%
Square root-Y	-0.5834	34.03%
Exponential	-0.5821	33.88%
Reciprocal-Y	0.5785	33.47%
Logarithmic-X	-0.5691	32.39%
Multiplicative	-0.5659	32.02%
Reciprocal-X	0.4868	23.70%
S-curve	0.4841	23.44%
Double reciprocal	-0.4803	23.07%
Logistic	<no fit>	
Log probit	<no fit>	

Residual Plot



Anexo 11. Resultados del Análisis Estadístico para los Perfiles Plasmáticos de Selenio en Etapa 2.

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.PLASMA2E
Dependent Variable	Se
Covariance Structure	Compound Symmetry
Subject Effect	vaca(trat)
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	Profile
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Between-Within

Class Level Information

Class	Levels	Values
vaca	36	112HO 121HO 122HO 128HO 136HO 139HO 140HO 143HO 144HO 148HO 150HO 155HO 156HO 5HO 8HO 90HO J2829 J2832 J2845 J2855 J2857 J2868 J2878 J2887 J2889 J2890 J2892 J2935 J2938 J2940 MEX5716 T116 T57HO T64 T73HO T74HO.
raza	2	HOLSTEIN JERSEY
trat	3	1 2 3
tiempo	8	-15 0 15 30 45 60 75 90

Dimensions

Covariance Parameters	2
Columns in X	108
Columns in Z	0
Subjects	36
Max Obs Per Subject	8
Observations Used	288
Observations Not Used	0
Total Observations	288

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	2099.56831728	
1	1	2093.04287344	0.00000000

Convergence criteria met.

Estimated R Matrix for vaca(trat) 128HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4	Col5	Col6	Col7	Col8
1	260.47	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956
2	26.7956	260.47	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956
3	26.7956	26.7956	260.47	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956
4	26.7956	26.7956	26.7956	260.47	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956
5	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	260.47	26.7956	26.7956	26.7956
6	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	260.47	26.7956	26.7956
7	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	260.47	26.7956
8	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	26.7956	260.47

Estimated R Correlation Matrix for vaca(trat) 128HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4	Col5	Col6	Col7	Col8
1	1.0000	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029
2	0.1029	1.0000	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029
3	0.1029	0.1029	1.0000	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029
4	0.1029	0.1029	0.1029	1.0000	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029
5	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	1.0000	0.1029	0.1029	0.1029
6	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	1.0000	0.1029	0.1029
7	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	1.0000	0.1029
8	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	0.1029	1.0000

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Subject	Estimate
CS	vaca(trat)	26.7956
Residual		233.68

Fit Statistics

Res Log Likelihood	-1046.5
Akaike's Information Criterion	-1048.5
Schwarz's Bayesian Criterion	-1050.1
-2 Res Log Likelihood	2093.0

Null Model Likelihood Ratio Test

DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
1	6.53	0.0106

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
raza	1	30	0.50	0.4848
trat	2	30	58.99	<.0001*
raza*trat	2	30	0.53	0.5932
tiempo	7	210	73.10	<.0001*
raza*tiempo	7	210	1.11	0.3594
trat*tiempo	14	210	15.73	<.0001*
raza*trat*tiempo	14	210	0.59	0.8743

Contrasts

Label	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Se y l vs Se+l	1	30	28.62	<.0001
l vs Se+l	1	30	83.20	<.0001
lineal	1	30	0.11	0.7466
cuadratico	1	30	117.62	<.0001

Least Squares Means

Effect	trat	tiempo	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t
trat	1		76.7917	2.1603	30	35.55	<.0001
trat	2		47.5839	2.1910	30	21.72	<.0001
trat	3		77.8681	2.4946	30	31.22	<.0001
tiempo		-15	50.2267	2.8475	210	17.64	<.0001
tiempo		0	45.6947	2.8475	210	16.05	<.0001
tiempo		15	58.1085	2.8475	210	20.41	<.0001
tiempo		30	88.1661	2.8475	210	30.96	<.0001
tiempo		45	108.29	2.8475	210	38.03	<.0001
tiempo		60	82.9884	2.8475	210	29.14	<.0001
tiempo		75	60.1468	2.8475	210	21.12	<.0001
tiempo		90	45.6947	2.8475	210	16.05	<.0001
trat*tiempo	1	-15	54.2500	4.6590	210	11.64	<.0001
trat*tiempo	1	0	49.0000	4.6590	210	10.52	<.0001
trat*tiempo	1	15	61.1667	4.6590	210	13.13	<.0001
trat*tiempo	1	30	111.67	4.6590	210	23.97	<.0001
trat*tiempo	1	45	134.33	4.6590	210	28.83	<.0001
trat*tiempo	1	60	94.0000	4.6590	210	20.18	<.0001
trat*tiempo	1	75	60.9167	4.6590	210	13.08	<.0001
trat*tiempo	1	90	49.0000	4.6590	210	10.52	<.0001
trat*tiempo	2	-15	41.9857	4.7251	210	8.89	<.0001
trat*tiempo	2	0	41.5286	4.7251	210	8.79	<.0001
trat*tiempo	2	15	50.7143	4.7251	210	10.73	<.0001
trat*tiempo	2	30	55.9429	4.7251	210	11.84	<.0001
trat*tiempo	2	45	45.8714	4.7251	210	9.71	<.0001
trat*tiempo	2	60	53.2429	4.7251	210	11.27	<.0001
trat*tiempo	2	75	49.8571	4.7251	210	10.55	<.0001
trat*tiempo	2	90	41.5286	4.7251	210	8.79	<.0001
trat*tiempo	3	-15	54.4444	5.3797	210	10.12	<.0001
trat*tiempo	3	0	46.5556	5.3797	210	8.65	<.0001
trat*tiempo	3	15	62.4444	5.3797	210	11.61	<.0001
trat*tiempo	3	30	96.8889	5.3797	210	18.01	<.0001
trat*tiempo	3	45	144.67	5.3797	210	26.89	<.0001
trat*tiempo	3	60	101.72	5.3797	210	18.91	<.0001
trat*tiempo	3	75	69.6667	5.3797	210	12.95	<.0001
trat*tiempo	3	90	46.5556	5.3797	210	8.65	<.0001

Differences of Least Squares Means

Effect	Trat	Trat	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat	1	2	29.2077	3.0769	30	<.0001*
trat	1	3	-1.0764	3.3000	30	0.7466
trat	2	3	-30.2841	3.3201	30	<.0001*

