



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y LA SALUD ANIMAL**

**DEFICIENCIA Y SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO EN
PEQUEÑOS RUMIANTES**

**“DEFICIENCY AND SUPPLEMENTATION OF SELENIUM IN
SMALL RUMINANT”**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

ABD ELGHANY HEFNAWY ABD ELGHANY

TUTOR (SUPERVISOR)

DR. JORGE LUIS TÓRTORA PÉREZ

COMITÉ TUTORAL (COMMITTEE)

DR. CARLOS VALVERDE RODRÍGUEZ

DR. EFRÉN RAMÍREZ BRIBIESCA

CUAUTITLAN - MÉXICO

2007



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.

DEDICATORIA

**A MI ESPOSA DRA. SEHAM YOUSEF ABU KORA Y A MIS HIJOS
REWAA Y KAREM POR SU AMOR Y SER EL MOTOR DE MI VIDA**

**AMI MADRE: AMNA ALI MUHAMED Y
A MI PADRE: HEFNAWY ABD ELGHANY
MIS HERMANOS: TAREK, MUHAMED, KHALED, SAMEH Y AHMED
MIS HERMANAS: WARDA, FATMA Y MONA**

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. JORGE LUIS TÒRTORA PÈREZ por su enorme participación en mi formación doctoral, por sus atenciones y tiempo en la dirección y revisión de este trabajo de tesis.

Al Dr. CARLOS VALVERDE RODRÌGUEZ por la valiosa asesoría aportada a lo largo de este trabajo y por brindarme su invaluable amistad.

Al Dr. EFREN RAMIREZ BRIBIESCA por su valiosa asesoría y ayuda desinteresada a lo largo de este trabajo.

Al comité tutorial y jurado que evaluaron y corrigieron el presente trabajo

A las instituciones que me brindaron su apoyo durante mi formación doctoral

-Secretaría de Relaciones Exteriores (SRE)

-Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan

-Facultad de la Medicina Veterinaria Universidad de Benha (Egipto)

A la Dra. RAQUEL LOPEZ ARELLANO y a la Dra. ALMA REVILLA VAZQUEZ por brindarme sus ayuda y amistad a lo largo de este trabajo

ÍNDICE (INDEX)

-RESUMEN	1
-ABSTRACT	4
-CAPITULO I (CHAPTER 1) Selenio y salud animal (Selenium and animal health)	7
-JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVO GENERAL	52
-CAPITULO II (CHAPTER II) The relationship between fetal and maternal Se concentrations in sheep and goats.	53
-CAPITULO III (CHAPTER III) Effect of pre- and postpartum selenium supplementation in sheep. Allantoic fluid, colostrum, milk and plasma selenium concentrations in ewes and their new born lambs.	61
-DISCUSION GENERAL (GENERAL DISCUSSION)	80
-CONCLUSIONES GENERALES (GENERAL CONCLUSIONS)	93

RESUMEN

En la introducción de este trabajo, se realiza una revisión de la fisiología, biotransformación, la patogénesis de la deficiencia, métodos de suplementación y de la intoxicación por selenio (Se). El Se es un mineral traza esencial en la nutrición animal, su deficiencia afecta diversos procesos asociados a la producción animal, tan diversos como la fertilidad de la especie y la prevención de enfermedades. La importancia de la carencia del elemento fue originalmente relacionada con la enfermedad del músculo blanco o distrofia muscular nutricional (DMN), que causa muerte en animales recién nacidos y ocasionalmente en adultos, en particular en rumiantes. La glutatión-peroxidasa (GSH-Px), fue la primera enzima en que se demostró la presencia activa, estructural, del selenio y su importancia para evitar el daño oxidativo de las membranas celulares y en su momento permitió explicar el cuadro de lesión de la DMN. Actualmente ha quedado claro que el Se es crítico en la estructuración de más de 30 enzimas, entre otras las necesarias para la síntesis de la hormona tiroidea y su activación en los tejidos periféricos, pasando de T_4 a T_3 . El diagnóstico de la deficiencia debe fundamentarse en los niveles del elemento en los suelos, las plantas forrajeras y la condición del animal en sangre y tejidos. Se han instrumentado diversas formas de suplementación del elemento que pueden emplearse dependiendo de las condiciones productivas de los animales y sus niveles previos de Se. La intoxicación por Se (Selenosis) debe tenerse en cuenta en los programas de suplementación, esta puede ocurrir en formas crónicas o agudas. Las formas crónicas ocurren en regiones con suelos ricos en el elemento y condiciones que favorecen su absorción por las plantas forrajeras. Las formas agudas generalmente ocurren por excesos del elemento en las dietas o las sales que se administran a los animales o por errores de dosificación en las formulaciones parenterales.

Las interacciones del Se en la hembra gestante, el feto y el recién nacido, es un área que requiere mayor investigación. El objetivo de este trabajo fue aportar al conocimiento de estas relaciones, determinando la concentración de Se en los líquidos alantoideo y amniótico y en el hígado, riñón y tiroides del feto, sus correlaciones y las existentes con los niveles de Se plasmático y hepático de la madre, en ovejas y cabras. Posteriormente se evaluó en ovejas el efecto de la suplementación de Se durante la gestación y el posparto, sobre sus niveles en el líquido alantoideo, calostro, leche y plasma de las ovejas y sus recién nacidos, así como la ganancia de peso de estos últimos.

La primera parte del estudio, se realizó en rastro, se colectaron los úteros gestantes de 30 ovejas y 36 cabras en diferentes etapas de gestación, se estimó la edad de los fetos según la longitud de la

columna vertebral y se agruparon aquellos con menos de 20 cm. como gestación temprana (menos de 90 días) y los de más de 20 cm. como gestación tardía). Se determinó la concentración de selenio por espectrofotometría de absorción atómica, a muestras de líquido amniótico y alantoideo, tiroides, riñón e hígado fetal y al plasma e hígado materno. Al avanzar la gestación, en ovejas y cabras, la concentración de Se en el líquido alantoideo, hígado y riñón fetal se incrementó, mientras que se redujo en el líquido amniótico, plasma e hígado materno ($p < 0.01$). Se demostraron relaciones positivas entre la edad del feto y la concentración de Se en el líquido alantoideo ($r = 0.57$ a 0.75), el hígado ($r = 0.43$ a 0.59) y el riñón fetal ($r = 0.80$ a 0.81) ($p < 0.01$). Se demostró la relación positiva ($r = 0.35$ a 0.37) entre la concentración de Se en el líquido alantoideo y el hígado fetal ($p < 0.05$); mientras que ocurrió una relación negativa ($r = -0.42$ a -0.43) entre el líquido amniótico y el hígado fetal ($p < 0.01$).

El plasma e hígado materno se relacionaron positivamente ($r = 0.37$ a 0.57 ; $p < 0.05$), mientras el hígado fetal y materno correlacionaron negativamente ($r = -0.22$ a -0.50 ; $p < 0.05$) en ovejas y cabras. La concentración de Se en el hígado fetal fue significativamente más alta que en riñón y tiroides ($p < 0.01$). No se demostraron lesiones, ni apoptosis en las tiroides fetales. Se demostró, en ambas especies, una fuerte relación negativa entre los niveles de Se en la madre y el feto, resultados que sugieren que la madre sacrifica su condición, para mantener el aporte al feto. La concentración de Se en el líquido alantoideo resultó un buen indicador del nivel de Se del feto durante la gestación.

En la segunda parte del estudio, se investigó el efecto de la suplementación de Se pre- y posparto en ovejas gestantes. Los niveles de Se fueron determinados en el líquido alantoideo, calostro, leche y plasma de ovejas y sus corderos recién nacidos. Treinta y dos ovejas primaras, gestantes, de la raza Pelibuey fueron seleccionadas y distribuidas al azar en tres grupos. El primer grupo recibió suplementación de Se por vía subcutánea (SC) a dosis de 0.1 mg de selenito de sodio/Kg de PV, las 7^a, 4^a y en la 1^a posparto. El segundo grupo fue tratado con suplementación oral a la dosis de 3mg de selenito de sodio/kg PV, en las 7 semanas preparto. El tercer grupo actuó como testigo (control) sin suplementación. Se colectaron semanalmente por 8 semanas pre- y 8 posparto y al momento del parto, muestras de plasma y suero de todas las ovejas. Los corderos nacidos se pesaron semanalmente y se les colectaron las mismas muestras a las 48 horas de edad y luego por 8 semanas.

En los corderos que nacieron de ovejas suplementadas SC, la ganancia de peso fue más alta, que en los del grupo control ($p < 0.05$), en las primeras dos semanas posparto. En los grupos suplementados, las concentraciones de Se en el líquido alantoideo, el calostro y en la leche así como en

el plasma materno y de los corderos, fue más alta que la del grupo control ($p < 0.05$). Hubo una relación positiva entre la edad de la gestación y la concentración de Se en el líquido alantoideo ($r = 0.92$ a 0.96 ; $p < 0.05$) y entre la concentración de Se en la leche y el plasma de los corderos ($r = 0.57$ a 0.73 ; $p < 0.05$). Igualmente fue positiva entre la concentración de Se en el plasma materno y la leche ($r = 0.66$ a 0.95 ; $p < 0.05$) en los grupos suplementados, mientras la relación fue negativa en el grupo control ($r = -0.60$; $p < 0.05$). Las concentraciones de Se en la leche y el plasma de los corderos fueron más altas en el grupo SC, que en el grupo oral ($p < 0.05$), en las primeras dos semanas posparto. La suplementación de Se preparto en la forma de selenito de sodio, resultó importante para mantener los niveles plasmáticos maternos durante la gestación. La suplementación de Se posparto fue importante para mantener las concentraciones de Se en la leche y plasma de los corderos y para mejorar la ganancia de peso de los corderos recién nacidos. En esta segunda parte se confirmó que el líquido alantoideo es un buen indicador del estado de Se fetal y podría actuar como reserva de Se y jugar un papel importante en el metabolismo y la homeostasis del Se entre la madre y el feto. La obtención de líquido alantoideo hasta la 4ta semana preparto, con aguja guiada por ecosonografía, resultó un procedimiento sencillo y seguro.

Palabras claves:- Selenio, rumiantes

ABSTRACT

Physiology, biotransformation, pathogenesis, deficiency, supplementation methods and Selenium (Se) intoxication are reviewed in the first part of this work. Se is an essential trace element in animal nutrition, and exerts multiple actions related to the animal production, fertility and prevention of diseases. White muscle disease (WMD) was the first condition recognized as resulted from Se deficiency. WMD determines new born mortality, especially in ruminants, as well as growing and adult animals. Glutathione peroxidase enzyme (GSH-Px) was the first selenoenzyme demonstrated that can prevent oxidative damage of the cellular membranes and explain Se supplementation effects in WMD. Now is known that Se is critical to the synthesis of more than 30 selenoenzymes, including that essential for thyroid hormone synthesis and that converting T4 (inactive form of thyroxine) to T3 (active form of thyroxine). Se status in the soil, plants and animal blood and tissues can be used as a tool of diagnosis of Se deficiency. Diverse forms of Se supplementation were described but many factors affecting it, as chemical form, healthy and production condition of the treated animals and previous animal Se level. Acute and chronic Se intoxication (Selenosis) also occurred. Chronic forms are associated a regional seleniferous soils, with permanent or repeated consumption of seleniferous plants. Acute forms are associated with a high ingestion of Se bad formulated diets or salts, or by parenteral injection of high doses of Se products used in treatments of the deficiency cases. The relationships of Se metabolism in the fetus, the newborn and the pregnant dam need further investigations. The aims of this study were determination of the Se concentrations in the allantoic fluid, amniotic fluid, fetal liver, kidney and thyroid glands during the gestation and their relationships with the maternal plasma and liver Se concentrations in sheep and goat as well as evaluation of the effect of pre- and postpartum Se supplementation on the Se status of allantoic fluid, colostrum, milk and plasma of ewes and their new born lambs and their body weight gain.

In the first experimental part of this study, biological samples (slaughterhouse material) were collected from 30 sheep and 36 goats and classified according to gestational stage according to the length of the fetal vertebral column (less than 20 cm. aearly gestation and more than 20 cm as late gestation). Allantoic fluid, amniotic fluid, fetal liver, fetal kidney, fetal thyroid gland, maternal plasma and liver were sampled to determine Se concentrations by atomic espectral photometric procedures. The Se concentrations in the allantoic fluid, fetal liver and kidney increased significantly ($p < 0.01$) during

late gestation. Concurrently, the Se concentrations in amniotic fluid, maternal plasma and liver decreased significantly ($p < 0.01$) over time. Significant ($p < 0.01$) positive relationships were recorded between the age of the fetus and Se concentrations in the allantoic fluid ($r = 0.57$ to 0.75), fetal liver ($r = 0.43$ to 0.59) and kidney ($r = 0.80$ to 0.81) in both, sheep and goats.

A significant ($p < 0.05$) positive relationships were also recorded between the Se concentrations in the allantoic fluid and fetal liver ($r = 0.35$ to 0.37) and between maternal plasma and liver ($r = 0.37$ to 0.57) in sheep and goats. A negative correlation ($p < 0.05$) was recorded between allantoic fluid and maternal plasma of sheep Se concentrations ($r = -0.41$) as well as between fetal liver and maternal liver ($r = -0.22$ to 0.50). A negative correlation ($r = -0.42$ to 0.43) ($p < 0.01$) was determined between fetal liver and amniotic fluid Se concentrations in both sheep and goats. Fetal liver Se concentration was significantly ($p < 0.01$) higher than that the kidney and thyroid. In the thyroid gland neither morphological changes were observed, specially no apoptotic images. Strong fetal-maternal relationships in Se concentration were evident throughout the gestational period. Dams seem to sacrifice Se levels in order to maintain the fetus. Se concentrations in the amniotic and allantoic fluids could be used as a possible indicator of the Se status of the fetus throughout gestation.

In the second experimental part of this study, the effect of pre- and postpartum. Se supplementation was studied in sheep. Se levels were determined in the allantoic fluid, colostrum, milk and plasma of ewes and their new born lambs. 32 pregnant primiparus Pelibuey ewes were selected and distributed randomly into three groups. First group received subcutaneous (SC) Se supplementation with 0.1 mg of sodium selenite/ Kg BW at 7th, 4th prepartum and 1st postpartum week. The second group was treated with oral Se supplementation 3 mg of sodium selenite/head/week, for 7 prepartum weeks, while the third group remained as a control, without Se supplementation. Plasma and serum samples were collected weekly for 8 pre- and postpartum weeks, at parturition and at 48 hrs postpartum. Body weigh gain was evaluated weekly.

The body weight gain of the SC Se supplemented ewes lambs was higher than that the control ($p < 0.05$), ones for the first two postpartum weeks. Allantoic fluid, colostrum, milk, maternal and lamb plasma Se concentrations were greater in Se supplemented groups than that of the control ($p < 0.05$). Positive relationships were observed between gestational age and Se concentration of the allantoic fluid ($r = 0.92$ to 0.96 ; $p < 0.05$). Also between milk and lamb plasma ($r = 0.57$ to 0.73 ; $p < 0.05$) and between maternal plasma and milk ($r = 0.66$ to 0.95 ; $p < 0.05$) in Se supplemented groups, while a negative relationship occurred in control group ($r = -0.60$; $p < 0.05$). Milk and lamb plasma Se

concentrations were higher in the SC group, than that of the oral group ($p < 0.05$), during the first two postpartum weeks. Prepartum sodium selenite supplementation resulted important to maintain the maternal plasma Se level during the gestation. Postpartum Se supplementation was important for maintaining milk and lamb plasma Se concentrations and improving the body weight gain of the new born lambs. Allantoic fluid changes were confirmed as a good indicator of fetal Se status and may act as storage of Se and could play a role in Se metabolism and homeostasis between dam and fetus. Allantoic fluid extraction was a simple and save procedure until the 4th prepartum week.

Key words: *Selenium, ruminant*

CAPITULO I (CHAPTER I)

-TIPO (TYPE):

ARTICULO DE REVISIÓN Y PUBLICADO (PUBLISHED REVIEW ARTICLE)

-AUTORES (AUTHORS):

ABD ELGHANY HEFNAWY Y J. TÓRTORA PÉREZ

-TITULO (TITLE):-

SELENIO Y SALUD ANIMAL (SELENIUM AND ANIMAL HEALTH)

-REFERENCIA (REFERENCE):-

ARQUIVOS DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS E ZOOLOGIA DA UNIPAR

“SELENIO Y SALUD ANIMAL” IMPORTANCIA, DEFICIENCIA, SUPLEMENTACIÓN Y TOXICIDAD

Abd Elghany Hefnawy y Jorge Tórtora Pérez
Secretaría de Posgrado, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad
Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

El selenio (Se) es un mineral traza esencial en la nutrición animal y se considera participa en diversos procesos asociados a la producción animal, tan diversos como la fertilidad de la especie y la prevención de enfermedades. La glutatión-peroxidasa (GSH-Px), fue la primera enzima en que se demostró la presencia activa del selenio y su importancia al evitar el daño oxidativo de las membranas celulares. Con anterioridad se había demostrado que la conocida como “Enfermedad del músculo blanco” era consecuencia de la deficiencia de Se, determinando muerte en animales recién nacidos y ocasionalmente en animales en desarrollo y aún en adultos, en particular en rumiantes. Actualmente ha quedado claro que el Se también es crítico en la estructuración de las enzimas necesarias para la síntesis de la hormona tiroidea y para su activación en los tejidos periféricos, pasando de T₄ a T₃. La deficiencia de Se afecta seriamente la capacidad de respuesta inmune de los animales. El diagnóstico de la deficiencia debe fundamentarse en los niveles del elemento en los suelos, las plantas forrajeras y la condición del animal en sangre y tejidos. Se han instrumentado diversas formas de suplementación del elemento que pueden emplearse dependiendo de las condiciones productivas de los animales y sus niveles previos de Se. La intoxicación por Se (Selenosis) debe tenerse en cuenta en los programas de suplementación, esta puede ocurrir en formas crónicas o agudas. Las formas crónicas ocurren en regiones con suelos ricos en el elemento y condiciones que favorecen su absorción por las plantas forrajeras. Las formas agudas generalmente ocurren por excesos del elemento en las dietas o las sales que se administran a los animales o por errores de dosificación en las formulaciones parenterales. La relación metabólica del Se entre la hembra gestante, el feto y el recién nacido, es un área que requiere mayor investigación.

Palabras clave: *Selenio, rumiantes, salud, selenoproteínas*

Proyecto financiado por PAPIIT-UNAM: IN 209 906-2

INTRODUCCIÓN

La importancia de los minerales y en particular la de los denominados microelementos, en la nutrición y la salud animal ha sido revalorada en las últimas décadas. La relación de su aporte deficiente o excesivo con la presentación de cuadros de enfermedad explica el renovado interés por estudiar su fisiología, biotransformación, biodisponibilidad, patogenia de la deficiencia y, o la intoxicación y fuentes y métodos de suplementación. La importancia del selenio (Se) como elemento esencial en la fisiología animal quedó demostrada en 1957, al descubrirse que su deficiencia, asociada a la de la vitamina E, producía la enfermedad conocida como del “músculo blanco” (Muth *et al.*, 1958 citado por Ammerman y Miller, 1975). Posteriormente, hasta 1973, con el descubrimiento de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) y su papel en la regulación de los procesos oxidativos celulares y la protección de los sistemas membranales (Rotruck *et al.*, 1973), se hizo patente la importancia biológica del Se como parte estructural de las “selenoenzimas”.

Actualmente se conocen al menos 4 peroxidases GSH-Px, y se sabe que la carencia del elemento impide la síntesis y función de estas y otras selenoenzimas con la consecuente acumulación de los peróxidos generados en el metabolismo intermediario y el daño de las grasas y proteínas de las membranas, en particular las mitocondriales y la celular (Combs y Combs, 1986). La GSH-Px de los eritrocitos contiene cuatro átomos de Se incorporados en forma de selenocisteína (Ammerman y Miller, 1975). Mas tarde, se identificó la relación del Se con la actividad tiroidea, al descubrirse que las desyodasas, necesarias en los procesos de activación de T₃ a partir de T₄ en los tejidos periféricos, son también selenoenzimas. Se sospecha que otras 30 selenoproteínas descritas, tendrían también importancia en las actividades de regulación metabólica y se ha demostrado que en todos los casos el Se se incorpora a las proteínas animales como selenocisteína (Beckett y Arthur, 2005).

En contraparte en microorganismos y vegetales, donde el Se también se asocia a las fracciones proteicas, la selenometionina es el selenoaminoácido más abundante. Este aminoácido se emplea como forma de suplementación del mineral en la dieta animal. En los animales y el hombre se ha demostrado su presencia, pero su función en el metabolismo del elemento no ha sido completamente aclarada y como se señalará más adelante, todo indica que no es una forma recomendable de suplementación animal (Jerry *et al.*, 1997).

En la alimentación humana las principales fuentes de Se son el huevo, las carnes rojas, en especial la de cerdo y algunos peces como el atún. En sistemas de producción animal con un bajo aporte de Se, la carencia del elemento llega a convertirse en un problema de salud pública, con casos graves de cardiomiopatías, insuficiencia tiroidea y baja fertilidad. Estas situaciones han sido estudiadas en especial en China y en el Reino Unido, donde también la deficiencia se ha relacionado con cáncer y trastornos de la respuesta inmune en asociación con el virus del SIDA (Holben, 1999; Beckett y Arthur, 2005; Driscoll y Copeland, 2003).

DIGESTIBILIDAD Y METABOLISMO DEL SE

En 1979 el Se comenzó a ser adicionado a la dieta de los animales a dosis de 0.1 mg/Kg. de materia seca (FDA, 1979). Diez años después, la recomendación se aumentó a 0.3 mg/Kg. (FDA, 1989), pero aún así, Stowe y Herdt, 1992, encontraron que vacas suplementadas con esta concentración de Se sufrían la deficiencia. La digestibilidad y absorción del Se en los rumiantes es muy baja, alrededor del 19% en ovejas (Wright y Bell, 1966 citado por Amuerman y Millar, 1975) y del 11% en vacas (Koenig *et al.*, 1991). Esta baja digestibilidad se atribuye a que en el rumen el selenio se transforma a formas poco asimilables. Pese a esto, Whagner *et al.*, 1968, encontraron que la flora ruminal de ovejas adultas, tenía, en promedio, una concentración de Se cuarenta y seis veces mayor, que la de la dieta que consuman los animales, sobre base de materia seca, este selenio microbiano, debería ser de alta digestibilidad para el rumiante, como selenometionina.

CONSECUENCIAS DE LA DEFICIENCIA DE SE

La carencia de Se determina serios problemas en la eficiencia productiva y la salud de los animales, incluso con elevada mortalidad en las crías, cuando la deficiencia es grave, como consecuencia de lesiones degenerativas en el miocardio (Van Saun *et al.*, 1989). Entre las anomalías mejor documentadas se señalan menores ganancias de peso, menor producción de leche y lana, baja eficiencia reproductiva (Enjalbert *et al.*, 1999), con reducción en la fertilidad, la prolificidad y la calidad seminal (Behne y Kyriakopoulos, 2001).

La menor actividad de GSH-Px determina daño directo de los peróxidos sobre las membranas celulares, en particular las mitocondriales. Aumenta la fragilidad eritrocítica con anemia consecuente

y también ocurre daño en los endotelios resultante en anasarca. El daño a las estructuras membranales se considera también la base del cuadro con que inicialmente se reconoció a la deficiencia de Se como un problema de salud: la enfermedad del músculo blanco o distrofia muscular nutricional con cambios degenerativos en músculo esquelético y en animales jóvenes en miocardio (Norton y McCarthy, 1986; Spears *et al.*, 1986; Gabryszuk y Klewiec, 2001).

La deficiencia ocurre cuando los suelos son pobres en Se o contienen elevados niveles de otros minerales que compiten con su utilización por las plantas. Se consideran niveles insuficientes en el suelo cantidades menores a 0.5 mg/Kg, o bien cantidades en las plantas menores a 0.1 ng/Kg. (Smith y Sherman, 1994; Pugh, 2002). Como era de esperar se han establecido claras correlaciones entre la presencia de Se en el suelo, las plantas y los tejidos animales (Sheppard *et al.*, 1984; Ramírez *et al.*, 2001^b). En suelos con adecuados niveles de Se, la presencia de otros minerales: calcio, azufre, cobre y arsénico, pueden interferir su incorporación por la planta y la presencia en la dieta de estos mismos elementos o de grasas polinsaturadas y nitratos, reducen su absorción en el intestino delgado (Smith y Sherman, 1994; Pough, 2002).

Aunque la deficiencia de Se se conoce en todas las especies animales, los rumiantes parecen ser más sensibles al padecimiento y en particular la situación parece ser más grave para los pequeños rumiantes, ovinos y caprinos, con miocarditis degenerativa en corderos y cabritos y distrofia muscular en adultos (Ramírez *et al.*, 2001^b; Ramírez. *et al.*, 2004; Ramírez. *et al.*, 2005). Esta mayor susceptibilidad de los rumiantes se atribuye al ambiente retículo-ruminal, que genera formas no solubles en particular seleniuros y donde podría ocurrir una pérdida significativa del elemento ocasionada por los microorganismos del rumen, que colaboran a convertir una proporción del Se a formas insolubles (Se elemental y seleniuros) y otra porción la incorporan a sus proteínas con la formación de selenoaminoácidos, selenometionina y selenocisteína y se desconoce su posible utilización posterior (Harrison y Conrad, 1984a,b; Harrison, *et al.*, 1984). Lo anterior explicaría la menor absorción de Se en rumiantes, que en no rumiantes, 29-35% en rumiantes y del 77 al 85% en no rumiantes, cuando es administrado como selenito por vía oral; el principal sitio de absorción del elemento es el duodeno (Groff *et al.*, 1995; Sarabia-Martínez, 2004).

LAS SELENOPROTEÍNAS

Desde que en 1973 se demostró que el selenio era parte constitutiva de la GSH-Px, se han descubierto algo más de 30 proteínas que lo contienen. La mayor parte de ellas con funciones enzimáticas conocidas y aún en las que esta actividad no ha sido demostrada, existen elementos suficientes para sospecharla. La mayor parte del selenio en el animal está ligada a proteínas y más del 80% como selenocisteína. Las selenoproteínas y su función han sido sustancialmente aclaradas en bacterias y mamíferos. Se ha profundizado en el estudio del efecto del aporte dietético del Se en la regulación y síntesis de estas proteínas y su diferente comportamiento en los distintos órganos y tejidos. Se sabe que la síntesis es altamente dependiente del aporte de selenio y si el aporte es limitado el sistema jerarquiza las selenoenzimas a producir y los órganos de síntesis (Behne y Kyriakopoulos, 2001; Driscoll y Copeland, 2003).

La incorporación de selenocisteína depende de un codón UGA en los RNA mensajeros (Allan *et al.*, 1999; Behne y Kyriakopoulos, 2001). Como ya se mencionó, se sabe que en condiciones de deficiencia, el sistema prioriza las selenoenzimas a expresar, y que la GSH-Px es la última prioridad. Por esta razón, se reconoce que la determinación de la actividad de esta enzima en sangre, refleja en buena manera que las necesidades del elemento han sido cubiertas en el animal (Behne and Kyriakopoulos, 2001; Beckett y Arthur, 2005). Se ha propuesto la división de las selenoproteínas en tres grupos: las que incorporan selenio en forma no específica, las que lo hacen específicamente y las que demuestran estar codificadas para incorporar selenocisteína (Behne y Kyriakopoulos, 2001).

El uso de selenometionina como fuente de Se, resulta en un incremento de selenio en las proteínas y en las células, tanto las de mamíferos en cultivo, como en las bacterianas, *in vivo* e *in Vitro*. Sin embargo, este incremento no determina una mejora en la expresión de la actividad enzimática, indicando que en la síntesis de diversas proteínas que requieren metionina, el proceso opta por la forma selenificada, disponible en mayor cantidad, que por la azufrada de este aminoácido, sintetizando selenoproteínas no específicas y sin actividad biológica dependiente de Se (Allan *et al.*, 1999; Behne y Kyriakopoulos, 2001).

En modelos de células cutáneas en cultivo (melanocitos, fibroblastos y queratinocitos), el Se tiene un efecto protector sobre la muerte celular inducida por radiación UV. Estos estudios han mostrado también la diferente priorización de las células cutáneas a la síntesis de las selenoenzimas fosfolípido hidroxiperoxidasa y tioredoxin reductasa. En estos modelos *in vivo*, también es notorio que el efecto protector a la radiación UV, es diez veces más eficiente cuando se adiciona selenito al medio que cuando se emplea selenometionina, pese a que la selenometionina es más rápidamente incorporada a las células y a las proteínas de nueva formación que el selenito, pero esta incorporación como selenometionina, en sustitución de metionina, no genera sitios catalíticos activos, que eviten el daño por UV (Allan *et al.*, 1999).

En las pasturas y los granos el Se se encuentra asociado a la fracción proteica, tal como ocurre en los tejidos animales, sustituyendo al azufre en los aminoácidos azufrados. Pero en las plantas principalmente como selenometionina, de mayor biodisponibilidad que las formas salinas inorgánicas (selenitos y selenatos), de esta manera puede incorporarse más fácilmente a las proteínas animales. Sin embargo, como se señaló más arriba, en la forma de selenometionina el Se es transformado con dificultad a selenocisteína por los tejidos animales, consecuentemente, el Se no puede utilizarse eficientemente en las selenoenzimas, las formas biológicamente activas del Se y en contraparte si se puede incorporar como selenometionina a las proteínas y alterar su estructura (Allan *et al.*, 1999; Behne y Kyriakopoulos, 2001).

Se han descrito un par de proteínas que fijan selenio en forma no específica y no relacionada a la selenometionina o la selenocisteína y que podrían funcionar como acarreadoras del elemento a nivel celular y tisular, la selenoproteína P (plasmática) y la selenoproteína W (muscular) (Behne y Kyriakopoulos, 2001; Driscoll y Copeland, 2003). La evidencia disponible sugiere que el selenio ingerido es más o menos rápidamente incorporado al grupo de selenoproteínas específicas, como selenocisteína y que son éstas proteínas las responsables de los efectos biológicos del elemento, la estricta homeostasis de estas proteínas impide su incremento, aún en condiciones de sobredosificación de Se (Allan *et al.*, 1999; Behne y Kyriakopoulos, 2001).

La incorporación de selenocisteína mediante el codón UGA y el anticodón UCA, que normalmente sirve como señal de terminación de la síntesis de una proteína, implica que se requiera un factor de traslación para la inserción del aminoácido selenificado. La biosíntesis de la

selenocisteína tiene lugar en el RNAt de transferencia, que originalmente transporta serina y que es transformado en una reacción con selenofosfato en RNAt-selenocisteína (SecRNAt). La enzima responsable de este proceso de selenificación, la selenofosfato sintetasa 2 (**SPS2**), es también una selenoenzima y es la única presente en eucariotes y procariotes (Driscoll y Copeland, 2003). Esta condición de la SPS2 de ser una selenoenzima, sugiere la posibilidad de un mecanismo de retroalimentación dependiente de selenio, en la medida que el elemento y sus derivados bioactivos se incorporan a proteínas, se reduciría su disponibilidad para la síntesis de SPS2 y en consecuencia la síntesis de selenoproteínas (Driscoll y Copeland, 2003). El selenito es reducido a selenato y este a selenofosfato, precursor universal de la selenocisteína, la selenometionina en cambio es una fuente de menor disponibilidad metabólica de selenio para generar selenocisteína (Allan *et al.*, 1999; Behne y Kyriakopoulos, 2001).

En bacterias la síntesis de selenoproteínas se estimula activamente en presencia de grandes cantidades de SecRNAt, sin embargo, en mamíferos, parece ser más importante la expresión de SPS2. La incorporación de la selenocisteína depende de un factor de elongación específico para ella (SelB), que sustituye al factor normal de elongación en unión con SecRNAt, permitiendo la incorporación específica de la selenocisteína y que continúe la síntesis de la proteína. En ausencia de SecRNAt, la lectura de UGA determinará la finalización de la síntesis, con la entrada en UGA del factor liberador del ribosoma RF2, la competencia alostérica en concentraciones relativas de SecRNAt o RF2, definirá en consecuencia, la síntesis de la enzima selenificada o la interrupción del proceso (Driscoll y Copeland, 2003).

Como se indicó más arriba, en condiciones de deficiencia nutricional de Se el sistema prioriza, jerarquiza, las enzimas a sintetizar, incluso, tratándose de una misma enzima, presente en diferentes tejidos, se jerarquiza la síntesis entre los diferentes tejidos. Así en ratas, en condiciones de déficit extremo del elemento, las concentraciones de Se están por debajo del 1% del nivel normal en el hígado, el músculo o la sangre y, en contraparte, el Se en encéfalo se encuentra al 60%, del demostrable en animales controles. En las prioridades de distribución tisular del Se, el cerebro es seguido por la médula espinal, la hipófisis, la tiroides, los ovarios y las adrenales. En estos tejidos, la síntesis de la selenoenzima fosfolípido hidroxidroxidasa (PHGSH-Px) es prioritaria respecto a GSH-Px plasmática y celular (Behne y Kyriakopoulos, 2001).

En condiciones de déficit del elemento se ha demostrado que en la jerarquización de la expresión enzimática, participan diversos mecanismos, uno de estos es la diferente estabilidad de los RNAm mensajeros (Behne y Kyriakopoulos, 2001). En células en cultivo, con medios sin suero y deprivados en Se, la síntesis de GSH-Px y desyodasa (DI) es mínima. Cuando se agrega selenito al medio, en concentraciones de 0.5 nM rápidamente incrementa la actividad de DI, mientras que la de la GSH-Px aumenta hasta que el selenito en el medio alcanza concentraciones de 1 nM. Estos experimentos han revelado, que con bajos o nulos niveles de selenito en el medio de cultivo el RNAm de la GSH-Px se degrada rápidamente, mientras que el mensajero de la DI es más estable (Allan *et al.*, 1999). Este efecto diferencial del aporte de Se sobre la síntesis enzimática en condiciones de deficiencia, reduce las consecuencias del impacto de la carencia. En ratones a los que se les elimina el gen para SecRNAt (*knock-out*), el déficit genético se traduce en mortalidad embrionaria. En contraste, en animales sujetos a dietas deficitarias por generaciones, no aumenta significativamente la mortalidad embrionaria (Behne y Kyriakopoulos, 2001). La mayor capacidad de ionización del selenol a pH fisiológicos, contra la de grupos thiol (azufrados) de la misma enzima con cisteína conferirá a las selenoenzimas su cualidad para catalizar procesos de oxidoreducción. La sustitución de la selenocisteína por cisteína, reduce la capacidad catalítica óxidorreductiva de las selenoenzimas drásticamente (Driscoll y Copeland, 2003).

SE Y TIROIDES

Presumiblemente y por la importancia de las selenoenzimas en la función de la tiroides, la glándula contiene mayor cantidad de Se por gramo de tejido que cualquier otro órgano del sistema (Beckett y Arthur, 2005). Se han descrito lesiones en la tiroides de animales con deficiencia de Se, sin embargo y pese a las demostradas relaciones funcionales, la información en este sentido es limitada (Tórtora, 1979). Recientemente se ha demostrado el incremento de apoptosis en tiroides de animales con carencia de Se (Beckett y Arthur, 2005).

La relación del Se con la actividad tiroidea no solo está asociada a la actividad de la peroxidasa en la síntesis de las hormonas tiroideas, sino también a la actividad de las desyodasas tiroideas, también selenoenzimas, que catalizan la activación, transformación, de T₃ a partir de T₄ (Combs y Combs, 1986; Beckett *et al.*, 1987; Holben, 1999; Beckett y Arthur, 2005). La deficiencia de Se determina una reducción significativa de T₃ con incremento de T₄ y reducción en la actividad

hepática de la DI (Arthur *et al.*, 1988; Beckett *et al.*, 1993; Thompson *et al.*, 1995; Wichtel *et al.*, 1996; Awadeh *et al.*, 1998; Rock *et al.*, 2001). El plasma de becerros suplementados con bolos ruminales que liberaban 3mg/día de Se, presentó niveles significativamente más altos de T₃, que el de becerros con dietas basales con 0.3 mg de Se por Kg de materia seca (Wichtel *et al.*, 1996).

SE Y RESPUESTA INMUNE

El aporte adecuado de Se asegura la resistencia a la enfermedad y la eliminación de patógenos (inmunidad no específica). La deficiencia del elemento afecta los niveles de IgG y la función de las células T, factores que determinan mayor prevalencia y severidad de las enfermedades usualmente presentes en las poblaciones animales (John *et al.*, 2003). Presumiblemente la baja actividad de la GSH-Px reduce la vida media de los macrófagos, afecta los fenómenos de presentación antigénica y las respuestas humorales, con menor concentración de inmunoglobulinas (Aziz *et al.*, 1984; Awadeh *et al.*, 1998). La administración de Se en diferentes formas como inmunoestimulante mejora la capacidad de respuesta inmune de los animales y la calidad del calostro producido (Jendryczko, 1994). El Se es esencial para el funcionamiento de neutrófilos polimorfonucleares y linfocitos. Las relaciones conocidas entre el Se y la función inmune incluyen la efectividad de las células fagocitarias; esta relación es importante para mantener los mecanismos involucrados en la citotoxicidad y la producción de anticuerpos (Altimira *et al.*, 2000).

En cabras la deficiencia nutricional de Se se acompaña de disfunción en la actividad de los polimorfonucleares (PMN), asociada a la baja actividad de GSH-Px y afecta la capacidad de respuesta inmune de los animales (Aziz *et al.*, 1984; Wichtel, 1998). Los neutrófilos de vacas suplementadas muestran mejor capacidad fagocitaria y bactericida para *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, así como una mayor capacidad de producción de leucotrienos, que los de vacas no tratadas (Grasso *et al.*, 1990; Elias *et al.*, 1996). La producción y actividad de los factores que intervienen en la quimiotaxis y migración de leucocitos, parece ser también afectada en los animales carenciados en el elemento (Aziz y Klesius, 1985; Droke y Loerch 1989; Elias *et al.*, 1996). Algunos estudios sugieren que los efectos benéficos del Se son especie-específicos. Así, por ejemplo, la suplementación con 0.1, 0.5 y 1.0 ppm no modificó los niveles de IgG en corderos pero si lo hizo en ovejas y en becerros (Larsen, 1988; Larsen, 1993).

En vacas suplementadas se ha documentado una correlación positiva entre los niveles de Se en sangre y mayores concentraciones de IgG en suero y calostro, que se tradujeron en mayores niveles séricos de IgG en los becerros amamantados (Swecker *et al.*, 1995; Awadeh *et al.*, 1998). En ovejas la suplementación incrementa los niveles del elemento en sangre y calostro y en la sangre y el hígado de sus corderos, que mejoran la absorción de IgG (Rock *et al.*, 2001). La respuesta inmune humoral y celular se incrementó en búfalos egipcios suplementados con Se-vit. E (Hoda *et al.*, 1993). En pollos la deficiencia de Se-vit. E, podría estar afectando la maduración y la expresión de marcadores de superficie de subpoblaciones específicas de linfocitos, así como la capacidad proliferativa y funcional de los linfocitos periféricos (Chang *et al.*, 1994). En vacas deficientes se ha demostrado una menor capacidad de respuesta inmune, asociada a menores cuentas de linfocitos T, mientras que la suplementación con Se indujo efectos “inmunoestimulantes”. Efectos similares han sido demostrados en modelos “in vitro” (Jendryczko, 1994; Pollock *et al.*, 1994 Taylor, 1995). La influencia del selenio en la presentación de enfermedades ha generado recomendaciones de suplementación para evitar algunas patologías, como la aplicación de Se en el periodo seco en la prevención de metritis (Harrison *et al.*, 1984) o de la retención placentaria (Julien *et al.*, 1976).

PATOLOGÍA MUSCULAR DE LA DEFICIENCIA DE SE

La patología de la enfermedad del músculo blanco se caracteriza por la presencia de degeneración Zencker en fibras o grupos de fibras musculares. Los músculos de mayor actividad metabólica son más afectados por la enfermedad: diafragma, intercostales, gastrocnemios y miocardio, este último particularmente en rumiantes recién nacidos o incluso antes de su nacimiento (Silva *et al.*, 2000). Las principales observaciones patológicas en los animales se refieren a las lesiones degenerativas en miocardio y músculo esquelético, en el cuadro conocido como distrofia muscular nutricional (DMN). En este cuadro, las fibras musculares presentan imágenes de procesos degenerativos y se observan hinchadas, fragmentadas y se observa proliferación de núcleos musculares, como si las células intentaran reparar el daño, finalmente las fibras presentan necrosis y ocurre infiltración de macrófagos e incremento de fibroblastos, por lo que en la imagen microscópica llama la atención la gran cantidad de núcleos observables en las zonas afectadas (Hulland, 1985; Bostedt y Schramel, 1990; Ramírez *et al.*, 2001; Beytut *et al.*, 2002).

Algunas fibras pueden presentarse extremadamente basófilas, coloreadas intensamente con la hematoxilina, como consecuencia del depósito de sales de calcio sobre las células en degeneración, en casos raros de evolución crónica, la calcificación puede apreciarse macroscópicamente en los músculos afectados y a esta imagen obedece el nombre de enfermedad del músculo blanco. Sin embargo en el examen de necropsia, la característica es que los músculos afectados se observan más pálidos que el resto de la musculatura. La observación de músculos pálidos que contrastan con el resto de la musculatura y la demostración microscópica del cuadro de distrofia muscular, son lesiones particularmente características de la carencia de Se, de gran utilidad diagnóstica cuando no se pueden determinar directamente los niveles de selenio en los tejidos de los animales afectados. Las lesiones en el músculo esquelético se observan en animales adultos y raramente ocurren en jóvenes y se caracterizan por trastornos en la marcha y anomalías posturales, particularmente cuando los animales se echan o se levantan.

Las lesiones en miocardio ocurren en animales jóvenes y determinan muerte súbita, usualmente en los dos primeros meses de edad. La inspección del corazón puede evidenciar áreas pálidas o blancas, y en ocasiones todo el órgano tiene aspecto de “carne hervida”. La imagen microscópica de las zonas de lesión evidencia incremento de núcleos en forma semejante a lo descrito para el músculo esquelético, las fibras se hinchan y se pueden presentar vacuolizadas y en ocasiones ocurre el depósito de calcio sobre las fibras necrosadas.

TRASTORNOS REPRODUCTIVOS

La carencia de Se determina baja fertilidad en los machos y en el hombre afectados, que presentan semen de baja calidad, con bajas cuentas espermáticas e incremento de anomalías. Principalmente se han observado anomalías del flagelo y de la pieza intermedia del espermatozoide, que ocurren desde la espermiogénesis testicular, estas anomalías se han asociado a la menor actividad de una glutatión-peroxidasa, que se llama esperma-núcleo GSH-Px (sn- GSH-Px) presente en el núcleo del espermatozoide el único lugar donde se existe la selenoproteína, que presuntamente participaría en los arreglos de las proteínas asociadas al ADN (Beckett y Arthur, 2005) y este enzima es importante para la maduración del esperma y la fertilidad de los machos (Behne y Kyriakopoulos, 2001).

Se ha señalado que la fertilidad y prolificidad de las ovejas puede ser mejorada con la suplementación de Se (Hartley y Grant, 1961a; Hartley, 1961b; Scales, 1974; Segerson y Ganapathy, 1980). Sin embargo Gabryszuk y Klewicz (2002), indican que la administración de Se o de Se-vit. E no tuvo efecto sobre el ciclo estral, ni la fertilidad de las ovejas, Appeddu *et al.* (1994), tampoco observan efectos de la suplementación con Se sobre la productividad de las ovejas. La aplicación de Se durante el periodo de seco pudo ayudar en la prevención de metritis (Harrison *et al.*, 1984) o retención de placenta (Julien *et al.*, 1976).

En cabras criadas en zonas de México, con muy bajos niveles de selenio en el suelo, naturalmente deficientes en el elemento, la suplementación de Se, no modificó los parámetros de fertilidad y prolificidad (Ramírez *et al.*, 2005). Los resultados contradictorios en las consecuencias de la suplementación sobre estos parámetros, podrían depender de la severidad de la deficiencia, las condiciones de suplementación y la señalada capacidad del sistema para priorizar la síntesis enzimática en estas condiciones.

DIAGNÓSTICO DE LA DEFICIENCIA DE SE

La determinación de Se en los forrajes y el suelo, es una herramienta importante en el diagnóstico de la deficiencia y para conocer el estado del Se en una región determinada. Sin embargo, no solo la cantidad del elemento en el suelo es importante, diversos factores afectan la concentración de los minerales en los forrajes, como el tipo de suelo, la presencia de otros elementos competitivos, presencia de contaminantes, las sucesivas fertilizaciones, las especies forrajeras presentes, el clima, la estación del año y la edad de las plantas, estos factores pueden modificar y anular la posibilidad de que los animales cubran sus necesidades en micro-minerales durante el año (Georgievskii *et al.*, 1982). Existe sin embargo una fuerte relación entre las concentraciones de Se en el suelo, las plantas y los tejidos de los animales que las consumen (Pastrana *et al.*, 1991). Los suelos volcánicos prácticamente no contienen Se, las plantas y animales que crecen en este tipo de suelo sufren la deficiencia. La metiloselenocisteína es el mayor compuesto selenificado en las plantas, demostrable en raíces como el ajo y la cebolla (Whanger, 2002).

La concentración de Se en los tejidos del animal, particularmente el hígado, ha sido usada para conocer el estado de Se de los animales, con menores variaciones que su medida en sangre. En

corderos, la determinación de la actividad de GSH-Px en sangre y tejidos como el músculo esquelético, corazón y páncreas, fue señalada también como un buen indicador del estado del Se hace más de tres décadas (Oh *et al.*, 1974; Ammerman y Miller, 1975; Puls, 1994). En el diagnóstico de la deficiencia se ha observado una buena correlación entre la determinación de Se y la actividad de GSH-Px en sangre, sin embargo cuando se intenta medir la respuesta a la suplementación se considera preferible la determinación directa del elemento en sangre y tejidos (hígado, riñón), aunque se trata de un procedimiento más costoso y elaborado (Koller y Exon, 1986; Stowe y Herdet, 1992).

El hígado parece actuar como reservorio de Se y ser el órgano que mejor refleja los niveles de Se en el animal y sus variaciones en función del aporte (Mahan *et al.*, 1975; Mahan y Kim 1996). En cerdas con aporte y niveles adecuados de Se en plasma, la concentración de Se en el hígado fetal es menor que la del hígado materno, en cerdas con bajo aporte de Se en la dieta, los niveles hepáticos de Se fetal disminuyen aún más (Hostetler y Kincaid, 2004). Aunque los niveles de Se en la masa muscular son muy superiores a los hepáticos, estos últimos se consideran un mejor indicador de la condición del animal (Levander, 1986). En las ovejas se ha señalado que las mayores concentraciones de Se ocurren en riñón y disminuye en hígado, páncreas, corazón y músculo esquelético (Combs y Combs, 1986), sin embargo otros trabajos indican que en corderos recién nacidos los mayores niveles del elemento ocurren en hígado, riñón y corazón (Rock *et al.*, 2001) y se ha indicado que los niveles de Se en hígado, riñón, corazón y músculos, se incrementan con mayores aportes en la dieta (Cristaldi *et al.*, 2005).

SUPLEMENTACIÓN

La enfermedad puede ser prevenida suplementando a los animales en las regiones y poblaciones animales diagnosticadas como carentes, considerando las graves consecuencias en la eficiencia productiva de los animales afectados. En los recién nacidos el problema adquiere relevancia adicional, por la presentación de muerte súbita por falla cardíaca, en el primer mes de vida. La suplementación de las hembras gestantes aparece como una estrategia fundamental si la movilización de Se a través de la placenta (Abd Elrahman y Kincaid, 1995), el calostro y la leche es, como se ha señalado, eficiente.

La suplementación de los animales puede realizarse incorporando el elemento en la dieta (premezclas), el agua, las sales minerales, bolos intrarruminales o mediante soluciones inyectables, la elección de la forma de suplementación dependerá de las condiciones productivas y la consecuente facilidad para su utilización (Kott *et al.*, 1983; McPherson y Chalmers, 1984). El selenio puede ser eliminado, dada su volatilidad, cuando los alimentos son refinados o procesados. Se ha señalado incluso la posibilidad de fertilizar los suelos pobres con Se, sin embargo los niveles y momentos de suplementación continúan en discusión en gran parte por desconocimiento del comportamiento biológico del elemento y por la posibilidad de inducir situaciones de intoxicación (Stowe y Herdet, 1992).

Excepto en los inyectables, en los demás casos es posible utilizar selenometionina (selenolevaduras) y sales inorgánicas del elemento (selenatos y selenitos). Se ha reportado que la suplementación con selenometionina implica casi el doble de la disponibilidad biológica de selenio, que con el uso de selenito (Xia, 2005) y es considerada más apropiada por su más rápida incorporación a las proteínas del animal (Jenkins e Hidioglou, 1971; Nicholson *et al.*, 1991), sin embargo su uso puede ser hoy seriamente discutido considerando lo señalado más arriba en cuanto a la incorporación “bioactiva” del Se en las enzimas (Allan *et al.*, 1999; Behne y Kyriakopoulos, 2001). Las mezclas con selenometionina son además considerablemente más caras y en rumiantes es posible la transformación de sales inorgánicas a selenometionina por la microflora ruminal (Kim *et al.*, 1997).

Trabajos en cerdos señalan que no hay diferencia en los niveles de Se en sangre e hígado de lechones suplementados con selenometionina e inorgánicas (Suomi y Alaviuhkola, 1992). La información sin embargo sobre el uso de diferentes vías y formas de suplementación es poco precisa y muchas veces influida por el interés de imponer un determinado desarrollo tecnológico.