Effect	Tiempo	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
tiempo	-15	0	4.5320	3.8142	210	0.2361
tiempo	-15	15	-7.8817	3.8142	210	0.0400*
tiempo	-15	30	-37.9394	3.8142	210	<.0001*
tiempo	-15	45	-58.0638	3.8142	210	<.0001*
tiempo	-15	60	-32.7616	3.8142	210	<.0001*

Effect	Tiempo	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
tiempo	-15	75	-9.9201	3.8142	210	0.0100*
tiempo	-15	90	4.5320	3.8142	210	0.2361
tiempo	0	15	-12.4138	3.8142	210	0.0013*
tiempo	0	30	-42.4714	3.8142	210	<.0001*
tiempo	0	45	-62.5958	3.8142	210	<.0001*
tiempo	0	60	-37.2937	3.8142	210	<.0001*
tiempo	0	75	-14.4521	3.8142	210	0.0002*
tiempo	0	90	2.26E-13	3.8142	210	1.0000
tiempo	15	30	-30.0577	3.8142	210	<.0001*
tiempo	15	45	-50.1820	3.8142	210	<.0001*
tiempo	15	60	-24.8799	3.8142	210	<.0001*
tiempo	15	75	-2.0384	3.8142	210	0.5936
tiempo	15	90	12.4138	3.8142	210	0.0013*
tiempo	30	45	-20.1243	3.8142	210	<.0001*
tiempo	30	60	5.1778	3.8142	210	0.1761
tiempo	30	75	28.0193	3.8142	210	<.0001*
tiempo	30	90	42.4714	3.8142	210	<.0001*
tiempo	45	60	25.3021	3.8142	210	<.0001*
tiempo	45	75	48.1437	3.8142	210	<.0001*
tiempo	45	90	62.5958	3.8142	210	<.0001*
tiempo	60	75	22.8415	3.8142	210	<.0001*
tiempo	60	90	37.2937	3.8142	210	<.0001*
tiempo	75	90	14.4521	3.8142	210	0.0002*

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	1	-15	1	0	5.2500	6.2407	210	0.4012
trat*tiempo	1	-15	1	15	-6.9167	6.2407	210	0.2690
trat*tiempo	1	-15	1	30	-57.4167	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	-15	1	45	-80.0833	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	-15	1	60	-39.7500	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	-15	1	75	-6.6667	6.2407	210	0.2866
trat*tiempo	1	-15	1	90	5.2500	6.2407	210	0.4012
trat*tiempo	1	-15	2	-15	12.2643	6.6357	210	0.0660
trat*tiempo	1	-15	3	-15	-0.1944	7.1167	210	0.9782
trat*tiempo	1	0	1	15	-12.1667	6.2407	210	0.0526
trat*tiempo	1	0	1	30	-62.6667	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	0	1	45	-85.3333	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	0	1	60	-45.0000	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	0	1	75	-11.9167	6.2407	210	0.0576
trat*tiempo	1	0	1	90	1.22E-15	6.2407	210	1.0000
trat*tiempo	1	0	2	0	7.4714	6.6357	210	0.2615
trat*tiempo	1	0	3	0	2.4444	7.1167	210	0.7316
trat*tiempo	1	15	1	30	-50.5000	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	15	1	45	-73.1667	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	15	1	60	-32.8333	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	15	1	75	0.2500	6.2407	210	0.9681
trat*tiempo	1	15	1	90	12.1667	6.2407	210	0.0526
trat*tiempo	1	15	2	15	10.4524	6.6357	210	0.1167
trat*tiempo	1	15	3	15	-1.2778	7.1167	210	0.8577

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	1	30	1	45	-22.6667	6.2407	210	0.0004*
trat*tiempo	1	30	1	60	17.6667	6.2407	210	0.0051*
trat*tiempo	1	30	1	75	50.7500	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	30	1	90	62.6667	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	30	2	30	55.7238	6.6357	210	<.0001*
trat*tiempo	1	30	3	30	14.7778	7.1167	210	0.0391*
trat*tiempo	1	45	1	60	40.3333	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	45	1	75	73.4167	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	45	1	90	85.3333	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	45	2	45	88.4619	6.6357	210	<.0001*
trat*tiempo	1	45	3	45	-10.3333	7.1167	210	0.1480
trat*tiempo	1	60	1	75	33.0833	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	60	1	90	45.0000	6.2407	210	<.0001*
trat*tiempo	1	60	2	60	40.7571	6.6357	210	<.0001*
trat*tiempo	1	60	3	60	-7.7222	7.1167	210	0.2791
trat*tiempo	1	75	1	90	11.9167	6.2407	210	0.0576
trat*tiempo	1	75	2	75	11.0595	6.6357	210	0.0971
trat*tiempo	1	75	3	75	-8.7500	7.1167	210	0.2203
trat*tiempo	1	90	2	90	7.4714	6.6357	210	0.2615
trat*tiempo	1	90	3	90	2.4444	7.1167	210	0.7316
trat*tiempo	2	-15	2	0	0.4571	6.3292	210	0.9425
trat*tiempo	2	-15	2	15	-8.7286	6.3292	210	0.1693
trat*tiempo	2	-15	2	30	-13.9571	6.3292	210	0.0285
trat*tiempo	2	-15	2	45	-3.8857	6.3292	210	0.5399
trat*tiempo	2	-15	2	60	-11.2571	6.3292	210	0.0768
trat*tiempo	2	-15	2	75	-7.8714	6.3292	210	0.2150
trat*tiempo	2	-15	2	90	0.4571	6.3292	210	0.9425
trat*tiempo	2	-15	3	-15	-12.4587	7.1602	210	0.0833
trat*tiempo	2	0	2	15	-9.1857	6.3292	210	0.1482
trat*tiempo	2	0	2	30	-14.4143	6.3292	210	0.0238*
trat*tiempo	2	0	2	45	-4.3429	6.3292	210	0.4934
trat*tiempo	2	0	2	60	-11.7143	6.3292	210	0.0656
trat*tiempo	2	0	2	75	-8.3286	6.3292	210	0.1896
trat*tiempo	2	0	2	90	-598E-16	6.3292	210	1.0000
trat*tiempo	2	0	3	0	-5.0270	7.1602	210	0.4834
trat*tiempo	2	15	2	30	-5.2286	6.3292	210	0.4097
trat*tiempo	2	15	2	45	4.8429	6.3292	210	0.4450
trat*tiempo	2	15	2	60	-2.5286	6.3292	210	0.6899
trat*tiempo	2	15	2	75	0.8571	6.3292	210	0.8924
trat*tiempo	2	15	2	90	9.1857	6.3292	210	0.1482
trat*tiempo	2	15	3	15	-11.7302	7.1602	210	0.1029
trat*tiempo	2	30	2	45	10.0714	6.3292	210	0.1131
trat*tiempo	2	30	2	60	2.7000	6.3292	210	0.6701
trat*tiempo	2	30	2	75	6.0857	6.3292	210	0.3374
trat*tiempo	2	30	2	90	14.4143	6.3292	210	0.0238*
trat*tiempo	2	30	3	30	-40.9460	7.1602	210	<.0001*
trat*tiempo	2	45	2	60	-7.3714	6.3292	210	0.2455
trat*tiempo	2	45	2	75	-3.9857	6.3292	210	0.5296
trat*tiempo	2	45	2	90	4.3429	6.3292	210	0.4934