Se ha establecido que un aporte adecuado en ovejas y cabras es la oferta de 0.1 a 0.3 ppm/materia seca de Se en el total de la dieta (Smith y Sherman, 1994; Ullery *et al.*, 1978). El uso de soluciones de selenato de bario como fuente de Se, aplicado subcutáneamente a dosis de 0.1mg de Se por Kg. de peso vivo, logró mantener niveles adecuados del elemento en ovejas y corderos, mientras que el aporte de 0.126 mg/Kg. por vía oral no logró este efecto (Jiménez *et al.*, 1998). En vacas no lactantes, el aporte de 1mg de Se/día, por la vía oral es insuficiente para mantener niveles

plasmáticos adecuados (Abd Elrahman y Kincaid, 1995; Weiss *et al.*, 1984) y una dieta con 0.3 ppm de Se y 110 UI de vit. E durante el período seco, más la inyección de 50mg de Se y 300 UI de vit. E, 21 días previos a la fecha de parto, logró mantener niveles adecuados de Se en sangre y plasma (Weiss *et al.*, 1990). En vacas de carne con niveles deficientes de Se, la suplementación oral con 13.0 mg/día, por 15 días logró adecuados niveles del elemento en las madres y sus becerros (Enjalbert *et al.*, 1999). La forma química afecta la absorción de Se (Burck, 1994), el selenito de sodio administrado por vía subcutánea es mas rápidamente absorbido que el selenito de bario (Kuttler *et al.*, 1961).

En rumiantes se ha revisado el impacto del selenio suplementado en la dieta en los procesos ruminales, concluyendo que el selenito no modifica sustancialmente los procesos fermentativos ruminales “in vitro”, las concentraciones totales de ácidos grasos de cadena corta son similares en animales tratados y controles, pero incrementa las cantidades relativas de butirato contra acetato, buena parte del selenito suplementado se transforma a selenometionina en el rumen (Kim *et al.*, 1997). Sin embargo, trabajos anteriores en ovejas, demostraron efectos contrarios, con mayores niveles de acético e isovalérico en los animales suplementados (Hidiroglou y Lessard, 1976) y también se han reportado en ovejas suplementadas mayores niveles de ácidos grasos volátiles totales, mayores cuentas de protozoarios y mayor proporción de *Diplodinium* (Naziroglu *et al.*, 1997).

EL ANIMAL GESTANTE Y LOS RECIÉN NACIDOS

El feto cubre sus necesidades de Se por vía transplacentaria, en cantidades variables según la condición de la madre, pero en los rumiantes el paso del Se al feto ocurre aún cuando la madre tenga baja disposición del elemento (Koller *et al.*, 1984; Abd El Ghany *et al.*, 2007). Las observaciones realizadas en este sentido, sugieren que la hembra podría sacrificar su propia condición para mantener el transporte del elemento al feto. En general se observa una reducción de los niveles plasmáticos de Se materno, en la medida en que progresa la gestación y el o los productos aumentan de tamaño y peso (Koller *et al.*, 1984; Beckett y Arthur, 2005; Abd Elghany *et al.*, 2007). En ovejas de primer parto las concentraciones fetales de Se declinan ligeramente en el último tercio de gestación, días 100 al 148, de 0.29 a 0.20 mg/Kg. de materia seca (Langlands *et al.*, 1982; Grace, *et al.*, 1986).

En bovinos existe información contradictoria. Se han informado incrementos significativos de Se en el hígado fetal, en la medida que madura el feto, así como incrementos en los niveles de Se hepático materno, asociados al mayor aporte del elemento en la dieta de la madre (Goonerante y Christensen, 1989). En contraparte, no se detectaron variaciones en los niveles de Se en el tejido renal de fetos bovinos a diferentes edades (Cristaldi, *et al.*, 2005), mientras que se ha comunicado que la concentración de Se hepático en fetos bovinos se incrementa del día 145 al 195, para después disminuir hacia el día 245 de la gestación (Abd Elrahman y Kincaid, 1993), lo que podría sugerir una mayor demanda o utilización del elemento al final de la gestación. William y Alan, (1994), no encontraron variaciones en los niveles de Se hepático en los fetos al final de la gestación, pero sí se redujeron los niveles del elemento en el hígado de las vacas gestantes en la medida que ocurría el crecimiento fetal, indicando que las vacas, igual que las ovejas y cabras, sacrifican su propia condición para mantener el aporte al feto y/o lo movilizan a la producción del calostro y la leche (Van Saun *et al.*, 1989). Se han señalado correlaciones positivas entre la concentración de Se en la sangre, el plasma y el hígado del becerro con las del plasma materno al parto (Kincaid y Hodgson, 1989; Abd Elrahman y Kincaid, 1995). Los niveles de Se en las membranas fetales son menores a los de los líquidos fetales y ambos se incrementan con la edad del producto (House y Bell, 1994).

Los recién nacidos obtienen Se a través del calostro y la leche materna, por lo que la condición y disponibilidad de Se de las madres al final de la gestación, es trascendente para el aporte del elemento en la lactación. Se ha estudiado con resultados contradictorios, el efecto de la suplementación de Se durante la gestación, en la ganancia de peso de los recién nacidos, algunos autores señalan mejoras en la ganancia de peso en becerros recién nacidos (Wichtel *et al.*, 1996; Castellan *et al.*, 1999), mientras otros han obtenido resultados opuestos (Awdeh *et al.*, 1998; Gunter *et al.*, 2003; Rowntree *et al.*, 2004; Rock *et al.*, 2001).

LA DEFICIENCIA EN EL HOMBRE

Cuando los suelos son limitantes, forrajes y animales presentarán bajos niveles de Se y la población humana también se verá afectada por la deficiencia, las necesidades de Se para el hombre han sido estimadas en 60-75µg/día. La principal fuente del elemento al humano, son las carnes rojas, en particular la del cerdo (49.9 µg/100g), que en iguales condiciones regionales tiene casi el doble de

Se que la de res (28.1 µg/100g) o la de pollo (23.9 µg/100g), el hígado proporciona igualmente casi el doble de los niveles de Se que proporcione la carne de la especie consumida en el caso de la res 57.0 µg/100g. La leche y sus derivados aportan bajos niveles del elemento. El atún es una fuente importante de Se 80.4 µg/100g. Mientras granos y cereales proporcionan cantidades medias a bajas de Se y frutas y verduras prácticamente no aportan el elemento (Holben, 1999).

En las zonas carentes de Se en el suelo, los humanos acompañan a los animales en el padecimiento de enfermedades asociadas a la deficiencia. Así se han presentado formas de cardiomiopatía endémica en ciertas regiones de China; una forma de osteoartropatía en el Noreste de Asia (Behne y Kyriakopoulos, 2001; Beckett y Arthur, 2005). Situaciones de hipotiroidismo con mixedema han sido descritas en poblaciones de África Central, como consecuencia de la carencia de Se (Holben, 1999; Beckett y Arthur, 2005). En el Reino Unido, en particular en Escocia, se han demostrado casos de baja fertilidad asociados a baja calidad en el semen, como consecuencia del consumo de Se a la mitad de los requerimientos (Beckett y Arthur, 2005).

Considerando la relación del Se con la función tiroidea, es posible que la carencia del elemento, tenga también repercusiones de Salud Pública. La asociación entre la deficiencia de Se y ciertas formas de cáncer se ha venido documentando extensamente en épocas recientes, así como efectos positivos del aporte del elemento a pacientes con VIH-SIDA (Allan *et al.*, 1999). Una población particularmente expuesta a la deficiencia, es la hospitalaria, cuando los pacientes son mantenidos totalmente con alimentación parenteral baja o carente totalmente del elemento, por largos periodos (Holben, 1999).

TOXICIDAD DE SE

La toxicidad por Se es un riesgo serio en las regiones donde el elemento se encuentra disponible en exceso en los suelos. Originalmente y antes de que conocer su importancia como nutrimento esencial para la vida animal la problemática del Se fue analizada por sus efectos tóxicos (Allan *et al.*, 1999; Driscoll y Copeland, 2003).

El cuadro clínico de intoxicación ocurre en dos formas, la aguda y la crónica. La intoxicación aguda puede ser ocasionada por el consumo, en una sola oportunidad, de plantas seleníferas que

contienen más de 20 mg/ Kg. (Rosenfeld, 1964; Kim y Mahan, 2001) o por la inyección de una sobre dosis de Se, de más de 1.65 mg/Kg. de peso corporal (Millar y Williams, 1940; Mahan y Moxan 1984). A partir de 3 mg/Kg. de peso corporal, por vía oral, pueden ocurrir cuadros de toxicidad aguda de Se, con trastornos motrices, ataxia, diarrea oscura, hipertermia, pulso débil y rápido, respiración dificultada, dolor abdominal, meteorismo, depresión, poliuria, disnea y mucosas pálidas (Morrow, 1982, James *et al.*, 1992). En estos casos a la necropsia se observan en forma dominante hemorragias sistémicas. No hay tratamiento específico conocido para tratar los casos agudos de intoxicación por Se y los animales afectados mueren incluso antes de que se haya establecido el diagnóstico.

La forma crónica de intoxicación por Se, también se llama Enfermedad del álcali y ocurre cuando los animales consumen cantidades de 5 a 20 ppm por mucho tiempo (Goehring *et al.*, 1984^{a, b}; Mahan y Moxan, 1984). En estos casos se presenta parálisis de la lengua, respiración laboriosa y rápida, exceso de saliva, hipotermia, emaciación, anemia, alopecia y deformación de estructuras córneas, uñas y cuernos en su caso (Ekermans y Schneider, 1982; NRC, 1983). A la necropsia se observa degeneración del músculo cardíaco (NAS, 1971).

Los mecanismos bioquímicos de una selenosis siguen siendo oscuros. Es probable que el Se ejerza su efecto tóxico inhibiendo los sistemas de oxido-reducción del organismo. El Se elemental no es tóxico. Cuando el organismo no puede reducir el selenito por deficiencia de glucosa o exceso de selenito, se produce la destrucción celular. El selenito inhibe aparentemente algunos sistemas enzimáticos como el de la succino deshidrogenasa (Anzola, 2001). El exceso en la disponibilidad de Se de los suelos, ocasiona en los vegetales un notable incremento en la producción de selenometionina. Es posible que el consumo de estos forrajes por el animal, promueva la incorporación de selenometionina en las proteínas en lugar de la forma azufrada del aminoácido, generando alteraciones en la estructuración de los puentes disulfuro y en consecuencia en la estructura de la proteína. De ser así, se explica que los cambios detectados en la intoxicación crónica por Se ocurran como se indicó antes en las estructuras cutáneas de queratina, una proteína estructural con alta densidad de puentes disulfuro (Ekermans y Schneider, 1982).

Obviamente la forma más efectiva de evitar la presentación de selenosis en el ganado es diagnosticar adecuadamente el problema, identificar la fuente de intoxicación y procurar evitar el

pastoreo de los animales en potreros con plantas seleníferas o intentar eliminar estas plantas de los potreros en forma selectiva. Cuando la selenosis es consecuencia de tratamientos de suplementación, por supuesto se debe calcular correctamente la dosificación de los suplementos. La fertilización de los campos con azufre puede mejorar la relación azufre/selenio en el suelo y reducir la captación del selenio por los vegetales. El incremento de proteína en la dieta, o la mezcla de alimentos con niveles elevados de selenio con insumos de bajas concentración del elemento, para diluir las concentraciones tóxicas, son estrategias que también han sido señaladas para reducir los efectos tóxicos de los alimentos o dietas de riesgo (Twomey et al., 1977; Crinion y O'Connor 1978; Crinion 1980).

En Irlanda, la presentación de signos clínicos de intoxicación se ha detectado entre los 21 y 90 días de que las vacas fueran introducidas a los campos peligrosos, aún animales que permanecen por corto tiempo en terrenos peligrosos llegan a presentar signos de intoxicación (Twomey et al., 1977; Crinion y O'Connor 1978; Crinion 1980). En Irlanda los suelos peligrosos llegan a presentar 21 mg/kg del elemento (con rangos de 3.2 a 132.0 mg/kg) (Fleming y Parle 1990, citados por Rogers *et al.*, 1990). Los niveles de Se en los forrajes tóxicos de Irlanda presentan promedios de 18 mg/kg, con rangos desde 1.6 a 140 mg/kg. En la India, la toxicosis en bovinos se ha presentado entre los 10 y 42 días siguientes a que los animales fueron alimentados con forrajes, alfalfa o cascarilla de arroz con concentraciones de Se de 0.5 a 6.7 mg/kg MS, producidos en suelos con niveles de 1.0-10.5 mg/kg (Arora *et al.*, 1975, Arora, 1985). Aparentemente los niveles de toxicidad de los suelos y forrajes en la India son menores a los registrados en Irlanda. Por otra parte, mientras los requerimientos de Se en la dieta de los bovinos se han establecido entre 0.10 a 0.18 mg/Kg MS, estos requerimientos en Irlanda son más altos 0.24 a 0.48 mg/Kg MS. Esta condición podría indicar que los animales en las condiciones productivas de Irlanda resultan más tolerantes al Se, suplementado o en condiciones de intoxicación, que los de la India.

IMPLICACIONES

Las muy particulares condiciones en que ocurre la formación de la selenocisteína y su incorporación a las selenoproteínas ha aportado información que permite una mejor comprensión del papel molecular del elemento. De esta información derivan implicancias prácticas relevantes, en cuanto a una mejor valoración y en todo caso incluso a la inconveniencia del uso de la selenometionina como forma de suplementación de este microelemento. Las demostradas relaciones de las selenoenzimas con el metabolismo tiroideo soportan los demostrados efectos negativos de la deficiencia del elemento en parámetros productivos, como la producción de leche y lana y la conversión alimenticia.

La condición del animal gestante ha sido señalada como una situación de riesgo para estas hembras sugiriéndose, pero sin elementos de soporte o en todo caso a partir de indicadores indirectos, que estaría relacionada con el paso del elemento al feto. Por lo que el análisis en particular del metabolismo del Se en el periparto es un área relevante de estudio.

“SELENIUM AND ANIMAL HEALTH” IMPORTANTE, DEFICIENCY, SUPPLEMENTATION AND TOXICITY

Abd Elghany Hefnawy y Jorge Tórtora Pérez
Secretaría de Posgrado, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad
Nacional Autónoma de México.

ABSTRACT

Selenium (Se) is an essential trace element in animal nutrition, and exerts multiple actions related to the animal production, fertility and prevention of diseases. Glutathione peroxidase enzyme (GSH-Px) was the first selenoenzyme demonstrated, that can prevent oxidative damage of the cellular membranes. White muscle disease (WMD) resulted from Se deficiency and was the first condition recognized associated with Se deficiency. WMD determine new born mortality, especially in ruminants, as well as growing and adult animals. Se is critical to thyroid hormone synthesis as it is very important for converting T4 (inactive form of thyroxine) to T3 (active form of thyroxine). A good immune response required Se too. Se status in the soil, plants and animal blood and tissues can be used as a tool of diagnosis of Se deficiency. Diverse forms of Se supplementation were described but many factors affecting it as chemical form, healthy and production condition of the treated animals and previous animal Se level. Acute and chronic Se intoxication (Selenosis) also occurred. Chronic forms are associated a regional seleniferous soils, with permanent or repeated consumption of seleniferous plants. Acute forms are associated with high ingestion of Se with bad formulated diets or salts, or by injection of high doses of parenteral Se products during treatment of the deficiency cases. The relationship and Se metabolism in the fetus, newborn animals and pregnant dam need further investigation.

Key words: Selenium, ruminant, health, selenoproteins

This Project was funded by PAPIIT-UNAM: IN 209 906-2

INTRODUCTION

The importance of the minerals especially microelements in the nutrition and animal health was investigated in the last years. Some diseases by deficiency or toxicity of these elements have been studied and clarified. Se is one of these minerals and has a short margin between deficiency and toxicity requirements. Physiology, biotransformation, pathogenesis, deficiency, methods of supplementation and Se intoxication are considered in the context of the current study.

Se and vitamin E deficiency were associated as the cause of White muscle disease (WMD) in 1957 (Muth et al., 1958 cited by Ammerman y Miller, 1975). Nevertheless, the biological activity of Se began to be understood until 1973 after the discovery of its relationship with Glutathion Peroxidase enzyme (GSH-Px). GSH-Px is essential for protecting cellular membranes from oxidation conditions, specially peroxides interactions with membrane lipids and proteins (Rotruck *et al.*, 1973; Combs and Combs 1986). Now, at least, 4 GSH-Px have been recognized (Beckett and Arthur, 2005). GSH-Px enzyme was firstly isolated from animal erythrocytes and it contains four atoms of Se in the form of selenocysteine (Ammerman and Millar, 1975). Actually 30 selenoproteins have been described, most of them are enzymes and in all of the cases they contain Se in the form of selenocysteine (Beckett and Arthur, 2005). Selenocysteine is the biological active form of the protein incorporated Se and it is tightly regulated (Gabryszuk and Klewicz, 2001). Se of the microorganisms and plants is associated mainly with proteins too. Nevertheless, in this case selenomethionine is the most important Se-aminoacide and is used as supplementation organic-form for animals. Although, selenomethionine is quickly incorporated to the proteins, these proteins donnot demonstrate biological activity, and probably this is not a good form to supplement Se (Jerry *et. al.*, 1997; Allan *et al.*, 1999; Behne y Kyriakopoulos, 2001).

In the human nutrition, the main sources of Se are egg, red meat, specially pig meat, and Tunny-fish. When animal production occurred in a poor Se conditions it may have effect on the public health and causes serious thyroid insufficiency, cardiomyopathy and low fertility. These human Se deficiency diseases have been reported and studied in China and UK. Se deficiency has been associated too with immune response depression related with AIDS and cancer (Holben, 1999; Behne and Kyriakopoulos, 2001; Driscoll and Copeland, 2003; Beckett and Arthur, 2005).

DIGESTIBILITY AND METABOLISM OF SE

In 1979 Se was added to the animal diet in doses of 0.1 mg/Kg dry matter (DM) (FDA, 1979), and in 1989 the recommendation was changed to 0.3 mg/Kg DM (FDA, 1989). Although Stowe and Herdt (1992), recorded that cows received this Se concentration suffered from deficiency of the element. Diet Se utilization in the ruminants is low, 11% in cow (Koenig *et al.*, 1991) and 19% in sheep (Wright and Bell, 1966). Probably this low utilization is a consequence of the formation of Se insoluble products in the rumen and the element may be used by the ruminal microorganisms. Whagner *et al.* (1968), found that adult sheep ruminal microorganisms contain 46 folds more Se concentration than that of the the sheep diet. Nevertheless, this microbial Se would have to be high digestible to the ruminant, probably as selenomethionine.

CONSEQUENCES OF SE DEFICIENCY

Se deficiency induces serious alterations of the animal production and health. Deficiency may affect body weight gain, reduce milk and wool production, increase mortality rate, especially in the growing animals by cardiopathy and reduced immune response. Reproductive disorders have been described with fertility and prolificacy losses and seminal quality diminution (Behne y Kyriakopoulos, 2001). Se helps the organism against oxidant stress and is involved in the metabolism of thyroid hormones. Erythrocytic GSH-Px contains four Se atoms as selenocysteine, which is the biological active form of Se. Se deficiency leading to decrease of the activity GSH-Px enzyme and give the chance to the oxidant radicals to affect the cell membrane, especially mitochondrial membrane. Also the fragility of erythrocytes was increased with consequent anaemia in case of Se deficiency. Oxidant effects are considered as the principal causative components of white muscle disease or nutritional muscular dystrophy, characterised by degenerative changes in the skeletal and myocardial muscles in the growing and adults animals (Norton and McCarthy, 1986; Spears *et al.*, 1986; Gabryszuk and Klewicz, 2001).

Se deficiency occurs when the soil contains low level of the element (less than a 0.5 mg/Kg) or high concentration of another elements which reduce or hinder Se utilization by the plants, that will contain low level of Se (less than 0.1 mg/Kg.) (Smith and Sherman, 1994; Pugh, 2002). High relationship was occurred between soil, forage and animal tissue Se concentrations (Sheppard *et al.*,

1984; Ramírez *et al.*, 2001^{a,b}). Nevertheless Se deficiency may occur too when the animals fed poor quality hay or straw or lack access to the pasture. Also high concentrations of other minerals (calcium, sulfur or copper) or feed contaminants (nitrate, polyunsaturated fats) may decrease small intestine Se absorption (Smith and sherman, 1994; Pough, 2002).

Se deficiency has been demonstrated in all animal species, but ruminants are specially affected, young animals suffering from characteristic degenerative myocarditis which causing mortality, while in older animals, muscular dystrophy is the principal clinical picture. The two forms are not mutually exclusive (Ramírez *et al.*, 2001; Ramírez. *et al.*, 2004; Ramírez. *et al.*, 2005). This ruminant predisposition to deficiency is attributed to reticule-ruminal ambient which promotes insoluble Se forms and to the utilization of the element by the ruminal microorganisms that generated selenoaminoacids, selenocysteine and selenomethionine (Harrison and Conrad, 1984a,b; Harrison, *et al.*, 1984, Smith, *et al.*, 1984). Selenomethionine is poorly metabolized by the animals and didnot generate active selenoproteins or selenoenzymes (Allan *et al.*, 1999; Behne and Kyriakopoulos, 2001). These situations may explain the low significant Se absorption or biological activity in the ruminants than that of the monogastric animals (29-35% in ruminant and 77-85% in monogastric) when Se is administered by oral rout (Sarabia-Martínez, 2004). White muscle disease (nutritional myopathy) has been more reported in ovine than in bovine (Anzola, 2002).

THE SELENOPROTEINS

Se was discovered as the main active structure of GSH-Px in 1973, since this date more than 30 selenoproteins were discovered. Most of the Se in animals is associated with protein, and incorporated in selenoproteins as selenocysteine (Sec) (Behne and Kyriakopoulos, 2001; Driscoll and Copeland, 2003). Selenocystein incorporation is encoded by UGA codon in messenger RNA, a codon normally used to protein termination (Allan *et al.*, 1999; Behne and Kyriakopoulos, 2001). Insufficient Se intake, results in a preferential supply of the element, in a hierarchy protein expression of certain Se-containing proteins. GSH-Px is the last in this ranking order (Behne and Kyriakopoulos, 2001).

The known selenoproteins can be divided into three groups: proteins into which the element is incorporated nonspecifically, specific-binding proteins, and specific proteins that contain Se in the form of genetically encoded selenocysteine (Behne and Kyriakopoulos, 2001).The use of

selenomethionine as a source of Se, increase the protein Se contents in mammal and bacterial cells *in vivo* and *in vitro*. Nevertheless this incorporation depends of the ratio selenomethionine and methionine in a competition process between them and it is influenced by their relatives' concentrations. Selenomethionine incorporation generates a non active biological form of the protein and this nonspecific Se incorporation results in a decreased of the selenoenzymes specific activity (Allan *et al.*, 1999; Behne and Kyriakopoulos, 2001).

Se deficiency has been associated with skin cancer development increase. Ultraviolet radiation modifies the expression of selenoprotein in human cultured skin cells (melanocytes, fibroblast, and keratinocytes) and they tumor transformation. Selenium supplementation form is an important factor in preventing cell transformation. Selenite is 10 times more efficient to protect cells than selenomethionine equivalent medium supplementation. Nevertheless the last is more effectively utilized by cells in protein synthesis, but nonspecific Se incorporation reduces the protective effect (Allan *et al.*, 1999).

Se is incorporated in the specific selenoproteins as selenocysteine the mayor active biological form of the element. The expression and activity of these proteins is affected by Se supplementation (Allan *et al.*, 1999; Behne and Kyriakopoulos, 2001). Incorporation of selenocysteine use UGA codon, UCA anticodon, which normally serves as a termination signal and a specific translation factor, is needed to recognize the selenocysteine insertion. The biosynthesis of selenocysteine use serine-tRNA that is achieved by selenophosphate reaction in selenocystyl-tRNA (Sec-tRNA). This reaction is mediated by selenophosphate synthetase 2 (SPS2) that is the unique selenoprotein expressed in both eukaryotic and prokaryotic cells and acts as Se donor for the synthesis of selenocysteine (Driscoll and Copeland, 2003). Selenate is reduced to selenite and then to selenophosphate which acts as precursor of selenocysteine. In contrast selenomethionine transformation to selenocysteine is too difficult and then is considered as a minor source of selenocysteine (Allan *et al.*, 1999; Behne and Kyriakopoulos, 2001).

The response against Se deficiency differs from organ to organ. In severe Se deficiency in rats the Se concentration was less than 1% in liver, muscles and blood but increase to 60% in the brain, followed by spinal marrow, pituitary, thyroid, ovaries and adrenals. Within most of the tissue, GSH-Px was the last preferentially supplied and plasmatic GSH-Px was the later. In case of lack of Se the hierarchy synthesis of selenoenzymes may be controlled by many factors included mRNA stability

(Behne and Kyriakopoulos, 2001). GSH-Px and type I 5-Iodothyronin deiodinase (5-DI) synthesis were minimum in a poor Se-serum cell culture, when selenite was added to the media (0.5nM) 5-DI activity increased rapidly. Nevertheless GSH-Px activity increased until the level of selenite was 1nM. The different expression of this enzymes depended of the stability of their mRNA at different Se concentration (Allan *et al.*, 1999).

The preferentially supply of Se in the tissue and the process of enzymatic synthesis may reduce the effect of Se deficiency. *Knock-out* mice to Sce-tRNA gene resulted in early embryonic mortality, whereas in rats fed a chronic Se deficient diet no mortality increase could be observed (Behne and Kyriakopoulos, 2001). The metabolic importance of selenoproteins in contrast with the thiol-group in the cysteine-containing enzymes depends that the selenol is fully ionized at normal physiological pH and that under comparable conditions it is much higher reactivity than the thiol-group (Driscoll and Copeland, 2003). Two selenoproteins selenoprotein P (plasmatic) and selenoprotein W (muscular) are non-specific selenoproteins with unclear function, which may act as Se carriers or stored proteins (Kyriakopoulos, 2001; Driscoll and Copeland, 2003).

SE AND THYROID

Se has been demonstrated recently in other enzymes, as thyroid peroxidase and deiodinases, which participate in the thyroid hormone synthesis and transformation from the inactive form T₄ to active T₃ (Beckett and Arthur, 2005). Thyroid lesion and dysfunction have been demonstrated in Se deficiency with or without iodine deficiency (Tórtora, 1979; Köhrle *et al.*, 2005). Thyroxine is a very important hormone that regulates general metabolism, body temperature, reproduction, circulation and muscle function (Combs and Combs, 1986). Thyroid hormone is secreted as inactive form tetraiodothyroxine (T₄) and Se is required for its conversion into the more active triiodothyroxine (T₃) by selenoenzyme deiodinases (Beckett *et al.*, 1987).

Nutritional deficiency of Se causes a significant plasma T₃ decrease, T₄ increase and inhibition of the deiodinases activity in the liver which responsible for the most of converting process of T₄ to the active T₃ (Beckett *et al.*, 1992; Beckett *at al.*, 1993; Awadeh *et al.*, 1998 ; Wichtel *et al.*, 1996; Rock *et al.*, 2001). Thompson *et al.* (1995), recorded in Se deficient rats that, plasma T₃ concentration was reduced 23%. While Arthur *et al.* (1988), reported that calves fed Se deficient diet had lower plasma

T₃ and higher T₄ at 20-23 weeks of age, compared to Se supplemented calves. Plasma concentration of T₃ of calves that supplemented with ruminal bolus which librates 3 mg of Se / day was significantly higher than that of calves fed on the basal diet that contains 0.3 mg of Se / Kg DM (Wichtel *et al.*, 1996).

SE AND IMMUNITY

Jendryczko, (1994), reported that Se administered in various forms performs as an immunostimulating agent, however, the relationship between general Se status and immune system was particularly complex. Se is an immunostimulating agent only under certain conditions and adequate concentrations.

Larsen, (1988), reported no significant differences in serum IgG concentrations of Se-supplemented lambs with 0.1, 0.5 or 1.0 ppm. as selenite or selenomethionine, however, ewes supplemented with Se as selenite or selenomethionine, had higher antibody titers compared to un-supplemented ewes. In Egyptian buffaloes humoral and cellular immune responses were enhanced by Se /vitamin E treatment (Hoda *et al.*, 1993). High serum IgG concentration was observed in Vitamin E/Se supplemented calves (Larsen, 1988; Larsen, 1993). Se supplementation in cows' increased plasma and colostrum IgG concentrations (Swecker *et al.*, 1995; Awadeh *et al.* 1998, 1998b.). Cows supplemented with 120 ppm Se in a mineral salt mixture had higher colostrum IgG levels, and as consequence their calves had higher plasma IgG concentrations. Pregnant ewes Se supplementation increased Se-concentrations in their blood and colostrum, in blood and liver of their lambs as well increased IgM concentrations in the ewes and the IgG absorption in newborn lambs (Rock *et al.*, 2001).

Goats fed Se–inadequate diet demonstrated depressed polymorphonuclear leukocyte (PMN) functions and immune response that were associated with changes in GSH-Px levels (Aziz *et al.*, 1984; Wichtel, 1998). Se deficiency may selectively impair leukocyte migrating inhibitory factors (LMIF) production and hence the ability of lymphocyte to modulate neutrophil migration (Aziz and Klesius, 1985; and Drock; Loearch 1989). Neutrophils from Se-supplemented cows killed phagocyte *Staphylococcus aureus* more efficiently than cells from un-supplemented cows (Grasso *et al.*, 1990). The ability of neutrophilic granulocytes to kill phagocyte *Candida albicans* was depressed in Se-

deficient cows. Lack of Se reduced leukotrienes production by polymorphonuclear leukocytes and lowers neutrophils chemotaxis (Elias *et al.*, 1996).

Se deficiency determines impaired immune function and reduced T-cell counts, as well as various specific disorders (Taylor, 1995). Se deficiencies may affect both the maturation of specific lymphocyte subpopulations and their functional and proliferative capabilities (Chnag *et al.*, 1994). Pollock *et al.*, 1994, found that alpha-tocopherol and Se had interactive effects on lymphocyte antigen responses and suggested that micronutrient status is important when interpreting the results of *in vitro* assay of lymphocyte functions.

MUSCULAR PATHOLOGY OF SE DEFICIENCY

White muscle disease is characterized by the presence of Zenker degeneration in muscular fibers, particularly in the high metabolic muscles as diaphragm, intercostals, gastrocnemius and myocardial muscle, the last especially in newborn ruminants (Silva *et al.*, 2000). Necrotic and calcified muscles (white muscle) can be seen at the macroscopic examination in severe deficiency advanced cases; nevertheless the common observation is a symmetric pale muscular lesion.

The main pathological observations in affected animals are degenerative lesions of the myocardial and skeletal muscles known as nutritional muscular dystrophy. Some muscles fibers appear swelling and hyaline, necrotic, calcified and associated with macrophages and fibroblasts infiltration, whereas in others cells nuclear proliferation is present. Macrophage infiltration and nuclear proliferation determined a characteristic great amount of nucleus in tissue microscopic examination (Hulland, 1985; Ross *et al.*, 1989; Bostedt and Schramel, 1990; Ramírez *et al.*, 2001; Beytut *et al.*, 2002). Myocardial lesion may cause sudden death in growing animals especially in the first two months of the age; and the heart in some cases appeared pale or white as “boiled meat”. Skeletal muscular lesions are more common in adult animals and determined abnormal gait and posture especially when the animal try to get up.

REPRODUCTIVE ASPECT

In males, including man, Se-deficiency induced loss of fertility, with spermatozoid middle piece anomalies that occurred during testicular spermatogenesis. Midpiece contains a dependent Se-

GSH-Px4 associated with nuclei, mitochondrial and cytosol (Beckett and Arthur, 2005) this enzyme is essential for the maturation of the sperms (Behne and Kyriakopoulos, 2001).

The female reproductive performance may be improved with Se or Se-vitamin E supplementation (Hartley and Grant, 1961a; Hartley, 1961b; Scales, 1974). In ewes of 2 years old, while positive effect of Se supplementation on the fertility was observed (Appeddu *et al.*, 1994); similar results were reported by other workers (Segerson and Ganapathy, 1980). Nevertheless Gabryszuk and Klewicz, 2002, found that Se-vitamin E supplementation had not any effect on estrous presentation or on fertility. In a Mexico area with low Se soils contents Se-supplementation cannot improve goat's fertility (Ramírez *et al.*, 2005). Se injection during the dry period in cows may help the control of puerperal disorders as metritis (Harrison *et al.*, 1984) or retained placenta (Julián *et al.*, 1976).

DIAGNOSIS OF SE DEFICIENCY

Determination of Se in the forage and soil can be considered as a good tool for deficiency diagnosis. Not only Se-concentration in the soil is important, another factors may affect mineral concentrations in forage and the ability of the animal to obtain the needed microelements, as type of the soil, presence of competitive elements, contamination, climatic conditions, and age of the plants (Georgievskii *et al.*, 1982). There are strong relationships between Se-concentrations in soil, plants and animal tissue (Pastrana *et al.*, 1991). Volcanic soils practically not contain Se or have competitive elements (sulphates), plants that grow them suffering deficiency and consequently animals will suffer too (Hansen *et al.*, 1993, Ramírez *et al.*, 2001). The methylselenocystein is the major seleniferous component in the plants as garlic and onion (Whanger, 2002).

Concentration of Se in the animal tissues, particularly liver and kidney, had been used to establish animal Se status. Tissues GSH-Px activity (blood, liver, kidney) may be a more accurate indicator of Se adequacy than Se contents of the tissues (Ammerman and Miller, 1975; Puls, 1994). Se content in the liver and muscles of beef cattle was increased when it was provided as sodium selenite or Se from natural sources (Ullery *et al.*, 1977). Concentrations of Se in various tissues are an available indicator of animal Se status. Dry matter Se-values in cattle fluctuated between organs 3.5-5.3mg/g. (67-101 nmol/g) in the kidney cortex and 0.90-1.75ug/g. (11-22 nmol/g) in live liver

indicate adequate Se supply. On the other hand 0.6-1.4 ug/g. (8-18 nmol/g) in kidney cortex and 0.07-0.60ug/g (0.9-8nmol/g) in liver represented a deficient state. There are positive correlations between feed Se contents and tissues and blood of animals (Blood *et al.*, 1983; Stowe and Herdet, 1992). The liver is considered to be the major body storage site for Se and perhaps the organ best to reflect the Se status of the animal (Mahan *et al.*, 1975; Mahan y Kim 1996).In pigs with adequate plasma Se level, fetal liver contains Se less than that of the maternal liver, while the fetal Se level was decreased in pigs that born from sow fed Se deficient diet (Hostetler y Kincaid, 2004).

Although the muscle mass contains more total Se than does in the liver (Levander, 1986).In sheep Se was found in high concentration in the kidney, followed by the liver, pancrease, heart and finally heart and skeletal muscles (Combs y Combs, 1986), while Rock *et al.* (2001), found that the liver tissue contains the highest Se concentration than that of the heart and skeletal muscles in the newborn lambs.Generally, liver, kidney, heart and skeletal muscles increased in the Se concentration as dietary Se level increased (Cristaldi *et al.*, 2005).

SUPPLEMENTATION

White muscle disease could be prevented with a Se-supplemented diet, since the disease is most serious in lambs and kids from Se-deficient mothers. Supplementation of the regnant dams will help in reducing the disease occurrence in the newborn animals. Se is transferred from the dame to the fetus across the placenta and also is present in colostrum and milk. A complete supplemented ration for sheep needs a Se-level up to 0.3 ppm/Kg DM. Se-mineral mixtures with 90 ppm as long have been used too. In all cases Se-intake doesn't exceed 0.7 mg/ head / day. Injectable Se compounds were available to prevent white muscle disease; however injections are considered a poor alternative compared to adequate Se-diet. Ideally the diet for sheep or goats should contain 0.10 to 0.30 ppm of Se by Kg DM (Smith and Sherman, 1994; Ullery *et al.*, 1978).

Abdelrahman and Kincaid, (1995), reported that non-lactating cows with daily intake of approximately 1mg Se /day were unable to maintain blood Se-concentration during gestation. As well Wiess *et al.* (1984), found that, cow supplemented with 5 mg Se /day during the non-lactating period had high Se concentration at parturition than the cows supplemented with 1mg Se / day. Calves had for 6 weeks intraruminal Se pellets that estimated release 3mg Se /day demonstrated significantly higher

plasma T₃ and lower T₄ compared with calves fed a basal diet (0.3 mg Se /Kg. DM.). (Wichtel *et al.*, 1996).

Sodium selenite and sodium selenate by oral administration or parenteral injection had prevented the clinical signs of Se deficiency and animal losses in both ruminants and non-ruminants animals. Heavy ruminal-pellets containing elemental Se have proved effective too. In general, organic forms of Se were absorbed more readily by the animals than inorganic salts (Ammerman and Miller, 1975). Nicholson *et al.* (1991), reported that Se-organic salts were more effective than inorganic in raising blood concentration in calves at 4 months of age. However Suomi and Alaviuhkola, (1992), found that pigs supplemented with organic and inorganic Se-salts did not differ significantly in Se concentrations in blood and liver tissue.

The four methods used for sodium selenite supplementation were subcutaneous injection, intraruminal pellet, water addition or oral supplementation and they were effective for four months to one year period after treatment according to the method used (MacPherson and Chalmers, 1984; Kott *et al.*, 1983). The supplement method choice for treatment depends on the circumstances and including cost, husbandry system and ease of administration.

Jimenez *et al.* (1998), concluded using sodium selenite and Se plus albendazole at the doses of 0.03 mg Se / Kg. live weight subcutaneously and 0.126 mg Se / Kg. live weight and per os such as barium selenate (1 mg Se /Kg live weight S/C.) were not capable to prevent Se deficiency in both ewes and their lambs. Diet contains approximately 0.3 ppm Se and 110 IU of vitamin E during the entire dry period plus injection of 50 mg Se and 300 IU of vitamin E, 21 days prior to estimate calving, maintained adequate concentrations of Se in blood and plasma during the dry period in cattle (Weiss *et al.*, 1990). Enjalbert *et al.* (1999), found in Se-deficient beef cows that oral prepartum supplementation with 13.0 mg of Se / day for 15 days, allowed adequate Se status of dams and calves. While 45 mg. of Se / day, resulted in a faster improvement of Se status, whereas parenteral administration of 1.38 mg of Se to the newborn calves from deficient cows didn't sustain normal Se status.

PREGNANT ANIMALS, FETUS AND NEWBORN

Transfer of nutrients from dam to the fetus and offspring occurs by placental transfer and colostrum-milk ingestion. The amount of nutrients transferred to the offspring depends on the maternal

nutrient status and efficiency of the trans-placental and mammary transport mechanisms. Se is well transported through the placenta to the fetus, even in low maternal concentration of Se (Koller *et al.* 1984; Abd Elghany *et al.*, 2007). The dam can sacrifice their Se contents to maintain their fetus status, a reduction in Se-maternal plasma was observed with the progress of gestation (Koller *et al.*, 1984; Beckett and Arthur, 2005; Abd Elghany *et al.*, 2007). In monotocous ewes, all fetal tissues Se-concentration declined during the third trimester of pregnancy, since 100 to 148 days of gestation (Langlands *et al.*, 1982; Grace, *et al.*, 1986).

Information about fetal Se-contents and their relationship with gestational age is limited and contradictory. In bovine fetal liver Se-content increase significantly with gestation progress, as well as the maternal liver if Se-diet of the dam was increased (Goonerante and Christensen, 1989). Nevertheless Abd Elrahman and Kincaid, 1993, indicated that bovine fetal hepatic Se increased from day 145 to 195 of the gestation and then decreased until the day 245. Age of the fetus did not affect the fetus renal Se-concentration (Cristaldi, *et al.*, 2005). William and Alan (1994), found that bovine fetal liver Se-content had no significant changes in late gestation, while maternal liver Se decreased significantly. There were positive relationships between Se concentrations in the blood, plasma and liver of calves and maternal plasma levels at parturition (Kincaid and Hodgson, 1989; Abd Elrahman and Kincaid, 1995). These results suggest that cows, similar to ewes, sacrifice their Se-status to maintain the fetus. Consequently late gestation is a female high mobilization Se period that transfers the element to the fetus and to colostrum and milk (Van Saun *et al.*, 1989).

Se concentration in fetal membranes is less than fetal fluids and both increased with fetus age (House and Bell, 1994). Some investigations found that pregnancy Se supplementation may improve newborn calves body weight gain (Castellan *et al.*, 1999; Wichtel *et al.*, 1996) while others indicated that it no effects (Awdeh *et al.*, 1998; Gunter *et al.*, 2003; Rowntree *et al.*, 2004; Rock *et al.*, 2001).

SE DEFICIENCY IN HUMAN

When the soil has limited concentrations of the element, plants and animals present low level of the element and human who consume these plants or animal products (eggs, meat, milk) suffer Se-deficiency. Human adequate requirements have been established about 60-75 µg/day. The main source of Se is red meat, especially pork meat, 49.9 µg/100g, which contains double amount of Se than beef

meat 28.1 µg /100g or poultry meat 23.9 µg/100g. Pork liver contains high concentration of Se 57.0 µg/100g. Milk and milk products have low level of Se. Tunny-fish is an important source of Se with about 80.4 µg/100g. Cereals have low level of Se as well as fruits and vegetables (Holben, 1999).

In areas with low Se-levels in soil, human deficiency effects have been diagnosed as cardiomyopathy which is endemic in some regions of China, osteoarthopathy in Asia (Behne and Kyriakopoulos, 2001; Beckett and Arthur, 2005), hypothyroidism and myxoedema in Central Africa (Holben, 1999; Beckett and Arthur, 2005), low fertility and low semen quality in Scotland (Beckett and Arthur, 2005). Recently relationships between Se deficiency and cancer incidence are documented, as well the positive effect of supplementation treatment in AIDS (Allan *et al.*, 1999). Hospitalization and parenteral feeding for long periods may lead to Se deficiency (Holben, 1999).

SE TOXICITY

Se toxicity (selenosis) is a serious threat to livestock, selenosis can occur in all animal species in its two forms acute and chronic. Acute toxicity is caused by the consumption, usually in a single feeding, of a high seleniferous plants that contain more than 20 mg Se/Kg. (Rosenfeld, 1964; Kim and Mahan, 2001), or by the parenteral administration of a overdose more than 1.65 mg Se/Kg BW (Millar and Williams, 1940; Mahan and Moxan 1984). Death occurs within a few hours. Sheep and goat are the most likely species to be affected. Many studies have been shown that minimum lethal dose was 3 mg Se/kg BW. Selenosis signs include: abnormal movement, dark watery diarrhea, elevated body temperature, weak and rapid pulse, labored respiration, bloating and abdominal pain, cyanotic or pale mucous membranes and dilated pupils (Morrow, 1982, James *et al.*, 1992). There is no known treatment to reverse poisoning effects, and animal dies although diagnosis can be made.

The chronic form occurs with doses of 5 to 20 ppm and depends of the chemical form and if selenium is ingested or parenteral administrated (Olson *et al.*, 1954; Goehring *et al.*, 1984 a, b; Mahan and Moxan, 1984). The toxicity resulted from eating plants or grains with protein bound insoluble Se, is called Alkali disease. The disease can affect all livestock. General symptoms include: lack of vitality, anemia, emaciation, stiffness of joints, lameness, rough coat with loss of long hair (Olson *et al.*, 1954), hoof sloughing and deformities (Ekerman and Schneider, 1982; NRC, 1983), myocardial degeneration (NAS, 1971) and metabolic problems with ATP synthesis (Buck, 1981).

The biochemical mechanism of selenosis is unknown but it may be related with enzymatic systems activity reduction. When Se is administered as selenat is reduced to selenit and then transported to the liver and spleen where it will be reduced to elemental Se by glucose. The elemental Se is not toxic, but when the selenat can not be reduces to selenite due to lack of glucose or excessive amount of selenat it leads to selenosis and inhibits enzymatic system as succinat-dehydrogenize (Anzola, 2001).

The most effective way to prevent selenosis is removing the animals from seleniferous area or using the recommended doses of the Se preparations during the treatment of the Se deficient cases. Soil treatment with sulfates to change sulfur/Se ratio, can sometimes depress Se uptake by plants. Higher protein diets reduce in many cases Se toxicity and the animals lived for a few more days than animals fed low protein diet. Dilution of high Se feed with low Se feeds in mixed ration will help to reduce toxicity. Animals from Se-toxic Ireland farms may develop signs within 21-90 days that being confined to these fields (Twomey *et al.*, 1977; Crinion and O'Connor 1978; Crinion 1980).

Animals which are left for only a short time to the toxic fields seldom develop signs. Nearby fields, typically more elevated than the toxic fields, are often safe and usually have Se-levels much lower. Ireland toxic fields average 21 mg Se /kg, with ranges between 3.2 to 132.0 mg/kg and occasionally values above this; 50% of values exceed 9 mg/kg and 90% exceed 5 mg/kg (Fleming and Parle 1990). Se in herbage and cereal grain is associated with the protein fractions, substitutes sulphur in S-containing amino-acids, such as cystein and methionin. Selenium in Se-methionine is thought to be more bio-available than equal amounts from sodium selenite. Selenium levels in Se-toxic Irish pastures average 18 mg/kg with ranges between 1.6 to 140 mg/kg DM; 50% of values exceed 6 mg/kg DM and 90% exceed 3 mg/kg DM. (Arora *et al.*, 1975, Arora, 1985).

In India, Se poisoning in cattle was demonstrated 10-42 days before animals feed rice straw, lucerne or berseem with Se levels between 0.50-6.7 mg/kg DM. These forages were produced in soils with 1.0 to 10.5 Se mg/kg (Arora *et al.*, 1975, Arora, 1985). Indian toxic levels of Se in feed and soil were lower than Ireland levels. International standards for Se requirement in cattle are usually 0.10-0.18 mg/kg DM but this in Irish Republic are considerably higher, 0.24-0.48 mg/kg DM. This mayor Se requirement suggested animal tolerance or competitive conditions that may explain the higher levels needed to produce toxicity in Irish cattle.

IMPLICATIONS

The especial conditions of formation of selenocysteine and its incorporation in the selenoproteins indicate the major role of Se in the suitable condition of using of the selenomethionine as a form of supplementation of this microelement. The relationship between selenoenzymes and thyroid metabolism indicates the negative effect of Se deficiency on some of the productive parameters as milk and wool production, as well as, the conversion rate.

The pregnant animal status was presented a very serious situation which may be related to the transportation of the element to the fetus, so investigation of Se metabolism in the peripartum period is an importante area for studying.

REFERENCIAS (REFERENCES)

- Abd El Ghany, A.H., R. López A., A. Revilla V., E. Ramírez B., J. Tórtora P. 2007. The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats. *Small Rum. Res.* 73,174-180.
- Abd Elrahman, M.M., Kincaid, R.L. 1993. Deposition of copper, manganese, zinc and selenium in bovine fetal tissues at different stage of gestation. *J. Dairy Sci.* 76: 3588-3593.
- Abd Elrahman, M.M, Kincaid, R.L. 1995. Effect of selenium supplementation on maternal transfer of selenium in the bovine. *J. Dairy Sci.* 78: 625–630.
- Allan, Ch.B, Lacourciere, G.M. and Stadtman, Th.C. 1999. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Annu. Rev. Nutr.* 19:1-16.
- Altimira, J., Prats, N., Lopez, S. 2000. Effect of selenium deficiency on the development of central nervous system lesions in murine listeriosis. *J Comp. Pathol.* 123: 104-109.
- Ammerman, C.B., Miller, S.M. 1975. Selenium in ruminant nutrition: Review. *J. Dairy Sci.* Vol. 58, No. 10: 1561–1571.
- Anzola, H.J. 2001. Selenio orgánico. <http://www.encolombia.com/acovez2482>.
- Appeddu, L.A., Ely, D.G., Aaron, D.K., Deweese, W.P. 1994. Response of lactating ewes to injections of selenium and vitamin E. *J. Anim. Sci.* 72 (1): 11.
- Arora, S.P., Parvinder, K., Khirwar, S.S., Chopra, R.C., Ludri, R.S. 1975. Se levels in fodders and its relationship with Degnala Disease. *Indian J. Dairy Sci.*, 28, 249-253.
- Arora, S.P. 1985. Livestock problems related to geochemistry in India including selenium toxicity and goitre. *Proc. 1st International Symposium on Geochemistry and Health (London)*. pp 164-180.
- Arthur, J.R., Morrice, P.C., Beckett, G. J. 1988. Thyroid hormone concentrations in selenium deficient and selenium sufficient cattle. *Res. Vet. Sci.* 45:122–23.
- Awadeh, F.T., Kincaid, R.L., Johnson, K.A. 1998. Effect of level and sources of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. *J. Animal Sci.* 76, 1204–1215.
- Aziz, E.S., Klesius, P.H., Frandsen, J.C. 1984. Effect of selenium on polymorphonuclear leukocyte function in goats. *Am. J. Vet. Res.* 45: 1715.
- Aziz, E.S., Klesius, P.H. 1985. The effect of selenium deficiency in goats on lymphocyte production of leukocyte migration inhibitory factor. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 10: 381–390.