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	2	45	3	45	-98.7952	7.1602	210	<.0001*
trat*tiempo	2	60	2	75	3.3857	6.3292	210	0.5933
trat*tiempo	2	60	2	90	11.7143	6.3292	210	0.0656
trat*tiempo	2	60	3	60	-48.4794	7.1602	210	<.0001*
trat*tiempo	2	75	2	90	8.3286	6.3292	210	0.1896
trat*tiempo	2	75	3	75	-19.8095	7.1602	210	0.0062*
trat*tiempo	2	90	3	90	-5.0270	7.1602	210	0.4834
trat*tiempo	3	-15	3	0	7.8889	7.2061	210	0.2749
trat*tiempo	3	-15	3	15	-8.0000	7.2061	210	0.2682
trat*tiempo	3	-15	3	30	-42.4444	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	-15	3	45	-90.2222	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	-15	3	60	-47.2778	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	-15	3	75	-15.2222	7.2061	210	0.0358*
trat*tiempo	3	-15	3	90	7.8889	7.2061	210	0.2749
trat*tiempo	3	0	3	15	-15.8889	7.2061	210	0.0285*
trat*tiempo	3	0	3	30	-50.3333	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	0	3	45	-98.1111	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	0	3	60	-55.1667	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	0	3	75	-23.1111	7.2061	210	0.0016*
trat*tiempo	3	0	3	90	7.36E-13	7.2061	210	1.0000
trat*tiempo	3	15	3	30	-34.4444	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	15	3	45	-82.2222	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	15	3	60	-39.2778	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	15	3	75	-7.2222	7.2061	210	0.3174
trat*tiempo	3	15	3	90	15.8889	7.2061	210	0.0285*
trat*tiempo	3	30	3	45	-47.7778	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	30	3	60	-4.8333	7.2061	210	0.5031
trat*tiempo	3	30	3	75	27.2222	7.2061	210	0.0002*
trat*tiempo	3	30	3	90	50.3333	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	45	3	60	42.9444	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	45	3	75	75.0000	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	45	3	90	98.1111	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	60	3	75	32.0556	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	60	3	90	55.1667	7.2061	210	<.0001*
trat*tiempo	3	75	3	90	23.1111	7.2061	210	0.0016*

Anexo 12. Resultados del Análisis Estadístico para la Concentración de Selenio en Leche Etapa 2.

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.LECHE2
Dependent Variable	Se
Covariance Structure	Unstructured
Subject Effect	vaca(trat)
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	None
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Between-Within

Class Level Information

Class	Levels	Values
vaca	24	112HO 122HO 128HO 139HO 141HO 144HO 148HO 150HO 155HO 90HO J2832 J2845 J2855 J2857 J2878 J2887 J2935 J2938 J2939 J2940 T37HO T57HO T64HO T74HO.
raza	2	Holstein Jersey
trat	3	1 2 3
tiempo	8	-15 0 15 30 45 60 75 90

Dimensions

Covariance Parameters	36
Columns in X	108
Columns in Z	0
Subjects	24
Max Obs Per Subject	8
Observations Used	192
Observations Not Used	0
Total Observations	192

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	252.99621261	
1	1	220.03345189	0.00000000

Convergence criteria met.

Estimated R Matrix for vaca(trat) 128HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4	Col5	Col6	Col7	Col8
1	0.1796	-0.02228	0.02367	-0.00203	-0.02228	-0.00296	-0.1122	-0.05362
2	-0.02228	0.1801	0.02323	-0.03420	-0.00930	-0.05985	0.01651	-0.01358
3	0.02367	0.02323	0.1509	0.04454	-0.03954	0.01919	-0.02204	-0.00975
4	-0.00203	-0.03420	0.04454	0.1435	0.03604	-0.00556	0.000891	-0.04169
5	-0.02228	-0.00930	-0.03954	0.03604	0.3481	0.05784	0.07887	0.02029
6	-0.00296	-0.05985	0.01919	-0.00556	0.05784	0.2445	-0.04274	-0.04318
7	-0.1122	0.01651	-0.02204	0.000891	0.07887	-0.04274	0.2008	0.04329
8	-0.05362	-0.01358	-0.00975	-0.04169	0.02029	-0.04318	0.04329	0.2746

Estimated R Correlation Matrix for vaca(trat) 128HO 1

Row	Col1	Col2	Col3	Col4	Col5	Col6	Col7	Col8
1	1.0000	-0.1239	0.1437	-0.01266	-0.08912	-0.01411	-0.5908	-0.2415
2	-0.1239	1.0000	0.1409	-0.2127	-0.03716	-0.2852	0.08681	-0.06108
3	0.1437	0.1409	1.0000	0.3026	-0.1725	0.09988	-0.1266	-0.04791
4	-0.01266	-0.2127	0.3026	1.0000	0.1612	-0.02966	0.005249	-0.2100
5	-0.08912	-0.03716	-0.1725	0.1612	1.0000	0.1983	0.2984	0.06562
6	-0.01411	-0.2852	0.09988	-0.02966	0.1983	1.0000	-0.1929	-0.1666
7	-0.5908	0.08681	-0.1266	0.005249	0.2984	-0.1929	1.0000	0.1844
8	-0.2415	-0.06108	-0.04791	-0.2100	0.06562	-0.1666	0.1844	1.0000