- Beckett, G.J., Beddows, S.E., Morrice, P.C., Nicol, F., Arthur, J.R. 1987. Inhibition of hepatic deiodination of thyroxin is caused by selenium deficiency in rats. *Biochem. J.* 248: 433 – 437.
- Beckett, G. J., Nicol, F., Rae, P.W., Beach, S., Guo, Y., Arthur, J.R. 1993. Effects of combined iodine and selenium deficiency on thyroid hormone metabolism in rats. *Am. J. Clin. Nutr. Suppl.* 57: 2405 –2435.
- Beckett, G.J., Arthur, J.R. 2005. Selenium and endocrine systems. *J. Endocrinol.* 184: 455-465.
- Behne, D., Kyriakopoulos, A. 2001. Mammalian selenium-containing proteins. *Annu. Rev. Nutr.* 21:453-473.
- Beytut, E., Karatas, F., Beytut, E. 2002. Lambs with white muscle disease and selenium content of soil and meadow hay in the region of Kars, Turkey *Vet. J.* 263: 214-217.
- Bostedt, H., Schramel, P.1990. The importance of selenium in the prenatal and postnatal development of calves and lambs. *Biol. Trace Element Res.* 24: 163-171.
- Burck, R.F. 1994. Selenium in biology and human health. Springer-Verlag Ed., N.Y.
- Castellan, D.M., Mass, J.P., Gardner, I.A., Oltejen, J.W., Sween, M.L. 1999. Growth of suckling beef calves in response to parenteral administration of selenium and the effect of dietary protein provided to their dams. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214: 816 – 821.
- Chang, W.P., Hom, J.S., Dietert, R.R., Combs, G.F., Marsh, J.A. 1994. Effect of dietary vitamin E and selenium deficiency on chicken splenocyte proliferation and cell surface marker expression. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 16, 203–223.
- Combs, G. F., Combs, S. B. 1986. The role of selenium in nutrition. Academic Press, New York 1986.
- Crinion, R.A.P., O'Connor, J.P. 1978. Selenium intoxication in horses. *Irish Vet. J.*, 32, 81-86.
- Crinion, R.A.P. 1980. Distribution of selenium intoxication in Co. Meath: A retrospective study. *Irish Vet. J.*, 33, 123-127.
- Cristaldi, L.A., McDowell, L.R., Buergelt, C.D., Davis, P.A., Wilkinson, N.S. Martin, F.G. 2005. Tolerance of inorganic selenium in wether sheep. *Small Rum. Res.* 56: 205-213.
- Driscoll, D.M., Copeland, P.R. 2003. Mechanism and regulation of selenoprotein synthesis. *Ann. Rev. Nutr.* 23: 17-40

- Droke, E.A., Loerch, S.C. 1989. Effects of parenteral selenium and Vitamin E on performance health and humoral immune response of steers new to the feed lot environment. *J. Animal Sci.* 67: 1350–1359.
- Ekermans, L.G., Schneider, J.V. 1982. Selenium in livestock production: A review. *J. South Afr. Vet. Assoc.* 53: 223-228.
- Elias Jukola, Juhani Hakkarainen, Hannu Soloniemi, Satu Sankari 1996. Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and B-carotene concentrations and udder health, fertility treatment and fertility. *J. Dairy Sci.* 76: 838–845.
- Enjalbert, F., Lebreton, P., Salato, O., Schelcher, F. 1999. Effects of pre- or postpartum selenium supplementation on selenium status in beef cows and their calves. *J. Animal. Sci.* 77: 223–229.
- Food and Drug Administration (FAD) 1979. Food additives permitted in feed and drinking water of animals. *Selenium fed. Reg.* 44: 5392.
- Food and Drug Administration (FAD) 1989. Food additives permitted in feed and drinking water of animals. *Selenium fed. Reg.* 52: 10668.
- Gabryszuk, M., Klewicz, J. 2002. Effect of injecting 2-and 3-year-old ewes with selenium and selenium–vitamin-E on reproduction and rearing of lambs. *Small Rum. Res.* 43: 127-132.
- Georgievskii, V.I., Annenkov, B.N., Samokhin, V.T. 1982. *Mineral Nutrition*, Butterworth, London, 475 pp.
- Goehring, T.B., Palmer, I.S., Olson, O.E., Libal, G.W., Wahlstorm, R.C. 1984a. Effects of seleniferous grains and inorganic selenium on tissue and blood composition and growth performance of rats and swine. *J. Anim. Sci.* 59: 725-732.
- Goehring, T.B., Palmer, I.S., Olson, O.E., Libal, G.W., Wahlstorm, R.C. 1984b. Toxic effects of selenium on growing swine fed corn-soybean meal diet. *J. Anim. Sci.* 59: 733-737
- Goonerante, S.R., Christensen, D.A. 1989. Survey of maternal and fetal tissues zinc, iron, manganese and selenium concentrations in bovine. *Can. J. Anim. Sci.* 69: 151.
- Grace, N.D., Watkinson, J.H., Martinson, P.L. 1986. Accumulation of minerals by the fetus (es) and conceptus of single and twine-bearing ewes. *N.Z. J. Agric. Res.* 29: 207.
- Grasso, P. J., Scholz, R. W., Erskine, R.J., Eberhart, R. J. 1990. Phagocytosis, bactericidal activity and oxidative metabolism of milk neutrophils from dairy cows fed selenium supplemented and selenium deficient diet. *Am. J. Vet. Res.* 51: 269.

- Groff, J.L., Gropper, S.S., Hunt, S.M. 1995. Microminerals. In: *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Minneapolis: West Publishing Company, Minneapolis, p. 381-384.
- Gunter, S.A., Reck, P.A., Phillips, J.K. 2003. Effects of supplementary selenium source on the performance and blood measurements in beef cows and their calves. *J. Anim. Sci.* 81: 856 – 864.
- Harrison, J. H., Conrad, H. R. 1984a. Effect of selenium intake on selenium utilization by the non-lactating dairy cow. *J Dairy Sci.* 67: 219-223.
- Harrison, J. H., Conrad, H. R. 1984b. Effect of dietary calcium on selenium absorption by the non-lactating dairy cow. *J Dairy Sci.* 67: 1860-1864.
- Harrison, J. H., Hancock, D. D.; Conrad, H. R. 1984. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J Dairy Sci.* 67: 123-132.
- Hartley, W.J. 1961. Selenium treatment of animal diseases and unthriftiness. *NZ J. agric.* 103: 475 – 483.
- Hartley, W.J, Grant, A.B. 1961. A review of selenium responsive diseases of New Zealand livestock. *Fed Proc.* 20: 679 – 688.
- Hidirglou, M., Lessard, J. R. 1976. The effect of selenium or vitamin E supplementation on volatile fatty acids content of rumen liquor in sheep fed a purified diet. *Int. J. Vitam. Nutri. Res.* 46: 458–463.
- Holben, D.H. 1999. The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. *J. Am. Diet. Assoc.* 99: 836-843.
- Hoda, A., Omaima, H., Mohamed, F.F. 1993. Effect of prepartum and postpartum vitamin E and selenium supplementation on serum electrophoreses and some reproductive patterns of Egyptian buffaloes. *Alex. J. Vet. Sci.* 9: 33–36.
- Hostetler, C.E., Kincaid, R. L. 2004. Gestational changes in concentrations of selenium and zinc in the porcine fetus and the effects of maternal intake of selenium. *Biol. Trac. Elem. Res.* 97: 57-70.
- House, W.A., Bell, A.W. 1994. Sulfur and selenium accretion in the gravid uterus during late gestation in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77: 1860-186
- Hulland, T.J. 1985. Muscles and tendon. In *pathology of domestic animals*, Third Ed., Eds K. V.F. Jubb, P.C. Kennedy & N. Palmer. Vol. 1, pp. 140-195 London: Academic Press Inc.

- James, L.F., Smart, R.A., Shupe, J.L., Browns, J., Shoenfeld, J., 1992. Suspected phytogetic selenium poisoning in sheep. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 180: 1478-1481.
- Jendryczko, A. 1994. Modulatory properties of selenium in immune processes. *Wiadomosci Lekarskie.* 47: 198–202.
- Jenkins, K.J. and Hidiroglou, M. 1971 Transmission of selenium as selenite and as selenomethionine from ewe to lamb via milk using selenium-75. *Can. J. Anim. Sci.* 51: 389-403.
- Jerry, J., Kaneko, J., Harvey, W., Bruss, M.L. 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* 5th. Ed. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Jiménez, A., Ander, S., Sánchez, J., Barrera, R., Benito, M. and Mañé, M.C. 1998. Evaluation of different prophylactic methods against selenium deficiency in sheep grazing on range in South Western Spain. *Small Rum. Res.* 29: 193–199.
- John, R. Arthur, Roderic, C. McKenzie, Geoffrey, J. Beckett. 2003. Selenium in the immune system. *J. Nutr.* 133: 1457S – 1459S.
- Julien, W.E., Conrad, H.R., Jones, J.E., Moxon, A.L. 1976. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 59: 1954.
- Kim, Y.Y., Mahan, D.C. 2001. Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic selenium on selenium toxicity of growing –finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 79: 942-948.
- Kim, J., Vansoest, P.J., Combs, G. F. Jr. 1997. Studies on the effects of selenium on rumen microbial fermentation in vitro. *Biol. Trac. Elem. Res.* 56: 203–213.
- Kincaid, R.L., Hodgson, A.S., 1989. Relationships of selenium concentrations in blood in calves to blood Se of the dam and supplemental selenium. *J. Dairy Sci.* 72: 259.
- Koenig, K.M., Buckley, W.T., Shelford, J.A. 1991. True absorption of selenium in dairy cows: stable isotope tracer methodology and effect of dietary copper. *Can J Anim Sci* 71, 175-183.
- Koller, L.D. Whitbeck, G.A., South, P.J. 1984. Transplacental transfer and colostrums concentrations of selenium in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 45: 2507-2510.
- Koller, L.D., Exon, J.H. 1986. The two faces of selenium-deficiency and toxicity are similar in animals and man. *Can. J. Vet. Res.* 50 (3): 297-306.
- Kott, R.W., Ruttle, J.L., Southward, G. M. 1983. Effects of vitamin E and selenium injections on reproduction and preweaning lamb survival in ewes consuming diets marginally deficient in selenium. *J. Animal Sci.* 57: 331-337.

- Kuttler, K.L., Marble, D.W., Blincoe, C. 1961. Serum and tissue residues following selenium injections in sheep. *Am J Vet Res.* 22: 422-424.
- Langlands, J.P, Bowles, J.E., Donald, G.E., Smith, A.J., Pauli, D.R., Davies, H.I. 1982. Deposition of copper, manganese, selenium and zinc in the ovine fetuses and associated tissues. *Aust. J. Agric. Res.* 33: 591.
- Larsen, H. J. 1988. Influence of selenium on antibody production in sheep. *Res. Vet. Sci.* 45: 4–10.
- Larsen, H. J. 1993. Relationship between selenium and immunity *J. Agric. Sci. Suppl.* 11: 105–119.
- Levander, O.A. 1986. Trace elements in human and animal nutrition. Vol. II, 5th. Ed. W. Mertz, Ed. Acad. Press, Inc. New York, NY Page 209.
- McPherson, A., Chalmers, J.S. 1984. Methods of selenium supplementation of ruminants. *J. Vet. Rec.* 115: 544–546.
- Mahan, D.C. Moxan, A.L., Cline, J.H. 1975. Efficacy of supplemental selenium in reproductive diets on sow and progeny serum and tissue selenium values. *J. Anim. Sci.* 40: 624.
- Mahan, D.C.; Moxan, A.L. 1984. Effect of inorganic selenium supplementation on selenosis in postweaning swine. *J. Anim. Sci.* 58: 1216-1221.
- Mahan, D.C., Kim, Y.Y. 1996. Effect of inorganic or organic selenium at two dietary levels on reproductive performance and tissue selenium concentrations in first-parity gilts and their progeny. *J. Anim. Sci.* 74: 2711-2718.
- Millar, W, T, Williams, K.T. 1940. Minimum lethal dose of selenium, as sodium selenite, for horses, mules, cattle and swine, *J. Agric. Res.* 60: 163-173.
- Morrow, D.A. 1982. Acute selenium toxicosis in lambs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 152: 1623-1329.
- National Academy of Sciences (NAS) 1971. Se in nutrition. National Academy of Sciences USA, Washington, DC.
- Naziroglu, M., Aksakal, M., Cay, M., Celik, S. 1997. Effects of vitamin E and selenium on some rumen parameters in lambs. *Acta. Vet. Hung.* 45: 447–456.
- Nicholson, J.W.G., McGzueen, R.E., Buch, R.S. 1991. Response of growing cattle to supplementation with organically bound or inorganic sources of selenium or yeast cultures. *Can. J. Animal Sci.* 71: 803–811.
- Norton, O.A., McCarthy, F.D. 1986. Use of injectable vitamin E and selenium-vitamin E emulsion in ewes and suckling lambs to prevent nutritional muscular dystrophy. *J. Anim. Sci.* 52: 497–508.

- NRC, 1983. Se in nutrition, Rev, ed. National academy of Sciences- National research Council, Washington, DC.
- Oh, S. H., Sunde, R.A., Pope, A.L., Hoekstra, W.G. 1974. Glutathion peroxidase response to Se intake in lambs. Presented Anim. Sci. meeting in August (Abstract).
- Pastrana, R., McDowell. L.R., Conrad. J.H., Wikinson. N.S. 1991. Mineral status of sheep in the Paramo region of Colombia .II Trace minerals. Small Rum. Res. pp 23– 24.
- Pollock, J.M., McNair, J., Kennedy, S., Kennedy, D.G., Walsh, D.M., Goodall, E.A., Mackie, D.P., Crokard, A.D. 1994. Effect of dietary vitamin E and selenium on in vitro cellular immune responses in cattle. Res. Vet. Sci. 56: 100–107.
- Pugh, D. G. 2002. Sheep and Goat medicine 2nd. Ed.
- Puls, R. 1994. Mineral levels in animal health: Diagnostic data 2nd. Ed., Sherpa International, Clear Book 356 p.
- Ramírez B., J.E., Tórtora, J.L., Huerta, M., Aguirre, A., Hernández, L.M 2001^b. Diagnosis of selenium status in grazing dairy goats on the Mexican plateau. Small Rum.Res. 41(1):81- 85.
- Ramírez B., E. Hernández C., E. Hernández C., L.M., Tórtora P. J. 2004. Efecto de un suplemento parenteral con selenito de sodio en la mortalidad de corderos y los valores hemáticos de Se. Agrociencia 38(1): 43-51.
- Ramírez B., E.; Tórtora, J.L.; Huerta, M.; Hernández, L.M., López, R., Crosby, M. 2005. Effect of selenium-vitamin E injection in selenium-deficient dairy goats and kids on the Mexican plateau. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 57, (1): 77-84.
- Rock, M.J., Kincaid, R.L., Carstens, G.F. 2001. Effects of prenatal source and level of dietary selenium on passive immunity and thermometabolism in new born lambs. Small Rum. Res. 40: 129–138.
- Rogers, P.A.M., Aror S.P, Fleming G.A., Crinion R.A.P., McLaughlin, J.G. 1990. Selenium toxicity in farm animals: treatment and prevention. Irish Vet. J., 43, 151-153
- Rosenfeld, I. 1964. Selenium: geobotany, biochemistry, toxicity and nutrition, pp. 141-213, Academic Press, New York, NY.
- Rotruck, J.T. et al. 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science 179: 588-590.

- Rowntree, J.E., Hill, G.H., Hawkins, D.R., Link, J.E., Rincker, M.J., Bednar, G.W., Kreft, Jr. R. A. 2004. Effect of selenium on selenoprotein activity and thyroid hormone metabolism in beef and dairy cows and calves. *J. Anim. Sci.* 82: 2995 – 3005.
- Sarabia-Martínez, M. 2004. Desarrollo de un bolo intraruminal de liberación prolongada con Se orgánico de levaduras para bovinos productores de leche. Tesis de Maestría. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 128p.
- Scales, G.H. 1974. Reproductive performance of Merino ewes dosed with selenium prior to mating. *Proc. NZ Soc. Anim. Prod.* 34: 103 – 113.
- Segerson, E.C., Ganapathy, S.N. 1980. Fertilization of ova in selenium/vitamin E treated ewes maintained on two planes of nutrition. *J. Anim. Sci.* 51: 386 – 394.
- Sheppard, A.D. 1984. Levels of selenium in blood and tissues associated with come selenium deficiency in New Zealand sheep. *N.Z. Vet. J.*, 32: 91- 95.
- Silva, Julio H., Quiroga, Miguel A., Auza, Nestor, J. 2000. Selenio en el rumiante. Relaciones suelo, plantas, animal. *Méd.Vet.* vol.17, (10):229-246.
- Smith, M.C., Sherman, D.M. 1994. *Goat Medicine* 2nd. Ed.
- Spears, W.J. Harvey, R.W., Sergeron, E.C. 1986. Effects of marginal selenium deficiency and winter protein supplementation on growth, reproduction and selenium status of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 63: 586-593.
- Stowe, H.D., Herdt, T.M. 1992. Clinical assessment of selenium status of live stock. *J. Animal Sci.* 70: 3928-3933.
- Suomi, K., Alaviuhkola 1992. Response to organic and inorganic selenium in the performance and blood selenium content of growing pigs. *Agric. Sci. Finl.* 1: 211-214.
- Swecker, W.S., Thatcher, C.D., Eversole, D.E., Blodgett, J., Schuring, G.G. 1995. Effect of selenium supplementation on colostral IgG. Concentration in cows grazing selenium – deficient pastures and on post-suckles serum IgG concentration on their calves. *Am. J. Vet. Res.* 56, 450–453.
- Taylor, E.W. 1995. Selenium and cellular immunity. *Biol.Trace Element Res.* 49: 85–95.
- Thompson, K.M., Haibach, H., Sunde, R.A. 1995. Growth and plasma triiodothyroxine concentrations are modified by selenium deficiency and repletion in second generation selenium deficient rats. *J. Nutr.* 125: 864–873.

- Tórtora, J. 1979. Lesiones en la tiroides de rumiantes afectados de distrofia muscular nutricional (DMN). *Biol. Rumiantes (FES-Cuautitlán, UNAM)*. 3: 51-65.
- Twomey, T., Crinion, R.A.P., Glazier, D.B. 1977. Selenium toxicity in cattle in Co. Meath. *Irish Vet. J.*, 31, 41-46.
- Ullery, D.E., Light, M.R., Brady, P.S., Whetter, P.A., Tilton, J.E., Henneman, H. A., Magee, W.T. 1978. Selenium supplementations in salt for sheep. *J. Animal Sci.* 46,561-562.
- 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.
- Weiss, W.P., Colenbrander, V.J., Cunningham, M.D. 1984. Maternal transfer and retention of supplemental selenium in neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 67: 416-420.
- Weiss, W.P., Todhunter, D., Hogan, J.S., Smith, K. L. 1990. Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on per parturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73: 873-876.
- Whanger, P.D. 2002. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *Journal of the American College of Nutrition*, Vol. 21, No. 3: 223 – 232.
- Wichtel, J.J., Craigie, A.L., Freeman, D.A., Varelar-Alvarez, H.; Wiliamson, N.B. 1996. Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotrophic function in dairy calves at pasture. *J. Dairy Sci.* 79: 1865–1872.
- William, A.House; Alan, W.Bell 1994. Sulfur and selenium accretion in the gravid uterus during late gestation in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77: 1860-1869.
- Xia Y, Hill KE, Byrne DW, et al. 2005. Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of China. *Am. J. Clin. Nutr.* 81(4):829-834.

JUSTIFICACIÓN

Diversos trabajos sugieren o indican que el final de la gestación y la lactación son condiciones que modifican seriamente los niveles de Se en las hembras, en particular en los rumiantes. A partir de evidencias indirectas se señala el paso del elemento de las madres a sus fetos y la leche, como elemento depresor del Se en la hembra. En este trabajo se pretendió aportar nuevas evidencias a la comprensión del metabolismo del Se en la hembra gestante y en lactación.

HIPÓTESIS

Es posible establecer correlaciones entre los niveles de Se de la hembra gestante y sus fetos, que pueden traducirse a concentraciones variables del elemento en los líquidos fetales. La suplementación del elemento a las hembras gestantes puede modificar estas concentraciones en la madre y el producto.

OBJETIVO GENERAL

Determinar los niveles de Se en diferentes órganos y líquidos fetales y definir las relaciones entre ellos y los niveles plasmáticos y hepáticos de la madre, en ovejas y cabras. Determinar el efecto de la suplementación de Se pre y posparto, en el estado del Seen ovejas y sus recién nacidos.

CAPITULO II (CHAPTER II)

-TIPO (TYPE):

ARTICULO PUBLICADO (PUBLISHED ARTICLE)

-AUTORES (AUTHORS):

ABD ELGHANY HEFNAWY; R. LÓPEZ-ARELLANO; A. REVILLA- VÁZQUEZ; E. RAMÍREZ-BRIBIESCA; J. TÓRTORA-PÉREZ

-TITULO (TITLE):-

THE RELATIONSHIP BETWEEN FETAL AND MATERNAL SELENIUM CONCENTRATIONS IN SHEEP AND GOATS

-REFERENCIA (REFERENCE):-

SMALL RUMINANT RESEARCH (2007). 73, 174 -180.

Provided for non-commercial research and education use.
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article was published in an Elsevier journal. The attached copy is furnished to the author for non-commercial research and education use, including for instruction at the author's institution, sharing with colleagues and providing to institution administration.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats

Abd El Ghany-Hefnawy^{a,*}, R. López-Arellano^a, A. Revilla-Vázquez^a,
E. Ramírez-Bribiesca^b, J. Tórtora-Pérez^a

^a *Facultad De Estudios Superiores-Cuautitlan, Universidad Nacional Autónoma De México, Km. 2.5, Carretera Cuautitlan-Teoloyucan Cuautitlan, Izcalli, 54700 Esd. De México, Mexico*

^b *Colegio De Postgraduados-Chapingo, Km. 36.5, Carr. México, Texcoco, 56230 Montecillo Esd. De México, Mexico*

Received 30 March 2006; received in revised form 15 January 2007; accepted 25 January 2007

Available online 7 March 2007

Abstract

In this study, biological samples (slaughterhouse material) were collected from 30 sheep and 36 goats and classified according to gestational stage into either early or late gestation. Samples consisted of allantoic fluid, amniotic fluid, fetal liver, fetal kidney, fetal thyroid gland, maternal plasma and liver to determine selenium (Se) concentrations throughout gestation. The Se concentrations in the allantoic fluid, fetal liver and kidney increased significantly ($p < 0.01$) during late gestation. Concurrently, the Se concentrations in amniotic fluid, maternal plasma and liver decreased significantly ($p < 0.01$) over time. Significant ($p < 0.01$) positive relationships were recorded between the age of the fetus and Se concentrations in the allantoic fluid ($r = 0.57$ – 0.75), fetal liver ($r = 0.43$ – 0.59) and kidney ($r = 0.80$ – 0.81) in both sheep and goats. A significant ($p < 0.05$) positive relationships were also recorded between the Se concentrations in the allantoic fluid and fetal liver ($r = 0.35$ – 0.37), the maternal plasma and liver Se concentrations ($r = 0.37$ – 0.57) between sheep and goats. A significant ($p < 0.05$) negative correlation was recorded between the Se concentrations in the allantoic fluid with maternal plasma of sheep ($r = -0.41$) as well as between the fetal liver and maternal liver Se ($r = -0.22$ to 0.50) and a negative correlation ($r = -0.42$ to 0.43) ($p < 0.01$) between Se concentrations in the fetal liver and amniotic fluid in both sheep and goats, respectively. Se concentration in the fetal liver was significantly ($p < 0.01$) higher than that of the kidney and thyroid. In the thyroid gland no morphological differences were noted. Strong fetal–maternal relationships in Se concentration were evident throughout the gestational period and dams seem to sacrifice Se levels in order to maintain that in the fetus. Se concentrations in the amniotic and allantoic fluids could be used as a possible indicator of the Se status of the fetus throughout gestation.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Selenium (Se); Sheep; Goat; Fetus; Allantoic; Amniotic

1. Introduction

Evidence indicates that Se deficiency leads to several economically important livestock diseases. Se-responsive problems include impaired fertility, abortion,

retained placenta (Gabryszuk and Klewicz, 2002) and neonatal fatality or weakness, especially among growing animals (Norton and McCarthy, 1986; Spears et al., 1986). Immune and endocrine disorders may also occur, especially thyroid dysfunction, as Se is essential for thyroid function and thyroid hormone homeostasis, and apoptotic situations have also been observed (Beckett and Arthur, 2005). A positive correlation also exists between the Se content of the feed and the tissues in

* Corresponding author. Tel.: +52 5523320144; fax: +52 58705668.

E-mail address: abdelghani72@yahoo.com
(A.E. Ghany-Hefnawy).

animals which have ingested the feed. The diagnosis of Se deficiency diseases depends on the analysis of animal tissues and the response trials to supplementation (Sheppard, 1984; Stowe and Herdet, 1992). Transfer of nutrients from the dam to the offspring occurs via two pathways, placental transfer and colostrum milk ingestion. The amount of nutrients transferred to the offspring depends on the maternal nutrient status and the efficiency of the transplacental and mammary transport mechanisms. Se is efficiently transmitted via the placenta to the fetus, even in cases of low maternal concentration of Se (Koller et al., 1984). In the pig, the liver is considered to be the major body storage site for Se and perhaps the organ best to reflect the Se status of the animal (Mahan et al., 1977; Mahan and Kim, 1996).

Langlands et al. (1982) reported Se concentration in all fetal tissues to decline during the third trimester of pregnancy between 100 and 148 days of gestation. Grace et al. (1986) recorded the Se concentration in fetal lamb tissue to remain similar during late pregnancy in monotocous ewes. Abd Elrahman and Kincaid (1993) reported that the Se concentration in the bovine fetal kidney did not change significantly with the age of the fetus, but the fetal liver Se concentration increased from day 145 to 195 and decreased again from day 195 to 245 of gestation. It was suggested that a lower Se concentration in the fetal liver possibly reflected a demand for Se for the synthesis of glutathione peroxidase and other selenoproteins on the part of the terminal fetus. Van Saun et al. (1989) suggested that maternal Se declined during late pregnancy, as a result of the mobilization of Se to colostrum and milk or for rapid fetal growth during the last period of gestation.