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Subject	Estimate	Cov Parm	Subject	Estimate
UN(1,1)	vaca(trat)	0.1796	UN(6,4)	vaca(trat)	-0.00556
UN(2,1)	vaca(trat)	-0.02228	UN(6,5)	vaca(trat)	0.05784
UN(2,2)	vaca(trat)	0.1801	UN(6,6)	vaca(trat)	0.2445
UN(3,1)	vaca(trat)	0.02367	UN(7,1)	vaca(trat)	-0.1122
UN(3,2)	vaca(trat)	0.02323	UN(7,2)	vaca(trat)	0.01651
UN(3,3)	vaca(trat)	0.1509	UN(7,3)	vaca(trat)	-0.02204
UN(4,1)	vaca(trat)	-0.00203	UN(7,4)	vaca(trat)	0.000891
UN(4,2)	vaca(trat)	-0.03420	UN(7,5)	vaca(trat)	0.07887
UN(4,3)	vaca(trat)	0.04454	UN(7,6)	vaca(trat)	-0.04274
UN(4,4)	vaca(trat)	0.1435	UN(7,7)	vaca(trat)	0.2008
UN(5,1)	vaca(trat)	-0.02228	UN(8,1)	vaca(trat)	-0.05362
UN(5,2)	vaca(trat)	-0.00930	UN(8,2)	vaca(trat)	-0.01358
UN(5,3)	vaca(trat)	-0.03954	UN(8,3)	vaca(trat)	-0.00975
UN(5,4)	vaca(trat)	0.03604	UN(8,4)	vaca(trat)	-0.04169
UN(5,5)	vaca(trat)	0.3481	UN(8,5)	vaca(trat)	0.02029
UN(6,1)	vaca(trat)	-0.00296	UN(8,6)	vaca(trat)	-0.04318
UN(6,2)	vaca(trat)	-0.05985	UN(8,7)	vaca(trat)	0.04329
UN(6,3)	vaca(trat)	0.01919	UN(8,8)	vaca(trat)	0.2746

Fit Statistics

Res Log Likelihood	-110.0
Akaike's Information Criterion	-146.0
Schwarz's Bayesian Criterion	-167.2
-2 Res Log Likelihood	220.0

Null Model Likelihood Ratio Test

DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
35	32.96	0.5668

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
raza	1	18	0.49	0.4951
trat	2	18	300.93	<.0001*
raza*trat	2	18	0.16	0.8557
tiempo	7	18	53.11	<.0001*
raza*tiempo	7	18	0.55	0.7853
trat*tiempo	14	18	22.03	<.0001*
raza*trat*tiempo	14	18	1.50	0.2059

Contrasts

Label	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Se y l vs Se+l	1	18	168.92	<.0001*
l vs Se+l	1	18	461.73	<.0001*
lineal	1	18	2.99	0.1008
cuadratico	1	18	600.76	<.0001*

Least Squares Means

Effect	trat	tiempo	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t
trat	1		7.7047	0.05357	18	143.84	<.0001
trat	2		6.2365	0.04920	18	126.75	<.0001
trat	3		7.8386	0.05602	18	139.92	<.0001
tiempo		-15	6.8785	0.08840	18	77.81	<.0001
tiempo		0	6.5724	0.08853	18	74.24	<.0001
tiempo		15	6.8026	0.08105	18	83.93	<.0001
tiempo		30	7.7855	0.07904	18	98.50	<.0001
tiempo		45	8.9064	0.1231	18	72.36	<.0001
tiempo		60	7.7699	0.1031	18	75.33	<.0001
tiempo		75	6.9972	0.09347	18	74.86	<.0001
tiempo		90	6.3669	0.1093	18	58.24	<.0001
trat*tiempo	1	-15	7.0323	0.1547	18	45.45	<.0001
trat*tiempo	1	0	6.6587	0.1550	18	42.97	<.0001
trat*tiempo	1	15	6.9623	0.1419	18	49.08	<.0001
trat*tiempo	1	30	8.4457	0.1383	18	61.05	<.0001
trat*tiempo	1	45	10.0853	0.2154	18	46.81	<.0001
trat*tiempo	1	60	8.4703	0.1805	18	46.91	<.0001
trat*tiempo	1	75	7.4883	0.1636	18	45.77	<.0001
trat*tiempo	1	90	6.4943	0.1914	18	33.94	<.0001
trat*tiempo	2	-15	6.5903	0.1421	18	46.37	<.0001
trat*tiempo	2	0	6.5102	0.1423	18	45.74	<.0001
trat*tiempo	2	15	6.1985	0.1303	18	47.57	<.0001
trat*tiempo	2	30	5.8130	0.1271	18	45.74	<.0001
trat*tiempo	2	45	6.0955	0.1979	18	30.80	<.0001
trat*tiempo	2	60	6.4315	0.1658	18	38.78	<.0001
trat*tiempo	2	75	6.1295	0.1503	18	40.78	<.0001
trat*tiempo	2	90	6.1235	0.1758	18	34.84	<.0001
trat*tiempo	3	-15	7.0129	0.1618	18	43.34	<.0001
trat*tiempo	3	0	6.5483	0.1621	18	40.41	<.0001
trat*tiempo	3	15	7.2471	0.1484	18	48.85	<.0001
trat*tiempo	3	30	9.0979	0.1447	18	62.88	<.0001
trat*tiempo	3	45	10.5383	0.2253	18	46.77	<.0001
trat*tiempo	3	60	8.4079	0.1888	18	44.53	<.0001
trat*tiempo	3	75	7.3738	0.1711	18	43.09	<.0001
trat*tiempo	3	90	6.4829	0.2001	18	32.39	<.0001

Differences of Least Squares Means

Effect	trat	trat	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat	1	2	1.4682	0.07273	18	<.0001*
trat	1	3	-0.1340	0.07751	18	0.1010
trat	2	3	-1.6021	0.07456	18	<.0001*

Effect	tiempo	tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
tiempo	-15	0	0.3061	0.1326	18	0.0331*
tiempo	-15	15	0.07586	0.1110	18	0.5031
tiempo	-15	30	-0.9070	0.1193	18	<.0001*
tiempo	-15	45	-2.0279	0.1578	18	<.0001*
tiempo	-15	60	-0.8914	0.1368	18	<.0001*
tiempo	-15	75	-0.1187	0.1622	18	0.4738
tiempo	-15	90	0.5116	0.1563	18	0.0042*
tiempo	0	15	-0.2302	0.1113	18	0.0532
tiempo	0	30	-1.2131	0.1306	18	<.0001*
tiempo	0	45	-2.3340	0.1543	18	<.0001*
tiempo	0	60	-1.1975	0.1539	18	<.0001*
tiempo	0	75	-0.4248	0.1230	18	0.0028*
tiempo	0	90	0.2055	0.1448	18	0.1730
tiempo	15	30	-0.9829	0.09455	18	<.0001*
tiempo	15	45	-2.1038	0.1586	18	<.0001*
tiempo	15	60	-0.9673	0.1247	18	<.0001*
tiempo	15	75	-0.1946	0.1312	18	0.1555
tiempo	15	90	0.4357	0.1392	18	0.0058*
tiempo	30	45	-1.1209	0.1351	18	<.0001*
tiempo	30	60	0.01561	0.1318	18	0.9070
tiempo	30	75	0.7883	0.1221	18	<.0001*
tiempo	30	90	1.4186	0.1477	18	<.0001*
tiempo	45	60	1.1365	0.1441	18	<.0001*
tiempo	45	75	1.9092	0.1305	18	<.0001*
tiempo	45	90	2.5395	0.1592	18	<.0001*
tiempo	60	75	0.7727	0.1520	18	<.0001*
tiempo	60	90	1.4030	0.1623	18	<.0001*
tiempo	75	90	0.6303	0.1301	18	0.0001*

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	1	-15	1	0	0.3737	0.2322	18	0.1249
trat*tiempo	1	-15	1	15	0.07000	0.1943	18	0.7229
trat*tiempo	1	-15	1	30	-1.4133	0.2089	18	<.0001*
trat*tiempo	1	-15	1	45	-3.0530	0.2762	18	<.0001*
trat*tiempo	1	-15	1	60	-1.4380	0.2394	18	<.0001*
trat*tiempo	1	-15	1	75	-0.4560	0.2839	18	0.1257
trat*tiempo	1	-15	1	90	0.5380	0.2736	18	0.0649
trat*tiempo	1	-15	2	-15	0.4421	0.2101	18	0.0497*
trat*tiempo	1	-15	3	-15	0.01942	0.2239	18	0.9318
trat*tiempo	1	0	1	15	-0.3037	0.1948	18	0.1364
trat*tiempo	1	0	1	30	-1.7870	0.2286	18	<.0001*
trat*tiempo	1	0	1	45	-3.4267	0.2700	18	<.0001*
trat*tiempo	1	0	1	60	-1.8117	0.2694	18	<.0001*
trat*tiempo	1	0	1	75	-0.8297	0.2154	18	0.0012*
trat*tiempo	1	0	1	90	0.1643	0.2535	18	0.5250
trat*tiempo	1	0	2	0	0.1484	0.2104	18	0.4896
trat*tiempo	1	0	3	0	0.1103	0.2242	18	0.6286
trat*tiempo	1	15	1	30	-1.4833	0.1655	18	<.0001*
trat*tiempo	1	15	1	45	-3.1230	0.2776	18	<.0001*

Effect	Trat	Tiempo	Trat	Tiempo	Estimate	Standard Error	DF	Pr > t
trat*tiempo	1	15	1	60	-1.5080	0.2182	18	<.0001*
trat*tiempo	1	15	1	75	-0.5260	0.2297	18	0.0343*
trat*tiempo	1	15	1	90	0.4680	0.2436	18	0.0707
trat*tiempo	1	15	2	15	0.7638	0.1926	18	0.0009*
trat*tiempo	1	15	3	15	-0.2847	0.2053	18	0.1823
trat*tiempo	1	30	1	45	-1.6397	0.2365	18	<.0001*
trat*tiempo	1	30	1	60	-0.02467	0.2307	18	0.9160
trat*tiempo	1	30	1	75	0.9573	0.2137	18	0.0003*
trat*tiempo	1	30	1	90	1.9513	0.2586	18	<.0001*
trat*tiempo	1	30	2	30	2.6327	0.1879	18	<.0001*
trat*tiempo	1	30	3	30	-0.6523	0.2002	18	0.0044*
trat*tiempo	1	45	1	60	1.6150	0.2522	18	<.0001*
trat*tiempo	1	45	1	75	2.5970	0.2284	18	<.0001*
trat*tiempo	1	45	1	90	3.5910	0.2786	18	<.0001*
trat*tiempo	1	45	2	45	3.9898	0.2925	18	<.0001*
trat*tiempo	1	45	3	45	-0.4530	0.3117	18	0.1634
trat*tiempo	1	60	1	75	0.9820	0.2660	18	0.0017*
trat*tiempo	1	60	1	90	1.9760	0.2841	18	<.0001*
trat*tiempo	1	60	2	60	2.0388	0.2452	18	<.0001*
trat*tiempo	1	60	3	60	0.06242	0.2613	18	0.8139
trat*tiempo	1	75	1	90	0.9940	0.2277	18	0.0004*
trat*tiempo	1	75	2	75	1.3588	0.2222	18	<.0001*
trat*tiempo	1	75	3	75	0.1146	0.2367	18	0.6342
trat*tiempo	1	90	2	90	0.3708	0.2598	18	0.1706
trat*tiempo	1	90	3	90	0.01142	0.2769	18	0.9676
trat*tiempo	2	-15	2	0	0.08000	0.2132	18	0.7119
trat*tiempo	2	-15	2	15	0.3918	0.1785	18	0.0415*
trat*tiempo	2	-15	2	30	0.7773	0.1918	18	0.0007*
trat*tiempo	2	-15	2	45	0.4948	0.2537	18	0.0669
trat*tiempo	2	-15	2	60	0.1588	0.2199	18	0.4797
trat*tiempo	2	-15	2	75	0.4608	0.2608	18	0.0943
trat*tiempo	2	-15	2	90	0.4668	0.2513	18	0.0797
trat*tiempo	2	-15	3	-15	-0.4227	0.2154	18	0.0654
trat*tiempo	2	0	2	15	0.3117	0.1789	18	0.0985
trat*tiempo	2	0	2	30	0.6972	0.2100	18	0.0038*
trat*tiempo	2	0	2	45	0.4148	0.2480	18	0.1118
trat*tiempo	2	0	2	60	0.07875	0.2475	18	0.7540
trat*tiempo	2	0	2	75	0.3808	0.1978	18	0.0702
trat*tiempo	2	0	2	90	0.3868	0.2328	18	0.1140
trat*tiempo	2	0	3	0	-0.03808	0.2157	18	0.8618
trat*tiempo	2	15	2	30	0.3855	0.1520	18	0.0207*
trat*tiempo	2	15	2	45	0.1030	0.2550	18	0.6911
trat*tiempo	2	15	2	60	-0.2330	0.2004	18	0.2602
trat*tiempo	2	15	2	75	0.06900	0.2110	18	0.7474
trat*tiempo	2	15	2	90	0.07500	0.2238	18	0.7414
trat*tiempo	2	15	3	15	-1.0486	0.1975	18	<.0001*
trat*tiempo	2	30	2	45	-0.2825	0.2173	18	0.2099
trat*tiempo	2	30	2	60	-0.6185	0.2119	18	0.0092*
trat*tiempo	2	30	2	75	-0.3165	0.1963	18	0.1243
trat*tiempo	2	30	2	90	-0.3105	0.2375	18	0.2076

Anexo 13. Resultados del Análisis de Regresión Simple para la Concentración de Selenio en Leche en Función de la Concentración de Selenio en Plasma (tratamiento 1).