Many studies have focused on the composition of electrolytes and the dynamics in amniotic and allantoic fluid, considering for example, K, Cl and Na (Thomsen, 1976; Jang and Brace, 1992) or thyroid hormone in the fetus (Baetz et al., 1976), but there are very few studies on the Se concentrations in specific fetal fluids of sheep. William et al. (1994) determined the Se concentration in the fetal fluid of sheep, as identified in mixed amniotic and allantoic fluids and the intra-membranous surface of the placenta was shown to be a route for rapid exchange of water, ions, and molecules between the amniotic fluid and fetal blood. Gilbert (1999) concluded that solutes, dissolved in water, must leave the allantoic cavity exclusively through the intra-membranous pathway. Furthermore, the movement of solutes through the intra-membranous pathway may explain the ability of the fetus to maintain molecular and solute gradients between fluid compartments and fetal blood and may also play an important role in

amniotic and allantoic fluid volume regulation and composition.

In this study, Se concentration in amniotic and allantoic fetal fluids was measured in sheep and goats throughout gestation. The relationship between Se concentration in fetal fluids and tissues was established and related to concentration in the plasma and tissues in the dam and the fetal thyroid studied to indicate the Se status of the fetus throughout gestation.

2. Materials and methods

Samples were taken from 30 pregnant singleton sheep and 36 pregnant singleton goats and their corresponding fetuses, at the time of slaughter. Maternal samples included blood and liver, while the fetal samples included amniotic fluid, allantoic fluid, liver, kidney, and thyroid gland (10 samples from sheep and 11 from goats in the late gestation). During early pregnancy the size of the thyroid gland was not large enough. All samples used for Se determination and for studying the fetal–maternal relationships and between the state of thyroid development and Se status. Samples were classified according to the estimated age of the fetus (Lyngest, 1971). The early stage of gestation was defined as before day 90 when fetal length was less than 20 cm—with 10 sheep and 16 goats were at this stage; while the late stage of gestation was defined as after day 90 (which included 20 sheep and 20 goats).

2.1. Preparation and analysis of the samples

Maternal blood samples were centrifuged ($2000 \times g$; 15 min) to obtain plasma (-20°C) for later analyses. Amniotic and allantoic fluid, maternal liver, fetal liver, kidney and thyroid gland were frozen (-20°C) for Se determinations. A part of the thyroid gland was processed in 10% buffered formalin solution for later histopathological evaluation.

The plasma, amniotic and allantoic fluid samples were processed by mixing 1 ml of each sample with 10 ml of deionized water, 5 ml of concentrated nitric acid and 2 ml of hydrogen peroxide (30%) (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ)—keeping the solution at room temperature for 30 min in sealed Teflon vessels (Koenig et al., 1997). Subsequently, the samples were placed in a microwave digester (Mars 5 CEM Corporation, USA) with an increasing temperature slope for 5 min to reach 120°C and it was held in this temperature for 2 min. The temperature was then increased to 170°C within 5 min and maintained for 2 min with a maximum pressure of 350 psi (Ortman and Pehrson, 1997). The samples were allowed to cool for 5 min in an oven and then left to obtain room temperature (for 1 h). The samples were then transferred to 50 ml volumetric flasks and filled to the top with 7 M HCl and left overnight (4°C) to be analyzed the following day. Se concentrations were determined with the aid of atomic absorption spectrophotometry (Varian, model Spectra AA-800).

Tissue samples of 0.5 ± 0.1 g were digested using a microwave oven using 10 ml of nitric acid and 2 ml of double

Table 1

Mean (\pm S.E.) Se concentrations (ppb) in maternal plasma, liver, amniotic fluid, allantoic fluid, fetal liver, kidney and thyroid tissue in early and late stage of pregnancy in sheep and goats

Items	Sheep		Goat	
	Early pregnancy	Late pregnancy	Early pregnancy	Late pregnancy
Maternal plasma	226.2 \pm 35.3**	158.3 \pm 22.6	137.2 \pm 16.4	113.1 \pm 14.6
Maternal liver	1029.8 \pm 15.1**	631.9 \pm 53.4	950.2 \pm 42.1**	654.4 \pm 37.7
Amniotic fluid	101.3 \pm 11.9**	29.7 \pm 3.2	60.3 \pm 3.1**	18.5 \pm 2.8
Allantoic fluid	29.8 \pm 1.6**	118.5 \pm 6.4	35.5 \pm 2.5**	152.1 \pm 19.3
Fetal liver	374.7 \pm 32.2**	600 \pm 38.7	320.4 \pm 45.7**	590.2 \pm 40.9
Fetal kidney	28.9 \pm 2.8**	198.2 \pm 34.3	46.3 \pm 10.6**	169.6 \pm 26.3
Fetal thyroid glands		279.7 \pm 21.7		239.2 \pm 29.4

** $p < 0.01$.

distilled water in a Teflon vessel (Rowntree et al., 2004; Shaw et al., 2002). Samples were then allowed to digest for approximately 1 h at room temperature. Vessels were then placed in a microwave digester (Mars 5 CEM Corporation, USA), in order to gradually increase the pressure to 210 psi with the maximal vessel temperature being 190 °C. The vessels were maintained at 210 psi for 10 min, allowed to cool for 10 min and then ventilated. Thereafter, 2 ml of hydrogen peroxide (30%) (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ) was added to each tissue sample. The digested samples were transferred to volumetric flasks and brought to a uniform volume of 25 ml with 7 M HCl and then stored until analyses. Se concentrations were determined with the aid of an atomic absorption spectrophotometer (Varian, model Spectra AA-800) (Galan and Frank, 1993).

2.2. Statistical analysis

Means, Pearson correlation coefficient, analysis of variance (ANOVA) by general linear model and regression analyses were performed using the Statistical Analysis System software (SAS Institute, Raleigh, NC, 1985).

3. Results

Se concentrations in the maternal plasma, liver and amniotic fluid increased significantly ($p < 0.01$) dur-

ing the early stage of pregnancy compared to that of the late gestation, in both sheep and goats. In the sheep, the values in the early stage of pregnancy were 226.2 \pm 35.3 ppb, 1029.8 \pm 151.1 ppb and 101.3 \pm 11.9 ppb, compared to the late stage pregnancy levels of 158.3 \pm 22.6 ppb, 631.9 \pm 53.4 ppb and 29.7 \pm 3.2 ppb in the maternal plasma, liver and amniotic fluid, respectively. Similarly in goats, the levels during early pregnancy were 137.2 \pm 16.4 ppb, 950.2 \pm 42.1 ppb and 60.3 \pm 3.1 ppb compared to late pregnancy levels of 113.1 \pm 14.6 ppb, 654.4 \pm 37.7 ppb and 18.5 \pm 2.8 ppb in the maternal plasma, liver and amniotic fluid, respectively (Table 1). In contrast, the Se concentrations in the allantoic fluid, fetal liver and kidney increased significantly ($p < 0.01$) during the late stage of pregnancy, compared to that of the early stage in both sheep and goats. Se concentration in the fetal liver was significantly ($p < 0.01$) higher than that of the fetal thyroid and kidney in both sheep and goats (Fig. 1).

Histopathological examination of the fetal thyroid demonstrated two types of follicles—the first type contained colloidal material and a flat epithelium with a diameter ranging from 80 to 900 μ m and the second type consisted of embryonic follicles, mainly at the periphery

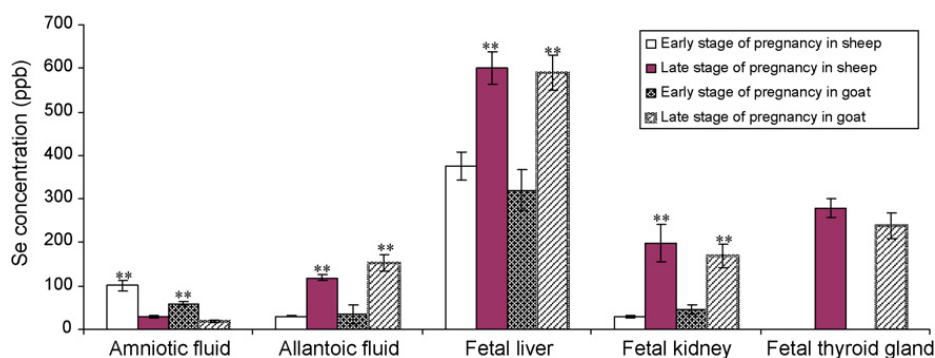


Fig. 1. Mean (\pm S.E.) Se concentrations (ppb) in the amniotic and allantoic fluid, fetal liver, kidney and thyroid gland in early and late stage of pregnancy in sheep and goats.

Table 2

Correlation between age of the fetus, Se concentration of the fetal liver and maternal plasma with Se concentration in the allantoic fluid, amniotic fluid, fetal kidney and maternal liver in sheep and goats

	Age of the fetus		Fetal liver		Maternal plasma	
	Sheep	Goats	Sheep	Goats	Sheep	Goats
Allantoic fluid	0.75**	0.57**	0.37*	0.35*	-0.41*	0.14 NS
Amniotic fluid	-0.64**	-0.73**	-0.43**	-0.42**	0.06 NS	0.2 NS
Maternal liver	-0.61**	-0.69**	-0.22**	-0.5**	0.57**	0.37*
Fetal liver	0.43**	0.59**				
Fetal kidney	0.81**	0.8**				

NS, non-significant.

* $p < 0.05$.

** $p < 0.01$.

of the gland which were empty and devoid of colloid, with a cubic epithelium which had a diameter of less than 30 μm . Only three samples presented the second type of follicles. Images suggestive of apoptosis were not seen. No relationships were established between thyroid development and Se concentration in the fetus or the dam.

Among the sheep and goats there were significant ($p < 0.01$) negative correlations (Table 2) between the age of the fetus and the Se concentrations in the amniotic fluid (Fig. 2A and B) and maternal liver. A significant ($p < 0.01$) positive correlation was recorded between the fetal age and Se concentrations in allantoic fluid (Fig. 2A and B), fetal liver and kidney.

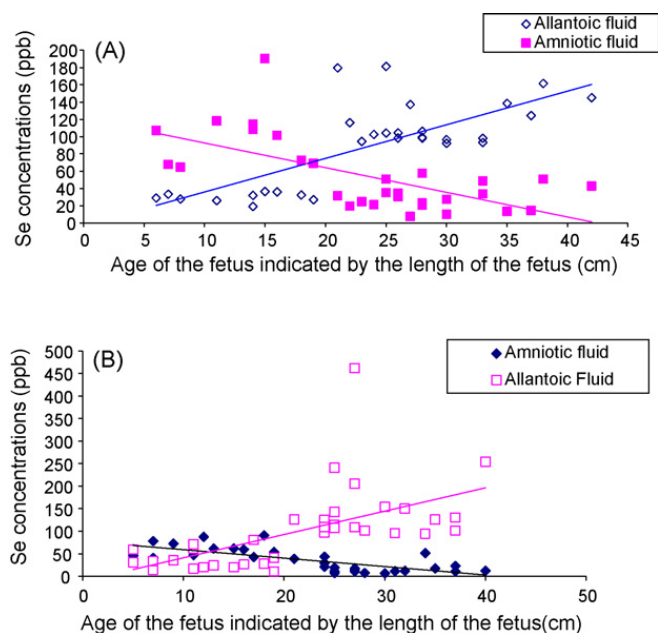


Fig. 2. (A) Correlation between age of the fetus and Se concentrations in amniotic fluid ($r = -0.64$, $p < 0.01$) and allantoic fluid ($r = 0.75$, $p < 0.01$) in sheep. (B) Correlation between age of the fetus and Se concentrations in amniotic fluid ($r = -0.73$, $p < 0.01$) and allantoic fluid ($r = 0.57$, $p < 0.01$) in goats.

For the sheep there was a significant negative relationship ($p < 0.05$) between Se concentrations in the allantoic fluid and maternal plasma which was not evident among goats. For the sheep and goats a significant ($p < 0.05$) positive correlation between Se concentrations in the allantoic fluid and fetal liver was recorded. A significant ($p < 0.01$) negative relationship between the Se concentrations in the amniotic fluid and fetal liver was also recorded. A significant ($p < 0.05$) negative relationship was also observed between the maternal and fetal liver Se concentrations, while significant ($p < 0.05$) positive relationship between the maternal liver and plasma Se concentrations was also noted (Table 2).

4. Discussion

The absence of relationships between the amniotic fluid and maternal plasma Se concentrations suggests the fetus to obtain its Se requirements, regardless of the maternal plasma level. A significant ($p < 0.01$) increase of Se concentration in the allantoic fluid with age of the fetus, indicates an increased transfer from the dam to the fetus and greater excretion of Se by the fetus. The significant ($p < 0.05$) negative correlation ($r = -0.22$ to -0.50) between the level Se in the maternal and fetal liver and the significant ($p < 0.05$) positive correlation ($r = 0.37$ – 0.57) between the Se in the maternal liver and plasma (Table 2) indicates the withdrawal of a large quantity of maternal Se, which is then transferred to the fetus. The results obtained suggest that the drainage of maternal Se firstly occurs from the maternal plasma and then by means of liver mobilization—which may explain the low maternal Se status of the dam during late pregnancy.

In this study, Se concentrations in the allantoic fluid of sheep and goats increased significantly ($p < 0.01$) together with the age of the fetus, while the concen-

trations in the amniotic fluid decreased significantly ($p < 0.01$). Grace et al. (1986) also found Se concentrations in mixed amniotic and allantoic fluid to increase in sheep as the fetus matured. Among monotocous ewes nearing the end of gestation, fetal Se accounted for about 66% of the total in the conceptus. Se concentration in the allantoic fluid increased during late pregnancy as was the case in cows. In cattle non-fetal conceptus, the Se level increased between 190 and 270 days of gestation (Ferrell et al., 1982; William et al., 1994). The allantoic fluid Se concentration increased, indicating that the fetus excretes an elevated amount of this element at this late stage of pregnancy—which is probably associated with a high transplacental transfer from the dam (Young et al., 1961; Hamdy et al., 1963) or variations in fluid osmosis between amniotic and allantoic fluid (Thomsen, 1976; Gilbert, 1999).

Increased excretion of Se to the allantoic fluid, especially during the late stage of pregnancy, is a factor that influences the loss of maternal Se and increases the risk of dam deficiency. High blood and tissue (kidney cortex, liver and spleen) Se concentrations have been reported in fetuses from Se-treated ewes—indicating transplacental transfer of Se from the dam (Ahmed et al., 1990). Thus, Se supplementation to pregnant animals during the last few weeks of gestation has been shown to be an important practical recommendation, even though the maternal plasma level may be normal, this precaution will help avoid the risk of Se deficiency caused by the rapid transplacental transfer of Se from the dam to the fetus. Se treatment in pregnant ewes has been proven to be successful in preventing nutritional muscular dystrophy in new born lambs, the therapy preventing a variation in the Se concentrations in both the plasma and the maternal liver (Young et al., 1961; Hamdy et al., 1963; Wright and Bell, 1966; Hidroglou et al., 1969).

In this study fetal liver Se concentration increased significantly ($p < 0.01$), together with the age of the fetus in both sheep and goats. Similar results have been previously reported by other authors for bovine (Goonerante and Christensen, 1989; Abd Elrahman and Kincaid, 1993). However, the fetal liver Se concentrations are not affected by the gestational stage in dairy cattle (Van Saun et al., 1989; William et al., 1994). Hidroglou et al. (1969) and Grace et al. (1986) found minimal changes in liver and other tissue Se concentrations of fetal lambs during late gestation.

In bovine, Koller et al. (1984), reported fetal liver Se to increase progressively as pregnancy advanced—reaching levels 3–6 times higher than those in the liver of the dam. These results do not reflect the

results of the present study, where Se in the maternal liver was significantly ($p < 0.01$) higher than that found in the fetal liver. The results suggest that both the fetus and the dam depend on Se stored in the maternal liver to maintain their Se status. Quantification of Se in maternal liver may be considered the best method for determining the Se status in both the dams and fetuses. Changes in the maternal liver Se level may be attributed to the Se mobilization to colostrum and milk or to the rapid growth of the fetus during late pregnancy—causing an increase in fetal requirements and thus leading to a reduction of Se in the maternal blood and tissues (Hawkes et al., 2004).

Hostetler and Kincaid (2004) found the liver Se concentration to decrease in the fetus with advancement of gestation beyond day 45 in sows fed a diet low in Se. Mahan et al. (1975, 1977) and Mahan and Kim (1996) demonstrated maternal hepatic Se levels in sows to be greater than the hepatic concentration in the offspring. Variations in species regarding the relative concentrations of Se in the fetal and maternal liver have been recorded. These differences may be attributed to differences in maternal fetal transplacental transfer, liver–plasma mobilization, Se diet utilization and absorption, and metal hepatic metabolism.

In the current evaluation, the fetal kidney Se concentration also increased significantly ($p < 0.01$) as the fetus matured, which is in agreement with Abd Elrahman and Kincaid (1993). According to the findings of Ahmed et al. (1990), all the analyzed samples of fetal liver and kidney of sheep and goats in the present study were within the normal range. However, according to the reference values of Smith and Isopenko (1997) and Mustafa et al. (1998), 43.3% ($n = 13$) of the sheep and 52.7% ($n = 19$) of the goats and maternal plasma samples with an inadequate level of Se during late pregnancy. Normal fetal values recorded together with inadequate maternal levels, indicate that fetus values are independent from of the dam's Se status.

The fetal kidney and thyroid Se concentrations in both sheep and goats were significantly ($p < 0.01$) lower than that in the fetal liver. Similar results have been reported during the gestation period, with a median Se content in the kidney cortex and a thyroid level lower than that found in the liver (Tiran et al., 1995). Low Se thyroid content and histological examination of the gland suggested minor thyroid activity in the fetus, which is metabolically dependent on the dam during gestation. Other research report Se to be highest in the kidney, followed by the liver, pancreas, heart and finally in the skeletal muscle of adult sheep (Combs and Combs, 1986).

5. Conclusion

There is a strong relationship between the fetus and dam concerning Se metabolism during pregnancy. The dams seem to sacrifice their Se level in order to maintain the fetal Se disposition. Fetus Se which was transferred from the dam's system plays an important role in the incidence and occurrence of Se deficiency in the dam, especially in the final stage of pregnancy—when the fetal requirements are higher. Se concentration in the amniotic and allantoic fluids may be used as an indicator of Se status in the fetus throughout gestation. The fetal liver is considered to be the main storage organ of Se in the fetus and hepatic tissue has also been shown to be a good indicator of the Se status of the fetus.

References

- Abd Elrahman, M.M., Kincaid, R.L., 1993. Deposition of copper, manganese, zinc and selenium in bovine fetal tissues at different stage of gestation. *J. Dairy Sci.* 76, 3588–3593.
- Ahmed, H., William, G.O., Donald, W.J., Mimoun, K., 1990. Evaluation of biochemical-evidence of congenital nutritional myopathy in two-week prepartum fetuses from selenium deficient ewes. *Am. J. Vet. Res.* 51 (7).
- Batz, A.L., Hubbert, W.T., Graham, C.K., 1976. Changes of biochemical constituents in bovine fetal fluids with gestational age. *Am. J. Vet. Res.* 37 (9), 1047–1052.
- Beckett, G.J., Arthur, J.R., 2005. Selenium and endocrine systems. *J. Endocrinol.* 184, 455–465.
- Combs, G.F., Combs, S.B., 1986. *The Role of Selenium in Nutrition*. Academic Press, New York.
- Ferrell, C.L., Laster, D.B., Prior, R.L., 1982. Mineral accretion during prenatal growth of cattle. *J. Anim. Sci.* 54, 618.
- Gabryszuk, M., Klewicz, J., 2002. Effect of injecting 2- and 3-year-old ewes with selenium and Se–vitamin E on reproduction and rearing of lambs. *Small Rumin. Res.* 43, 127–132.
- Galan, V., Frank, A., 1993. Notes and comments on the determination of selenium in biological materials. *Norw. J. Agric. Sci. Suppl.* 11, 57–74.
- Gilbert, W.M., 1999. Allantoic fluid compositional changes during acute urine drainage in fetal sheep. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 6 (1), 17–21.
- Goonerante, S.R., Christensen, D.A., 1989. Survey of maternal and fetal tissue zinc, iron, manganese and selenium concentrations in bovine. *Can. J. Anim. Sci.* 69, 151.
- Grace, N.D., Watkinson, J.H., Martinson, P.L., 1986. Accumulation of minerals by the fetus (es) and conceptus of single and twine-bearing ewes. *N. Z. J. Agric. Res.* 29, 207.
- Hamdy, A.H., Pouden, W.D., Trappal, L., et al., 1963. Effect on lambs of selenium administered to pregnant ewes. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 143, 749–751.
- Hawkes, W.C., Alkan, Z., Lang, K., King, J.C., 2004. Plasma selenium decrease during pregnancy is associated with glucose intolerance. *Biol. Trace Elem. Res.* 100 (1), 19–29.
- Hidroglou, M., Hoffman, I., Jenkins, K.J., 1969. Selenium distribution and radiocopherol metabolism in the pregnant ewe and fetal lamb. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 47, 953.
- Hostetler, C.E., Kincaid, R.L., 2004. Gestational changes in concentrations of selenium and zinc in the porcine fetus and the effects of maternal intake of selenium. *Biol. Trac. Elem. Res.* 97 (1), 57–70.
- Jang, P.R., Brace, R.A., 1992. Amniotic fluid composition changes during urine drainage and tracheoesophageal occlusion in fetal sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 167 (6), 173–174.
- Koenig, K.M., Rode, L.M., Cohen, R.D.H., Buckley, W.T., 1997. Effects of diet and chemical forms of selenium on selenium metabolism in sheep. *J. Anim. Sci.* 75, 817–827.
- Koller, L.D., Whitbeck, G.A., South, P.J., 1984. Transplacental transfer and colostrums concentrations of selenium in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 45, 2507–2510.
- Langlands, J.P., Bowles, J.E., Donald, G.E., Smith, A.J., Pauli, D.R., Davies, H.I., 1982. Deposition of copper, manganese, selenium and zinc in the ovine fetuses and associated tissues. *Aust. J. Agric. Res.* 33, 591.
- Lyngest, O., 1971. Pregnancy and the development of the foetus and foetal accessories of the goat. *Acta Vet. Scand.* 12, 185–201.
- Mahan, D.C., Moxan, A.L., Cline, J.H., 1975. Efficacy of supplemental selenium in reproductive diets on sow and progeny serum and tissue selenium values. *J. Anim. Sci.* 40, 624.
- Mahan, D.C., Moxan, A.L., Hubbard, M., 1977. Efficacy of inorganic selenium supplementation to sow diets on resulting carry-over to their progeny. *J. Anim. Sci.* 45, 738.
- Mahan, D.C., Kim, Y.Y., 1996. Effect of inorganic or organic selenium at two dietary levels on reproductive performance and tissue selenium concentrations in first-parity gilts and their progeny. *J. Anim. Sci.* 74, 2711–2718.
- Mustafa, N., Mehmet, C., Fikret, K., Ibrahim, C., Mesut, A., 1998. Plasma levels of some vitamins and elements in aborted ewes in Elazig region. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 22, 171–174.
- Norton, O.A., McCarthy, F.D., 1986. Use of injectable vitamin E and selenium–vitamin E emulsion in ewes and suckling lambs to prevent nutritional muscular dystrophy. *J. Anim. Sci.* 52, 497–508.
- Ortman, K., Pehrson, B., 1997. Selenite and selenium yeast as fed supplements for dairy cows. *J. Vet. Med. A* 44, 373–380.
- Rowntree, J.E., Hill, G.M., Hawkins, D.R., Link, J.E., Rincker, M.J., Bender, G.W., Kreft, R.A., 2004. Effect of selenium on selenoprotein activity and thyroid hormone metabolism in beef and dairy cows and calves. *J. Anim. Sci.* 82 (10), 2995.
- SAS Institute Inc., 1985. *SAS User's Guide: Statistics*, ver., 5th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Shaw, D.T., Rozeboom, D.W., Hill, G.M., Booren, A.M., Link, J.E., 2002. Impact of vitamin and mineral supplement withdraw and wheat middling inclusion on finishing pig growth performance, fecal mineral concentration, carcass characteristics and the nutrient content and oxidative stability of pork. *J. Anim. Sci.* 80, 2920–2930.
- Sheppard, A.D., 1984. Levels of Se in blood and tissues associated with some selenium deficiency in New Zealand sheep. *N. Z. Vet. J.* 32, 59–91.
- Smith, G.M., Isopenko, A., 1997. Effect of doses protected polyunsaturated fatty acids on indicators of selenium status of sheep. *Res. Vet. Sci.* 62, 81–82.
- Spears, W.J., Harvey, R.W., Sergerson, E.C., 1986. Effects of marginal selenium deficiency and winter protein supplementation on growth, reproduction and selenium status of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 63, 586–593.
- Stowe, H.D., Herdet, T.M., 1992. Clinical assessment of selenium status of live stock. *J. Anim. Sci.* 70, 3928–3933.

- Thomsen, J.L., 1976. Cations (magnesium, potassium, sodium), creatinine, bilirubin and osmolality of the bovine fetal fluids. *J. Dairy Sci.* 59 (2), 288–292.
- Tiran, B., Karpf, E., Tiran, A., 1995. Age dependency of selenium and cadmium content in human liver, kidney, and thyroid. *Arch. Environ. Health* 50 (3), 242–246.
- 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.
- William, A., Alan, H., Bell, W., 1994. Sulfur and selenium accretion in the gravid uterus during late gestation in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77, 1860–1869.
- Wright, P.L., Bell, M.C., 1966. Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine. *Am. J. Physiol.* 211, 6–10.
- Young, S., Hawkins, W.W., Swingle, K.F., 1961. Nutritional muscular dystrophy in lambs—effect of administering selenium to pregnant ewes. *Am. J. Vet. Res.* 22, 419–421.

CAPITULO III (CHAPTER III)

-TIPO (TYPE):

MANUSCRITO DE INVESTIGACIÓN ORIGINAL (MANUSCRIPT OF ORIGINAL INVESTIGATION)

-AUTORES (AUTHORES):

ABD ELGHANY HEFNAWY; R. LÓPEZ-ARELLANO; A. REVILLA-VÁZQUEZ*; E. RAMÍREZ-BRIBIESCA; J. TÓRTORA-PÉREZ

-TITULO (TITLE):-

EFFECT OF PRE- AND POSTPARTUM SELENIUM SUPPLEMENTATION IN SHEEP. ALLANTOIC FLUID, COLOSTRUM, MILK AND PLASMA SELENIUM CONCENTRATIONS IN DAMS AND THEIR NEWBORN LAMBS.

-En preparación (Under preparation)

Effect of pre- and postpartum selenium supplementation in sheep. Allantoic fluid, colostrum, milk and plasma selenium concentrations in ewes and their newborn lambs.

Abd Elghany Hefnawy ^{a*}; R. López-Arellano*; A. Revilla-Vázquez*; E. Ramírez-Bribiesca**;
J. Tórtora-Pérez*

*Facultad de Estudios Superiores - Cuautitlan Universidad Nacional Autónoma de México
Km.2.5 Carretera Cuautitlan-Teoloyucan Cuautitlan Izcalli 54700 Edo. de Mexico - México

** Colegio de Postgraduados-Chapingo- km. 36.5 Carr. México - Texcoco 56230 Montecillo
Edo. de México

^{a*} Corresponding author

E-Mail abdelghani72@yahoo.com

Tel. 0052-5523320144

Fax. 0052-58705668

Effect of pre- and postpartum selenium supplementation in sheep. Allantoic fluid, colostrum, milk and plasma selenium concentrations in ewes and their newborn lambs.

Abd Elghany Hefnawy ^{a*}; R. López-Arellano*; A. Revilla-Vázquez*; E. Ramírez-Bribiesca**; J. Tórtora-Pérez*

Abstract

In this study, the effect of pre- and postpartum selenium (Se) supplementation on Se levels of the allantoic fluid, colostrum, milk and plasma as well as on the body weight gain of ewes and their newborn lambs was investigated. Thirty-two pregnant primiparus Pelibuey ewes were selected and classified randomly into three groups. The first group received subcutaneous (SC) Se supplementation with 0.1mg of sodium selenite/Kg BW at 7th, 4th week prepartum and 1st week postpartum. The second group was treated with oral Se supplementation 3mg of sodium selenite/head / week, for 7 weeks prepartum, while the third group remained as a control, without Se supplementation. Maternal plasma samples were collected weekly for 8 weeks pre- and postpartum and at parturition, while samples of the allantoic fluid were collected for 5 weeks prepartum. Plasma samples of the newborn lambs were collected at 48 hrs. of the age and weekly for 8 weeks. Samples of colostrum and then that of the milk were collected weekly for 8 weeks for determination of Se levels. The body weight of the lambs born to the SC Se supplemented ewes was higher than that of the control ($p<0.05$) group for the first two postpartum weeks. Allantoic fluid, colostrum, milk, maternal and lamb plasma Se concentrations were significantly increased in Se supplemented groups than that of the control ($p<0.05$). Positive relationships were observed between gestational age and Se concentration of the allantoic fluid ($r = 0.92$ to 0.96 ; $p<0.05$) and between milk and lamb plasma Se concentration ($r = 0.57$ to 0.73 ; $p<0.05$). Positive relationships were also detected between maternal plasma and milk Se concentration ($r = 0.66$ to 0.95 ; $p<0.05$) in Se supplemented groups, while negative relationship occurred in the control group ($r = - 0.60$; $p<0.05$). Milk and lamb plasma Se concentrations were higher in the SC group than that of the oral group ($p<0.05$), for the first two postpartum weeks. Prepartum sodium selenite supplementation was important to maintain the maternal plasma Se level during gestation and postpartum Se supplementation was important for maintaining milk and lamb plasma Se concentrations and improving the body weight gain of the newborn lambs. Allantoic fluid changes were confirmed as a good indicator of fetal Se status and may act as storage of Se and play a role in Se metabolism between the dam and fetus.

Key word: *Selenium (Se); allantoic; colostrum; milk; plasma*

Project funded by PAPIIT-UNAM IN 209 906-2

INTRODUCTION

Selenium (Se) deficiency could be prevented by oral supplementation, but digestive Se absorption in the ruminants varies between wide ranges, from 10 to 16% (Koenig *et al.*, 1991) to 51% (Harrison and Conard, 1984). Since lambs and ewes are more prone to disease when dams were deficient in Se during pregnancy, it is therefore believed that supplementation of pregnant animals with Se would minimize the occurrence of diseases. Se is transferred from the dam to the fetus across the placenta (Koller *et al.*, 1984; Van Suan *et al.*, 1989) and is present in the colostrum and milk (Cuesta *et al.*, 1995), according to the mother availability. Results of a previous work suggested that, fetus requirements were covered by the dam with regardless of their Se status, dam sacrificed its selenium levels to maintain fetus (Abd Elghany *et al.*, 2007). The total diet for sheep should contain 0.10 to 0.30 ppm of Se (Smith and Sherman, 1994; Ullery *et al.*, 1978). The choice of the treatment of Se deficiency will depend on the circumstances of each case, including cost, husbandry system and ease of administration (McPherson and Chalmers, 1984; Kott *et al.*, 1983).

The allantoic sac was traditionally considered to be a deposit for fetal wastes (Alexander and Williams, 1968). However, studies in pigs and sheep have shown that the allantoic sac may play an important role in the homeostasis of nutrients and metabolites used by the fetus (Bazer, 1989; Hyukjung *et al.*, 2003). Results of a previous work demonstrated that Se concentration in the allantoic fluid may be used as a good indicator of the fetal Se status throughout the gestational period (Abd Elghany *et al.*, 2007).

This work evaluated the effect of pre and postpartum Se supplementation in sheep on the Se levels of the maternal plasma, allantoic fluid, colostrum, milk, and plasma Se and on the body weight gain of the newborn lambs.

MATERIALS AND METHODS

Thirty two primiparus pregnant Pelibuey ewes were selected after ultrasound examination approximately 90 days of pregnancy. The ewes were 1.5-2 years of age with an average body weight of 41.09 ± 0.8 Kg. These ewes were divided into three groups, the first group (n=11) were supplemented with subcutaneous injection (SC) of sodium selenite, 0.1mg./Kg. BW, at the 7th and 4th weeks prepartum and at 1st week postpartum, at the same time weekly blood sample was collected. The second group (n=11) was orally supplemented with sodium selenite 3 mg/head in deionized water once weekly for 7 weeks prepartum while the third group was left as a control

(n=10). Animals received feed and water “*ad libitum*”. The diet was composed of alfalfa, ground corn, soybean and a mineral salt without Se, nevertheless diet Se contents were determined.

SAMPLING

Blood samples were collected by the jugular vein puncture weekly for eight pre- and postpartum weeks from the ewes. Newborn lambs were sampled at 48 hrs of the age and then weekly for 8 weeks. Blood samples were centrifuged immediately (2000 xg, 15 minutes) to obtain plasma which was stored at -20°C Allantoic fluid was collected by puncture with ultrasonographic guide at the 8th, 7th, 6th, 5th, and 4th prepartum weeks (Zeppertiz and GrÜn, 1991). Blood and colostrum were sampled at the day of the parturition as well as milk samples were collected in the morning weekly for eight postpartum weeks. The first nipple was cleared and then 2 ml of the milk were collected. All the samples were kept at (-20°C) until the analysis.

PREPARATION AND ANALYSIS OF THE SAMPLES

The plasma, allantoic fluid, colostrum and milk samples were processed by mixing 1 ml. of each sample with 10 ml. of deionized water, 5 ml. of concentrated nitric acid and 2 ml. of hydrogen peroxide (30%) (JT. Baker, Phillipsburg, N J.) keeping the solution at room temperature for 30 minutes in sealed Teflon vessels (Koenig *et al.*, 1997). Subsequently, the samples were placed in a microwave digester (Mars 5 CEM Corporation USA) with an increasing temperature ramp of 5 minutes to reach 120°C for plasma and allantoic fluid and 100 °C for colostrum and milk and it was held in this temperature for 2 minutes for plasma and allantoic fluid and 5 minutes for colostrum and milk. The temperature was then increased to 170°C for plasma and allantoic fluid and 140 °C for colostrum and milk within 5 minutes and maintained for 2 minutes for plasma and allantoic fluid and 10 minutes for colostrum and milk with a maximum pressure of 350 psi for plasma and allantoic fluid and 66 psi for colostrum and milk (Ortman and Pehrson, 1997). The samples were allowed to cool for 5 minutes in the oven and then left to obtain room temperature for 1 hour. The samples were then transferred to 50 ml. volumetric flasks and filled to the top with 7M HCl and left overnight (4°C) to be analyzed the following day. Se concentrations were determined with the aid of atomic absorption spectrophotometer (Varian, model Spectra AA-800).

STATISTICAL ANALYSIS

Means Pearson correlation coefficient, analysis of variance (ANOVA) and multiple regression analysis were performed using the Microsoft excel and Statgraphic plus v. 4

RESULTS

One ewe from the control group was aborted, and it may be attributed to the method of allantoic fluid extraction, and another one of the oral supplemented group was non pregnant and was eliminated. The dietary Se concentrations were 0.32 ppm and 0.34 ppm during pregnancy and lactation respectively.

No significant ($p>0.05$) differences in the maternal body weight (BW) were detected between Se supplemented and control groups. Nevertheless newborn lambs from SC Se supplemented ewes demonstrated a greater BW at the first two weeks of age than those born from the control group ($p<0.05$). The sex of the newborn lambs did not affect the BW. During the time of the study there were no significant differences in the BW in the lambs neither between both Se supplemented groups nor between the oral supplemented and control one (Table 1).

Maternal plasma Se concentration was significantly ($p<0.05$) higher in the oral supplemented than that of the SC supplemented group at the 6th and 5th weeks prepartum and at 1st week postpartum. At the 4th week prepartum, this situation was reversed and the maternal plasma Se concentration of the SC supplemented group was significantly ($p<0.05$) higher than that of the oral group. Maternal plasma Se concentrations in both Se supplemented groups were higher than that of the control group ($p <0.01$), until the 7th postpartum week when there was no significant difference between the supplemented and control groups. At parturition, maternal plasma Se concentrations were significantly decreased ($p<0.01$) in the control group, while that of the supplemented groups were maintained without significant difference from the prepartum levels (Fig.1). Maternal plasma and milk Se concentrations relationship in the supplemented groups was positive ($r = 0.66$ to 0.95 ; $p<0.05$), while this relationship was negative in the control group ($r = -0.60$; $p<0.05$) (Table 2).

A positive relationship ($r = 0.57$ to 0.73 ; $p<0.05$) was detected between milk and plasma Se concentrations in the lambs that born from Se supplemented and control groups (Table 2). Nevertheless, plasma Se concentration was higher in the lambs that born from supplemented ewes ($p<0.01$), until the 7th postpartum week. Plasma Se concentration of the lambs that born to SC supplemented ewes was greater than that of the oral group in the 1st, 2nd, 6th week ($p<0.01$) (Fig.2).

Allantoic fluid Se concentration increased in the supplemented groups than that of the control group ($p < 0.01$) and positive relationship ($r = 0.92$ to 0.96 ; $p < 0.05$) was demonstrated between allantoic fluid Se concentration and age of gestation in the supplemented and control groups (Fig. 3).

Se supplemented ewes produced colostrum with higher Se concentration than that of the control group ($p < 0.01$) while; differences in the colostrum Se concentrations in both Se supplemented groups were not significant. Colostrum Se values were 407.3 ± 31.2 ; 381.3 ± 19.4 , and 270.9 ± 32.7 ppb in oral, SC Se supplemented and control group respectively. Milk Se concentrations in the supplemented groups were higher than that of control group ($p < 0.01$), until 7th and 8th weeks postpartum (Figs 4). Nevertheless, milk Se concentrations were greater in the SC supplemented group than that of the oral group in the 1st and 2nd weeks postpartum ($p < 0.01$).

DISCUSSION

Maternal SC Se supplementation significantly ($p < 0.05$) increased the BW gain of the newborn lambs for the first two weeks. Similar results have been reported in the lambs from birth to 28 days when their dams received Se supplementation by injection (Rock *et al.*, 2001; Gabryszuk and Klewec, 2002). Similar condition occurred in the newborn calves from birth until 70 days or 5 months of age, when cows were supplemented with Se (Castellan *et al.*, 1999; Wichtel *et al.*, 1996). Nevertheless, other reports indicated that, Se supplementation did not influence the BW gain in cows and their calves (Awdeh *et al.*, 1998; Gunter *et al.*, 2003; Rowntree *et al.*, 2004)

Maternal plasma Se concentration, as expected, was significantly greater in the Se supplemented than that of the control group ($p < 0.01$) and decreased at the parturition, especially in the control group ($p < 0.01$). These results were supported by previous observations that indicated a great mobilization of the Se from the dam to the fetus at the end of gestation (Abd Elghany *et al.*, 2007). Se in colostrum and milk added to the rapid fetal growth and this suggest increased Se requirements in the late stage of pregnancy (Van Saun *et al.*, 1989). This observation may conclude the importance of the prepartum (Enjalbert *et al.*, 1999) and postpartum (Rowntree *et al.*, 2004) Se supplementation for maintaining the maternal Se levels. Weiss *et al.* (1984), found that cows fed Se supplemented diet during the dry period increased serum Se concentrations of their calves at the birth. In sheep oral Se supplementation resulted in adequate Se level in the dam to ensure effective transfer of the element to the fetus and provide to the neonate appropriate blood concentration to

prevent Se-deficient associated syndromes (Paulson *et al.*, 1968; Horton *et al.*, 1978; Loren *et al.*, (1984).

Se supplemented ewes produced colostrum with higher Se concentration than that of the control ($p < 0.01$), previous works reported the same results in sows (Mahan, 2000) and cows (Overnes *et al.*, 1985; Cuesta *et al.*, 1995; Rowntree *et al.*, 2004). Schingoethe *et al.* (1982), reported that dietary administration of Se (0.1 or 2 ppm Se) or selenite injection (5 mg Se / 45.4 kg BW) did not influence dairy cow colostrum Se concentrations in normal cows.

In this work supplemented ewes demonstrated a positive relationship between maternal plasma and milk ($r = 0.66$ to 0.95 ; $p < 0.05$), and their milk Se concentration was significantly higher than that of the control one ($p < 0.01$), while the relationship was significantly negative in the control group ($r = -0.60$; $p < 0.05$). As expected milk and lamb plasma Se concentrations relationship was positive in all groups ($r = 0.57$ to 0.73 ; $p < 0.05$), these results were similar to that obtained in previous works (Perhson *et al.*, 1999; Davis *et al.*, 2005). Maternal and lamb plasma Se concentrations did not correlate ($p > 0.05$), and this suggest that lambs mainly depend upon the milk Se source. Milk and lamb plasma Se concentrations in the SC supplemented group were greater than the oral ($p < 0.05$) in the first postpartum two weeks. This change probably was influenced by the Se injection (0.1mg / kg BW) to this group in the first postpartum week. Absence of differences in lamb plasma between supplemented groups at 3rd, 4th and 5th postpartum week may be related with the declining milk production in this period. Cardellino and Benson, (2002), reported that, the milk production of 2 years old ewe rearing twin lambs peaked at 21 days of the lactation. Similar results were previously reported in sheep supplemented orally or by injection (Gardner and Hüge, 1967; Givens *et al.*, 2004; Norton and McCarthy, 1986).

Maus *et al.* (1980), demonstrated a close relationship between Se concentrations in the plasma and milk in dairy cows. Dietary Se supplementation of pregnant beef cows markedly increased concentrations of Se in the colostrum and milk. This increase caused the suckling calves to have higher Se concentrations in their plasma (Koller *et al.*, 1984; Ammerman *et al.*, 1980; Salih *et al.*, 1987). Milk is normally the sole source of nutrients consumed by the lambs (Jenkins and Hidioglou, 1971) and these reinforce the importance of the maternal postpartum Se supplementation.

Allantoic fluid extraction was a simple, rapid and secure procedure, nevertheless authors never used it previously, only one animal probably aborted for its use. Se concentration in this fluid

was modified by the supplementation indicating a better contribution of the fetal Se status (Abd Elghany *et al.*, 2007). Allantoic fluid Se levels was higher in the Se supplemented than that of the control group ($p < 0.01$). Positive relationship ($r = 0.92$ to 0.96 ; $p < 0.05$) was demonstrated between allantoic fluid Se concentrations and gestational stage in both supplemented and control groups and this result confirmed with the previous findings (Grace *et al.*, 1986; Abd Elghany *et al.*, 2007) and hierarchies the use of alantoic fluid as indicator of the fetal Se status. Hyukjung *et al.*, (2003), demonstrated that, sheep allantoic fluid volume was increased progressively ($p < 0.01$) from days 40 to 120 and did not differ between days 120 to 140 of gestation, but at this period allantoic cystein concentration was increased, considering Se-cystein metabolic relationship, allantoic fluid may act as a storage of Se in the late stage of pregnancy and plays a role in Se metabolism between the dam and fetus.

Significant increase in the dam and lamb plasma Se concentration in the supplemented groups than that of the control one indicated that, the supplementation may allow adequate plasma Se levels which was higher than that of the normal values (110.1 ± 5.8 ppb) according to Mustafa *et al.* (1998). The diet used in the experiment had adequate Se levels and control group had normal plasma selenium concentrations however the supplementation improves this with a good result. It has been reported that, sheep receiving 12 mg/kg dietary Se gave birth to lambs with up to three-fold higher plasma Se than did in the non-supplemented (Davis *et al.*, 2005). Similar results have been reported in calves born from supplemented cows (Enjalbert *et al.*, 1999; Rowntree *et al.*, 2004). In this study, lambs born to Se supplemented ewes had greater plasma Se concentrations until the 6th week postpartum compared with lambs born from control ewes ($p < 0.05$). Significant increase in the maternal plasma Se concentration in the oral Se supplemented group than that of the SC group ($p < 0.05$) in the 6th, 5th pre- and 1st week postpartum indicates that, the oral method is better for supplementing Se and that is more available when supplemented as sodium selenite, despite the lower absorption and retention of Se in sheep (Koenig *et al.*, 1997).

CONCLUSION

While prepartum Se supplementation was important to maintain the maternal plasma Se levels, postpartum Se supplementation may improve the Se status in the milk and plasma of the newborn lambs. Supplementation of the newborn lamb is recommended to start at least in the 7th postpartum week even though they born from ewes supplemented with Se. Allantoic fluid Se levels are a good indicator of the fetal Se status and may act as storage of the element and plays a role in the Se metabolism between the dam and fetus.

REFERENCES

- Abd El Ghany, A.H., R. López A., A. Revilla V., E. Ramírez B., J. Tórtora P. 2007. The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats. *Small Rum. Res.* 73,174 -180.
- Alexander, G., Williams, D. 1968. Hormonal control of amniotic and allantoic fluid volume in ovariectomized sheep. *J. Endocrinol.* 41: 477 – 485.
- Ammerman, C.B., Chapman, H.L., Bowman, G.W., Fontento, L.P., Bagley, C.P., Moxon, A.L. 1980. Effect of supplemental selenium for beef cows on the performance and tissue selenium concentrations of cows and suckling calves. *J. Anim. Sci.* 51: 1381 - 1386.
- Awadeh, F.T., Kincaid, R.L., Johnson, K.A. 1998. Effect of level and sources of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. *J. Animal Sci.* 76: 1204–1215.
- Bazer, F.W. 1989. Allantoic fluid: regulation of volume and composition. In: Brace RA, Ross MG, Robillard J.E. (eds), *Reproductive and perinatal Medicine*. Vol. 11: Fetal and neonatal body fluids. Ithaca, NY: Perinatology Press; 135 – 155.
- Cardellino, R.A., Benson, M.E. 2002. Lactation curve of ewes rearing lambs. *J. Anim. Sci.* 80: 23-27.
- Castellan, D.M., Mass, J.P., Gardner, I.A., Oltejen, J.W., Sween, M.L. 1999. Growth of suckling beef calves in response to parenteral administration of selenium and the effect of dietary protein provided to their dams. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214: 816 – 821.
- Cuesta, P.A., McDowell, L.R., Kunkle, W.E., Wilkinson, N.S., Martin, F.G. 1995. Effects of high-dose prepartum injection of Se and vitamin E on milk and serum concentrations in ewes. *Small Rum. Res.* 18: 99-103.
- Davis, P.A., McDowell, L.R., Wilkinson, N.S., Buergelt, C.D., Van Alstyne, A., Weldon, R.N., Marshall, T.T. 2005. Effects of selenium levels in ewes diet on selenium in milk and the plasma and tissue selenium concentrations of lambs. *Small. Rum. Res.* 65: 14 – 23.
- Enjalbert, F., Lebreton, P., Salato, O., Schelcher, F. 1999. Effects of pre- or postpartum selenium supplementation on selenium status in beef cows and their calves. *J. Animal. Sci.* 77: 223–229.
- Gabryszuk, M., Klewicz, J. 2002. Effect of injection 2- and 3- year- old ewes with selenium and selenium – vitamin E on reproduction and rearing of lambs. *Small Rum. Res.* 43: 127 – 132.

- Gardner, R.W., Hogue, D.E. 1967. Milk levels of selenium and vitamin E related to nutritional muscular dystrophy in the suckling lamb. *J. Nutr.* 93: 418-424.
- Givens, D.I., Allison, R., Cottrill, B., Blake, J.S., 2004. Enhancing the selenium content of bovine milk through alteration of the form and concentration of selenium in the diet of the dairy cow. *J. Sci. Food Agric.* 84: 811-817.
- Grace, N.D., Watkinson, J.H., Martinson, P.L., 1986. Accumulation of minerals by the fetus (es) and conceptus of single and twine-bearing ewes. *N.Z. J. Agric. Res.* 29: 207.
- Gunter, S.A., Reck, P.A., Phillips, J.K. 2003. Effects of supplementary selenium source on the performance and blood measurements in beef cows and their calves. *J. Anim. Sci.* 81: 856 – 864.
- Harrison, J.H., Conrad, H.R. 1984. Effect of selenium intake on selenium absorption in the non-lactating dairy cow. *J Dairy Sci.* 67: 123-132.
- Horton, G.M.J., Jenkins, W.L., Rettenmaier. R. 1978. Haematological and blood chemistry changes in ewes and lambs following supplementation with vitamin E and selenium. *Br. J. Nutr.* 40: 193.
- Hyukjung, K., Thomas, E.S., Fuller, W. B., Guoyao, Wu. 2003. Developmental changes of amino acids in ovine fetal fluids. *Biol. of Reprod.* 68: 1813 – 1820.
- Jenkins, K.J.; Hidioglou, M. 1991. Transmission of selenium as selenite and as selenomethionine from ewe to lamb via milk. *Can. J. Anim. Sci.* (Aug) 51: 389 – 403.
- Koenig, K. M., Buckley, W.T., Shelford, J.A. 1991. Measurement of endogenous fecal excretion and true absorption of selenium in dairy cows. *Can. J. anim. Sci.* 71: 167-174.
- Koenig, K. M., Rode, L. M., Cohen, R.D.H., Buckley, W.T. 1997. Effects of diet and chemical forms of selenium on selenium metabolism in sheep. *J. Anim. Sci.* 75: 817–827.
- Koller, L.D., Whitbeck, G.A., South, P.J., 1984. Transplacental transfer and colostrums concentrations of selenium in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 45: 2507-2510.
- Kott, R.W., Ruttle, J.L., Southward, G. M. 1983. Effects of vitamin E and selenium injections on reproduction and preweaning lamb survival in ewes consuming diets marginally deficient in selenium. *J. Animal Sci.* 57: 331-337.
- Loren, D. Koller; Ginny, A. Whitbeck; Peter, J. South. 1984. Transplacental transfer and colostrum concentrations of selenium in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* Vol. 45, No. 12: 2507–2510.
- McPherson, A., Chalmers, J. S. 1984. Methods of selenium supplementation of ruminants. *J. Vet. Rec.* 115: 544–546.