Simple Regression - SeLeche vs. SePlasma

Regression Analysis - Linear model: $Y = a + b \cdot X$

Dependent variable: SeLeche

Independent variable: SePlasma

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	5.27555	0.35721	14.7688	0.0000
Slope	0.028823	0.00408901	7.04889	0.0000

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	65.345	1	65.345	49.69	0.0000
Residual	72.3325	55	1.31514		
Total (Corr.)	137.677	56			

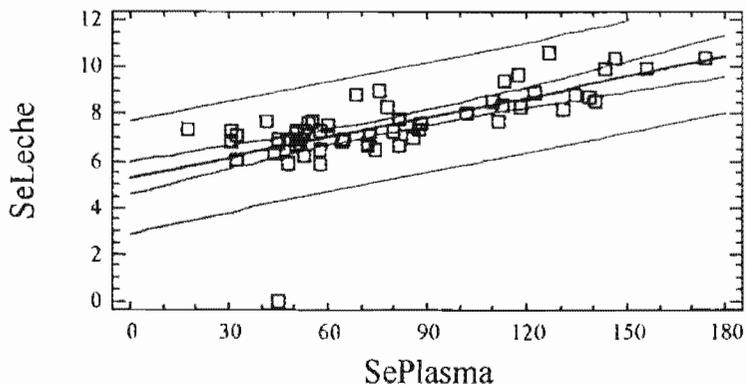
Correlation Coefficient = 0.688929

R-squared = 47.4624 percent

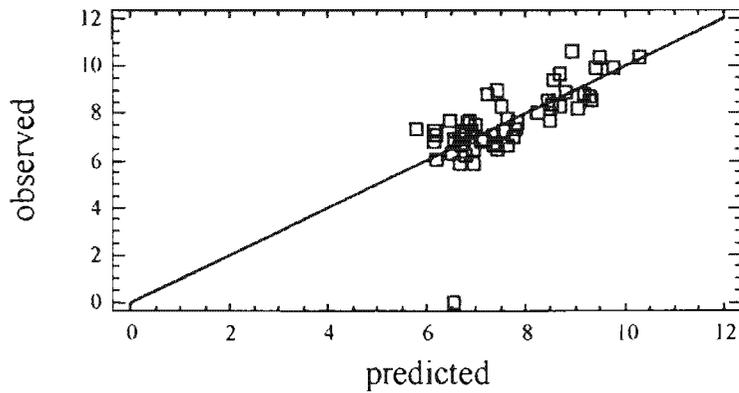
Standard Error of Est. = 1.14679

$$\text{SeLeche} = 5.27555 + 0.028823 \cdot \text{SePlasma}$$

Plot of Fitted Model



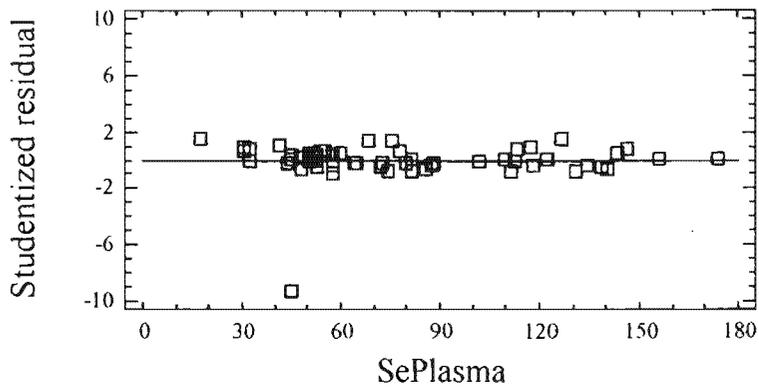
Plot of SeLeche



Comparison of Alternative Models

Model	Correlation	R-Squared
Linear	0.6889	47.46%
Square root-X	0.6673	44.53%
Logarithmic-X	0.6263	39.23%
Square root-Y	0.5037	25.37%
Reciprocal-X	-0.4739	22.46%
Exponential	<no fit>	
Reciprocal-Y	<no fit>	
Double reciprocal	<no fit>	
Multiplicative	<no fit>	
S-curve	<no fit>	
Logistic	<no fit>	
Log probit	<no fit>	

Residual Plot



Anexo 14. Resultados del Análisis de Regresión Simple para la Concentración de Selenio en Leche en Función de la Concentración de Selenio en Plasma (tratamiento 2).

Simple Regression - SeLeche vs. SePlasma

Regression Analysis - Reciprocal-X model: $Y = a + b/X$

Dependent variable: SeLeche

Independent variable: SePlasma

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	6.72774	0.71809	9.36894	0.0000
Slope	-46.1568	31.1438	-1.48205	0.1429

Analysis of Variance

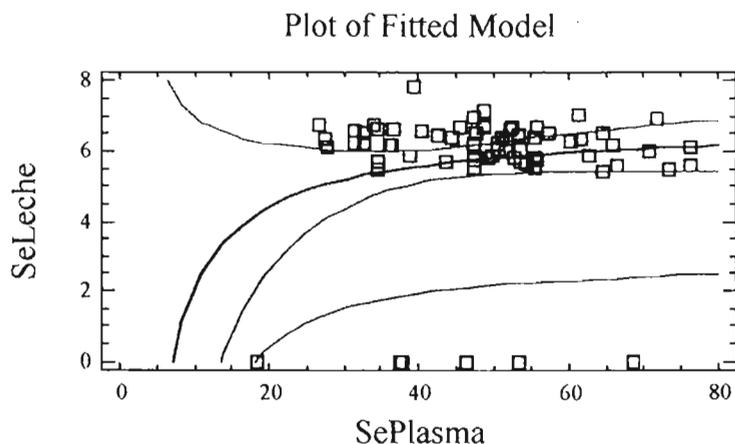
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	7.16381	1	7.16381	2.20	0.1429
Residual	221.782	68	3.2615		
Total (Corr.)	228.946	69			

Correlation Coefficient = -0.176891

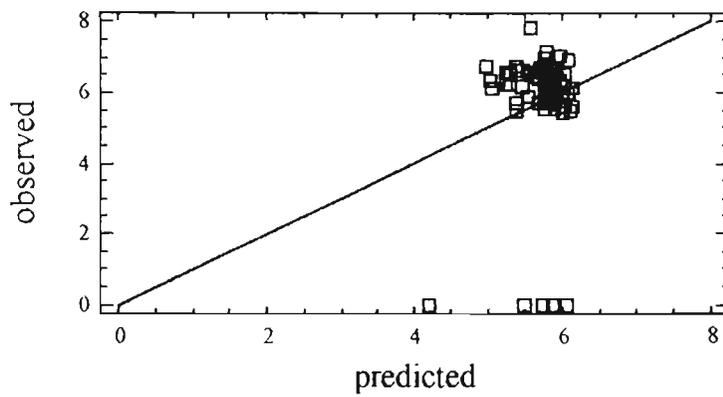
R-squared = 3.12905 percent

Standard Error of Est. = 1.80596

$$\text{SeLeche} = 6.72774 - 46.1568/\text{SePlasma}$$



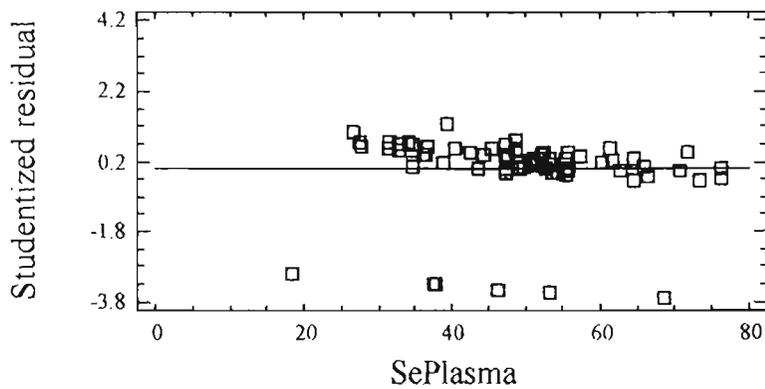
Plot of SeLeche



Comparison of Alternative Models

Model	Correlation	R-Squared
Reciprocal-X	-0.1769	3.13%
Logarithmic-X	0.1188	1.41%
Square root-Y	0.1032	1.07%
Square root-X	0.0947	0.90%
Linear	0.0742	0.55%
Exponential	<no fit>	
Reciprocal-Y	<no fit>	
Double reciprocal	<no fit>	
Multiplicative	<no fit>	
S-curve	<no fit>	
Logistic	<no fit>	
Log probit	<no fit>	

Residual Plot



Anexo 15. Resultados del Análisis de Regresión Simple para la Concentración de Selenio en Leche en Función de la Concentración de Selenio en Plasma (tratamiento 3).

Simple Regression - SeLeche vs. SePlasma

Regression Analysis - Exponential model: $Y = \exp(a + b \cdot X)$

Dependent variable: SeLeche

Independent variable: SePlasma

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	1.70931	0.0320589	53.3178	0.0000
Slope	0.00408575	0.000356267	11.4682	0.0000

Analysis of Variance

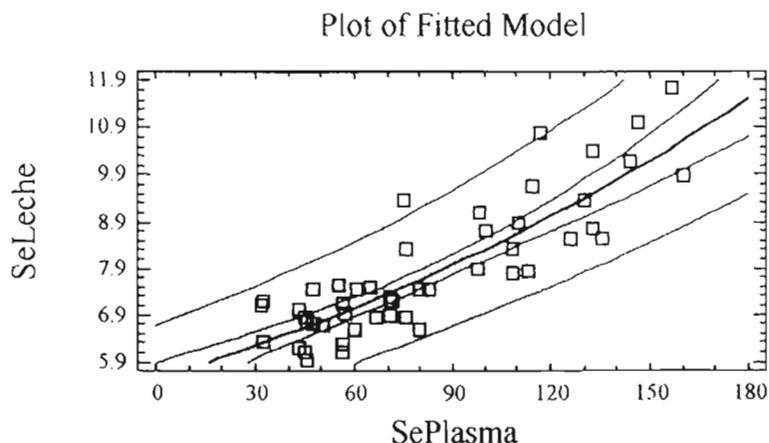
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	1.04596	1	1.04596	131.52	0.0000
Residual	0.365831	46	0.00795284		
Total (Corr.)	1.41179	47			

Correlation Coefficient = 0.860741

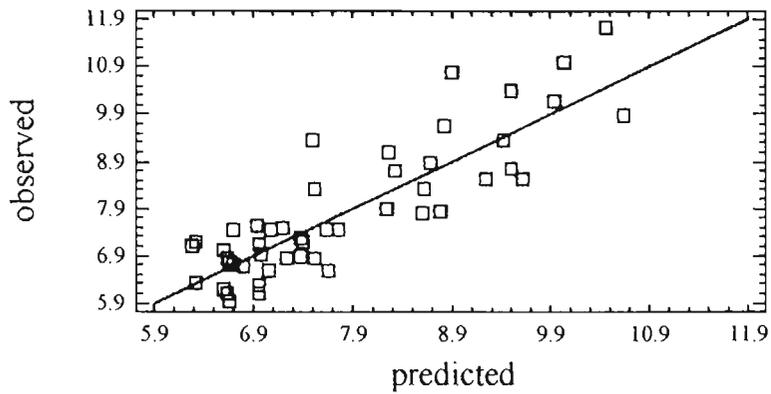
R-squared = 74.0875 percent

Standard Error of Est. = 0.0891787

$$\text{SeLeche} = \exp(1.70931 + 0.00408575 \cdot \text{SePlasma})$$



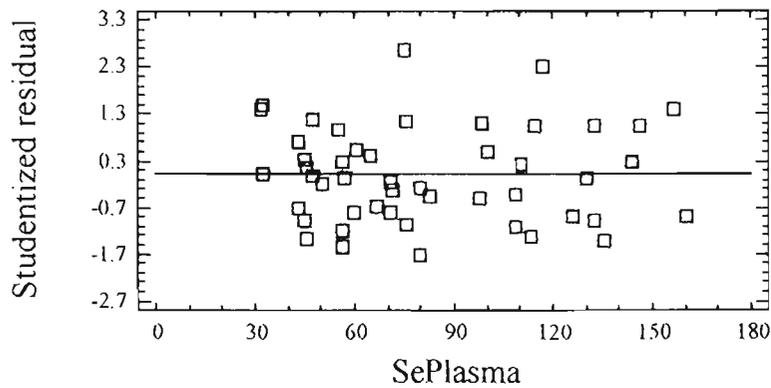
Plot of SeLeche



Comparison of Alternative Models

Model	Correlation	R-Squared
Exponential	0.8607	74.09%
Square root-Y	0.8600	73.97%
Linear	0.8572	73.47%
Reciprocal-Y	-0.8557	73.22%
Square root-X	0.8398	70.53%
Multiplicative	0.8225	67.66%
Logarithmic-X	0.8117	65.88%
Double reciprocal	0.7466	55.74%
S-curve	-0.7389	54.59%
Reciprocal-X	-0.7233	52.32%
Logistic		<no fit>
Log probit		<no fit>

Residual Plot



Anexo 16. Concentración de Selenio en Sangre y/o Plasma de Animales en Diferentes países

País	Animales /muestra	Concentración de Selenio	Referencia
Nueva Zelanda	Vacas Friesian /sangre total	X = 310 ± 31 nmol Se/L Rango 97-810 nmol Se/L	Knowles, Gace, Wurms, Lee (1999)
República Checa	278 vacas lecheras, 29 toros y 19 vaquillas/ sangre total	X = 78.25 µg/L DE = 46.67 Rango 1.33 – 212.40	Pavlata, Pechova, Illek (2000).
República Checa	Terneras /sangre total	69.21 ± 11.22 µg/L 68.42 ± 10.7 µg/L	Pavlata, Illek, Pechova (20001)
Finlandia	30 rebaños de vacas lecheras (n=2024) /sangre total	X = 191 µg/L DE = 42.4 Rango 93-305	Jukola, Hakkarainen, Saloniemi (1996a).
Ohio, EUA	Vacas Holstein (n=30) /Plasma	60-65 µg/L	Ivancic, Weiss (2001)
Ohio, EUA	Vacas Holstein (n=61) /Plasma	0.05 µg/ml	Weiss, Todhunter, Hogan (1990).
Washington, EUA	Vacas Holstein /sangre total y Plasma	Sangre: 0.146 µg/ml* Plasma: 0.057 µg/ml* Sangre: 0.106 µg/ml** Plasma: 0.031 µg/ml**	Abdelrahaman, Kincaid (1995)
Washington EUA	Vaquillas Holstein /Suero	Adecuado: 115.3 ng/ml Excesivo 287.2 ng/ml	Awadeh, Abdelrahman, Kincaid (1996).
Finlandia	Vacas, vaquillas, toros y novillas /sangre total	183-244 µg/L	Jukola, Hakkarainen, (1996).
EUA	Vacas Holstein lactantes /sangre total	92.6 ng/ml	Waldron, Ward, Overton (2004)

* Parto

** Día cero

Nota: 1 nmol de Se = 0.079 µg Se

Si se considera una densidad de 1g/ml entonces µg/L = PPB = ng/g

(µg/ml) (1000 ml/1L) = µg/L = PPB = ng/g

Anexo 17. Concentración de Selenio en Leche de Vaca en Diversos Países

País	Concentración de selenio	N	Descripción de la muestra	Referencia
Bélgica	10.0 ± 0.5 µg/L	-	Cruda	Shen et al. (1996) *
Bélgica	10.9 ± 0.3 µg/L 10.1 ± 0.4 µg/L	30 30	Total Descremada	Van Dael et al. (1991) *
Alemania	24.3 µg/L	45	Cruda	Lombeck et al. (1978) *
Grecia	17 ± 5 mg/kg	-	-	Bratakos et al. (1987) *
Holanda	16.5 ± 1.3 µg/L 10.3 ± 0.5 µg/L	7 7	Invierno Verano	Koops et al., (1989) *
Noruega	17 mg/kg 11 mg/kg	-	Invierno Verano	Froslic et al. (1985) *
España	6.1 µg/L	3	Embotellada	Farré et al. (1981) *
España	16.4 ± 4.4 µg/L 14.9 ± 2.9 µg/L	151	Cruda Esterilizada	Rodríguez et al. (2001) *
EUA	9.6 ± 0.4 µg/L 9.5 ± 0.3 µg/L	10 10	Total Descremada	Debski et al. (1987) *
EUA	78 ± 27 µg/L 64 ± 10 µg/L	8 8	Cruda (diciembre) Cruda (septiembre)	Olson y Palmer (1984) *
EUA	0.01 mg/kg	86	En venta en el Mercado	Pennington et al. (1987) *
Israel	73 ± 3 µg/L	-	En venta en el mercado	Lavi y Alfassi (1990) *
Japón	17.4 ± 3.6 µg/L	13	Cruda	Tamarí et al. (1990) *
India	19.0 ± 0.9 µg/L	-	Madura	Giri et al. (1988) *
Burundi	25.9 ± 5.4 µg/L 12.3 ± 2.1 µg/L	19 2	Cruda Procesada	Benemariya et al. (1993) *
Nueva Zelanda	7.2 µg/L	-	-	Grant (1981) *
Suecia	1.36 ± 0.22 µg/100g 1.41 ± 0.25 µg/100g	-	Rebaños pequeños Rebaños grandes	Toledo et al. (2002) *
Suecia**	1.80 ± 0.3 µg/100g	63	-	Lindmark-Mansson et al. (2003)**

* Citados por Rodríguez et al. (2001), excepto * y **

Nota: si la densidad de la leche se encuentra entre 1.028-1.035 g/ml, entonces:

$$1 \text{ L} = 1028 - 1035 \text{ g}$$

$$\text{por lo que } 10 \text{ µg/L} = 0.0097 - 0.0096 \text{ µg/g} = 0.97-0.96 \text{ µg/100g.}$$

$$1 \text{ mg} = 1000 \text{ µg, y } 1 \text{ kg} = 1000 \text{ g,}$$

$$\text{por lo que mg/kg} = \text{µg/g}$$