- Mahan, D.C. 2000. Effect of organic and inorganic selenium sources and levels on sow colostrum and milk selenium content. *J Anim. Sci.* 78: 1537–105.
- Maus, R. W., Martz, F. A, Belyea, R. L., Weiss, M.F. 1980. Relationship of dietary selenium to selenium in plasma and milk from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 63:532.
- Mustafa, N., Mehmet, C., Fikret, K., Ibrahim, C., Mesut, A., 1998. Plasma levels of some vitamins and elements in aborted ewes in Elazig region. *Tr. J. Vet. And Anim. Sci.* 22: 171–174.
- Norton, S.A., McCarthy, F.D. 1986. Use of injectable vitamin E and selenium-vitamin E emulsion in ewes and suckling lambs to prevent nutritional muscular dystrophy. *J. Anim. Sci.* 62: 497-508.
- Ortman, K., Pehrson, B.; 1997. Selenite and selenium yeast as fed supplements for dairy cows. *J. Vet. Med. A.* 44: 373–380.
- Overnes, G., Moksnes, K., Frosli, A., Gunnar, J.G., Flaas, J. 1985. The effect of different levels of selenium in mineral mixtures and salt licks on selenium status in sheep. *Acta Vet. Scand.* 26: 405 – 416.
- Paulson, G.D., Broderick, G.A., Bauman, C.A., Pop, A.L. 1968. Effect of feeding sheep selenium fortified trace mineralized salt: Effect of tocopherol. *J. Anim. Sci.* 27: 195.
- Pehrson, B., Ortman, K., Madjid, N., Trafikowska, U. 1999. The influence of dietary selenium as selenium yeast or sodium selenite on the concentration of selenium in the milk of suckler cows and on the selenium status of their calves. *J. Anim. Sci.* 77: 3371 – 3376.
- Rock, M.J., Kincaid, R.L., Carstens, G.F. 2001. Effects of prenatal source and level of dietary selenium on passive immunity and thermometabolism in new born lambs. *Small Rum. Res.* 40: 129–138.
- Rowntree, J.E., Hill, G.H., Hawkins, D.R., Link, J.E., Rincker, M.J., Bednar, G.W., Kreft, Jr. R. A. 2004. Effect of selenium on selenoprotein activity and thyroid hormone metabolism in beef and dairy cows and calves. *J. Anim. Sci.* 82: 2995–3005.
- Salih, Y., McDowell, L. R., Hentges, J. F., Mason, R. M. Jr., Wilcox, C. J 1987. Mineral content of milk, colostrum and serum as affected by physiological state and mineral supplementation. *J. Dairy Sci.* 70: 608.
- SAS Institute Inc., 1985. *SAS User's Guide: Statistics*, ver. 5 ed., SAS Institute, Cary, NC
- Schingoethe, D.J., Kirbirde, C.A., Palmer, I.S., Owens, M.J., Tucker, W.L. 1982. Response of cows consuming adequate selenium to vitamin E and selenium supplementation prepartum. *J. Dairy Sci.* 65: 2338-2344.
- Smith, M.C., Sherman, D.M. 1994. *Goat Medicine* 2nd. Ed.

- Ullery, D. E., Light, M. R., Brady, P.S., Whetter, P.A., Tilton, J.E., Henneman, H. A., Magee, W.T. 1978. Selenium supplementations in salt for sheep. *J. Animal Sci.* 46:561-562.
- 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.
- Weiss, W.P., Colenbrander, V. F., Cunningham, M.D. 1984. Maternal transfer and retention of supplemental selenium in neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 67: 416–420.
- Wichtel, J.J., Craigie, A.L., Freeman, D.A., Varelar-Alvarez, H., Wiliamson, N.B.1996. Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotrophic function in dairy calves at pasture. *J. Dairy Sci.* 79: 1865–1872.
- Zeppertiz, H., Grun, E. 1991. Administration of vitamin D3 metabolites to dairy cows in late lactation on maternal-fetal mineral metabolism 2. Influence on mineral content of amniotic and allantoic fluid (in German). In *Mengen- und Spurenelemente*. 11 Arbeitstagung, Leipzig, 12-13 December, pp. 78-86.

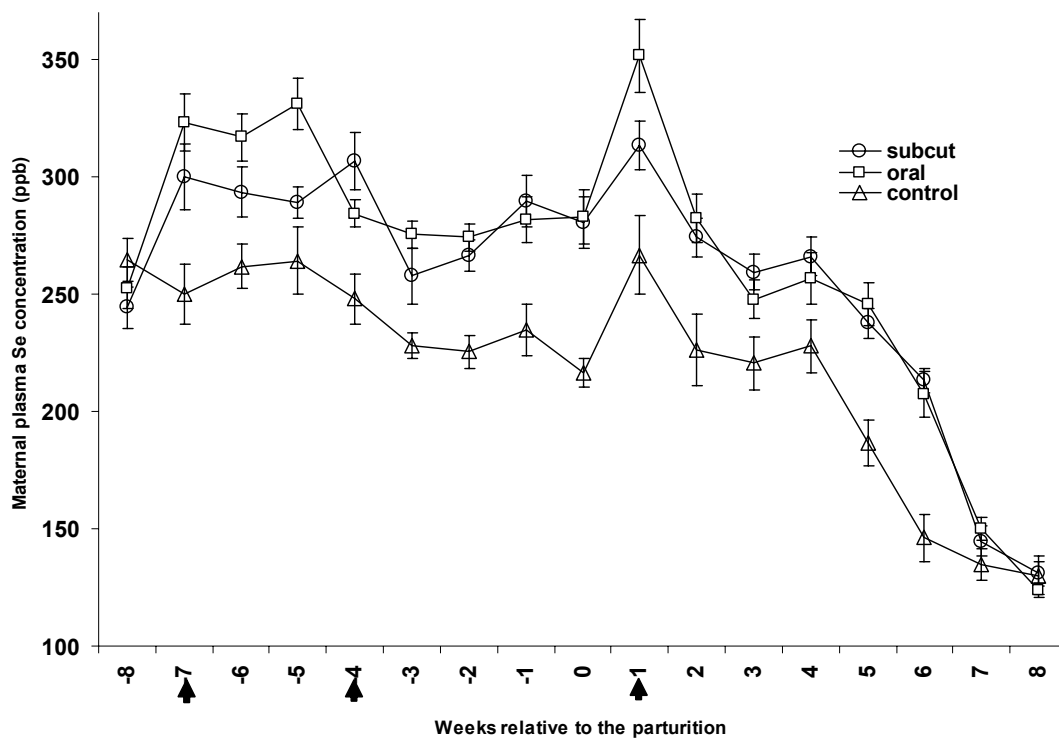


Fig. 1 Maternal plasma Se concentrations in Se supplemented and control groups. Arrows indicate each S/C Se injection.

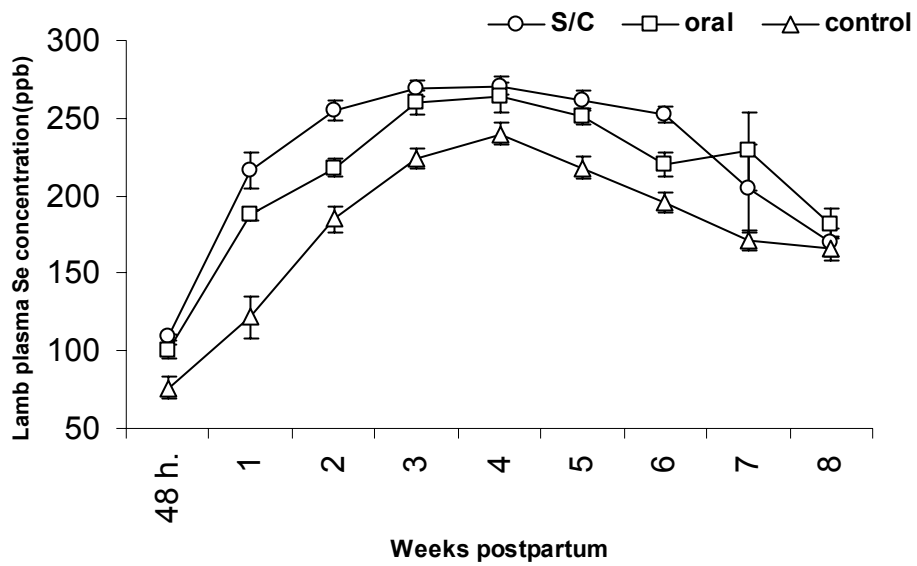


Fig. 2 Lamb plasma Se concentration in Se supplemented and control groups.

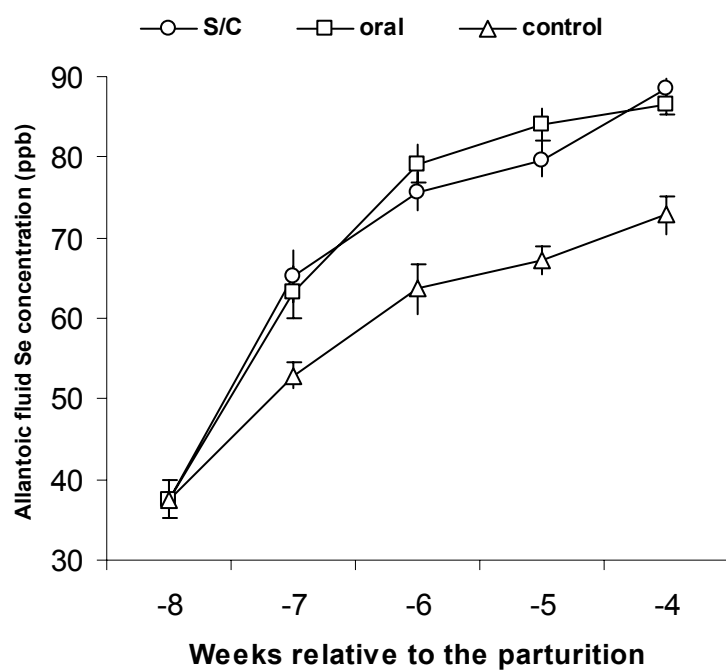


Fig. 3 Allantoic fluid Se concentration in Se supplemented and control groups.

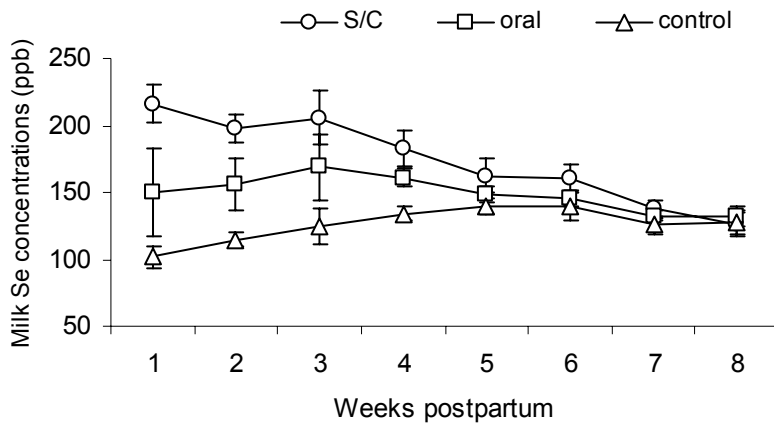


Fig. 4 Milk Se concentration in Se supplemented and control groups.

Table 1 Mean (\pm SEM) of the body weight (kg) of the lambs born to S/C, oral Se supplemented and control ewes.

Group	Age of the lambs (week)								
	0 day	1	2	3	4	5	6	7	8
S/c	2.8 \pm 0.1	4.4 \pm 0.1 ^a	5.5 \pm 0.2 ^a	5.9 \pm 0.2	6.6 \pm 0.2	7.5 \pm 0.2	8.2 \pm 0.3	9.1 \pm 0.4	9.6 \pm 0.4
Oral	2.6 \pm 0.2	4.1 \pm 0.3	5.2 \pm 0.3	5.8 \pm 0.3	6.7 \pm 0.4	7.7 \pm 0.5	8.7 \pm 0.7	9.7 \pm 1	10 \pm 0.8
Control	2.7 \pm 0.2	3.6 \pm 0.2 ^b	4.5 \pm 0.3 ^b	5.3 \pm 0.3	6.1 \pm 0.5	7.1 \pm 0.4	8.1 \pm 0.5	9.2 \pm 0.6	9.6 \pm 0.6

Table 2 The relationship between milk, maternal plasma and lamb plasma Se concentrations in Se supplemented and control group.

Milk Se	Maternal plasma Se	Lamb plasma Se
S/C group	0.95 **	0.57 *
Oral group	0.66*	0.6 *
Control group	- 0.60*	0.73 *

*** P < 0.05 ** p < 0.01**

DISCUSIÓN GENERAL

SE EN LOS LÍQUIDOS FETALES Y SUS CORRELACIONES

Como muestran los resultados de la primera parte de este trabajo, la falta de correlación entre las concentraciones de Se en el líquido amniótico y el plasma materno, indica que desde el inicio de la gestación el feto cubre sus requerimientos del elemento, independientemente de la condición y disponibilidad del mismo en la madre. Por el contrario el aumento ($p < 0.01$) en la concentración de Se en el líquido alantoideo, conforme progresa la edad gestacional, enfatiza la importancia de esta transferencia, desde la madre al feto. Considerando que la mayor parte del líquido alantoideo corresponde a la filtración urinaria, este incremento sugiere que el paso de Se al feto es excesivo y que este hace un mal uso del elemento en perjuicio de la madre. Sin embargo, en fechas recientes se ha propuesto que el líquido alantoideo no sea una secreción de deshecho, sino que podría actuar como un sistema de homeostasis para el producto (Hyukjung *et al.*, 2003). Esta posibilidad está de acuerdo con el hallazgo, en este estudio, de que la concentración de Se en el líquido alantoideo, correlaciona significativamente con las concentraciones del elemento en el hígado fetal ($r = 0.35$ a 0.37 ; $p < 0.05$). Además, esta correlación, apoya nuestra propuesta de que la cuantificación de Se en el líquido alantoideo es un indicador adecuado para valorar la condición fetal (Abd Elghany *et al.*, 2007).

La extracción del líquido alantoideo en las ovejas fue un procedimiento fácil, rápido y seguro hasta la 4ta semana preparto, periodo a partir del cual el desarrollo fetal determinó una reducción relativa del saco corioalantoideo (Hyukjung *et al.*, 2003). La concentración de Se en este líquido se modificó con la suplementación de las madres, confirmando que la suplementación contribuye al aporte fetal y reduce el impacto del drenaje materno al producto. El incremento en la excreción de Se al líquido alantoideo, en particular al final de la gestación, eleva la pérdida del elemento y el riesgo de deficiencia en la madre. Nuestros resultados confirman y amplían las observaciones de otros autores en fetos de ovejas suplementadas (Ahmed *et al.*, 1990) y enfatizan la importancia de suplementar al parto a los animales gestantes. Aún cuando los niveles plasmáticos maternos sean normales, este procedimiento puede ayudar a prevenir el riesgo de deficiencia causado por la transferencia transplacentaria rápida, desde la madre al feto. La suplementación de ovejas gestantes con Se, es una terapia definida desde hace más de cuarenta años y ha resultado una buena estrategia de prevención de la distrofia muscular nutricional en corderos recién nacidos, que incluso previene las variaciones en las

concentraciones de Se en el plasma y el hígado materno (Young *et al.*, 1961; Hamdy *et al.*, 1963; Wright y Bell, 1966; Hidroglou *et al.*, 1969).

Hyukjung *et al.* (2003), encontraron que el volumen del líquido alantoideo de las borregas se incrementa progresivamente ($p < 0.01$) desde el día 40 hasta los 120 días de gestación, para estabilizarse hasta el día 140. Estos mismos autores, en el análisis bioquímico del líquido, indican que en este período, 120 a 140 días, ocurre un incremento en la concentración de cisteína. Considerando los resultados de este trabajo, los incrementos de Se en el líquido podrían corresponder parcialmente a las formas selenificadas del aminoácido (Se-cisteína). De ser así, el líquido alantoideo podría incluso actuar como reservorio del elemento y jugar un papel importante en el metabolismo y la homeostasis del Se entre la madre y el feto.

En este estudio, la concentración de Se en el líquido alantoideo de borregas y cabras se incrementó significativamente ($p < 0.01$) con la edad del feto, mientras se redujo en el líquido amniótico ($p < 0.01$). Grace *et al.* (1986), observaron en borregas que la concentración de Se en muestras mezcladas de líquido amniótico y alantoideo, se incrementó con la madurez fetal. Estos datos contrastan con los obtenidos en este trabajo y sugieren que el incremento en el líquido alantoideo es suficientemente alto para enmascarar la caída de Se en el líquido amniótico.

En borregas de gestación simple, al final de la gestación, el Se fetal representa alrededor del 66% del Se total del feto, sin membranas ni líquidos de los anexos (amnios y alantoides) (Grace *et al.*, 1986). A su vez en vacas se ha señalado que la concentración de Se se incrementó en las membranas fetales entre los días 90 a 270 de la gestación (Ferrell *et al.*, 1982; William *et al.*, 1994). El incremento de Se en el líquido alantoideo indica que el feto excreta gran cantidad del elemento al final de la gestación, lo que sugiere una elevada transferencia transplacentaria desde la madre (Young *et al.*, 1961; Hamdy *et al.*, 1963) o bien el cambio, podría asociarse a variaciones en la osmolaridad entre el líquido amniótico y el alantoideo, con paso de selenio desde el primer al segundo compartimiento (Thomsen, 1976; Gilbert, 1999).

En la segunda parte de este trabajo, se constató que la concentración de Se en el líquido alantoideo se fue incrementado significativamente en los grupos suplementados, más que en el grupo control ($p < 0.01$). En esta segunda parte nuevamente se estableció una relación positiva ($r = 0.92$ a 0.96 ; $p < 0.05$) entre la concentración de Se en el líquido alantoideo y la edad del feto en ambos grupos, suplementado y no suplementado, confirmado resultados de Grace *et al.*, 1986 y

confirmando que la concentración de Se en el líquido alantoideo es un buen indicador de la condición del Se fetal (Abd Elghany *et al.*, 2007).

SE TISULAR MATERNO Y FETAL

La concentración de Se en el hígado fetal se incrementó significativamente con la edad del feto en ambas especies, ovejas y cabras, en forma semejante a lo señalado por Ahmed *et al.* (1990), en ovejas suplementadas. El mismo resultado ha sido señalado en bovinos (Goonerante y Christenen, 1989; Abd Elrahman y Kincaid, 1993). En contraparte, existen comunicaciones que indican que la concentración de Se en el hígado fetal, no se modificó con la edad de la gestación en vacas (Van Saun *et al.*, 1989; William *et al.*, 1994) o señalan que solo encontraron cambios mínimos en el hígado y los tejidos fetales de corderos al final de la gestación (Hidroglou *et al.*, 1969; Grace *et al.*, 1986).

En bovinos, Koller *et al.* (1984), reportaron que la concentración de Se en el hígado fetal se incrementó progresivamente con el avance de la gestación, hasta llegar a ser 3 a 6 veces más alta que la del hígado materno. En este trabajo, la concentración de Se en el hígado materno aunque se redujo, se mantuvo en valores significativamente más altos que los del hígado fetal ($p < 0.01$) y estos resultados sugieren que ambos, madre y feto, dependen del Se reservado en el hígado materno, para mantener sus niveles del elemento. En cerdos Hostetler y Kincaid (2004), encontraron que la concentración de Se del hígado fetal se redujo con el avance de la gestación, después de los 45 días, en cerdas alimentadas con dietas bajas en Se. Se ha señalado que la concentración de Se en el hígado de las cerdas es más alta que la de sus recién nacidos (Mahan *et al.*, 1975; Mahan *et al.* 1977; Mahan y Kim, 1996), en forma semejante a lo reportado mayoritariamente para los rumiantes. Por lo anterior la cuantificación de Se en el hígado materno puede ser un buen método para determinar el estado del Se en la madre y el feto. La reducción del Se hepático y plasmático de la madre, observada en este trabajo, es atribuible a la movilización del elemento en primera instancia hacia el feto y luego al calostro y la leche (Hawkes *et al.*, 2004).

La presencia de una relación negativa ($r = -0.22$ a -0.50 ; $p < 0.05$) entre los niveles de Se en el hígado materno y fetal y por el contrario, una relación positiva ($r = 0.37$ a 0.57 ; $p < 0.05$) entre el hígado y el plasma materno, son indicadores del movimiento de Se materno al feto. Los resultados sugieren que la transferencia de Se materno ocurre primero desde el plasma y luego la

hembra moviliza Se hepático para sostener sus niveles plasmáticos y el aporte fetal en la gestación tardía.

La concentración de Se en el riñón fetal también se incrementó significativamente ($p < 0.01$) con la maduración del feto y en acuerdo con resultados previos de Abd Elrahman y Kincaid (1993). En la primera parte de este estudio, todas las muestras analizadas de hígado y riñón fetal, de ovejas y cabras, presentaron concentraciones de Se dentro de lo considerado como rangos normales (Ahmed *et al.*, 1990). En contraste solo el 43.3% de las ovejas muestreadas y el 52.7% de las cabras, presentaron niveles plasmáticos considerados normales para el final de la gestación (110.1 ± 5.8 ppb) (Smith y Isopenko, 1997; Mustafa *et al.*, 1998). Los valores normales en los fetos, contra niveles inadecuados en las hembras, indican que el aporte de Se a los fetos se protege y ocurre en forma independiente de la condición de la madre y aún sacrificándola.

El riñón y las glándulas tiroideas, tanto de ovejas como de cabras, presentaron una concentración de Se significativamente más baja que la del hígado fetal ($p < 0.01$), resultados semejantes fueron reportados por Tiran *et al.* (1995). La baja concentración de Se en las glándulas tiroideas del feto, que por otra parte no presentaron cambios histológicos relevantes, sugiere que la actividad de las glándulas fetales no sería tan dependiente del Se como lo que ocurre en los adultos (Beckett y Arthur, 2005), posiblemente como consecuencia de la dependencia metabólica de la madre durante la gestación. En el riñón de borregos adultos, se ha indicado una concentración de Se más alta que la del hígado, páncreas, corazón y músculo esquelético (Combs y Combs, 1986).

EFEECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE SE EN LAS OVEJAS

La concentración materna de Se plasmático, como se esperaba, resultó significativamente más alta ($p < 0.01$) en los grupos suplementados que en el grupo control y se redujo al parto, particularmente en el grupo control ($p < 0.01$). Estos resultados suportaron las observaciones previas, que sugerían una elevada movilización de Se desde la madre al feto al final de la gestación (Abd Elghany *et al.*, 2007), a lo que se agregó el paso del Se al calostro y la leche (Van Saun *et al.*, 1989). Estas observaciones permiten soportar las recomendaciones de la conveniencia de la suplementación de Se preparto (Enjalbert *et al.*, 1999) y posparto (Rowntree *et al.*, 2004), para mantener el estado de Se materno y evitar deficiencias, en particular en sistemas de producción, donde las hembras están sometidas a programas de reproducción intensivos en

procura de lograr tres partos en dos años. También en vacas se ha señalado que la suplementación de Se durante el periodo seco, aumenta la concentración de Se en el suero de sus becerros (Weiss *et al.*, 1984). En este trabajo, la suplementación oral de Se a las ovejas, también aseguró niveles adecuados del elemento y su transferencia efectiva a los fetos y los recién nacidos, como ha sido señalado por otros autores (Paulson *et al.*, 1968; Horton *et al.*, 1978; Loren *et al.*, 1984).

El calostro de las ovejas suplementadas con Se, demostró concentraciones más altas del elemento ($p < 0.01$) que el grupo control, con valores de 407.3 ± 31.2 ; 381.3 ± 19.4 , y 270.9 ± 32.7 ppb en el grupo oral, subcutáneo y control, respectivamente. Estudios previos reportaron lo mismo en cerdos (Mahan, 2000) y en vacas (Overnes *et al.*, 1985; Cuesta *et al.*, 1995; Rowntree *et al.*, 2004), mientras, Schingoethe *et al.*, 1982, señalan que la adición de Se en la dieta (0.1 o 2 ppm Se) o la inyección de selenato (5 mg Se / 45.4 kg PV), no tuvo efecto sobre la concentración de Se en el calostro de vacas normales.

El incremento significativo en la concentración plasmática de Se, en las ovejas y sus corderos, de los grupos suplementados, comparado con el grupo control, indica que el tratamiento determinó un nivel plasmático más adecuado para los rangos normales (110.1 ± 5.8 ppb) (Mustafa *et al.*, 1998). La dieta usada en el experimento tuvo un nivel de Se adecuado según requerimientos y el grupo control tuvo niveles considerados normales del elemento, sin embargo la suplementación mejoró estos niveles con mejores resultados para la hembra y su cordero. Borregos que recibieron 12 mg Se/kg en la dieta presentaron niveles del elemento 3 veces más altos que los no suplementados (Davis *et al.*, 2005). Resultados semejantes fueron reportados en becerros nacidos de madres suplementadas con Se (Enjalbert *et al.*, 1999; Rowntree *et al.*, 2004). En este trabajo, los corderos que nacieron de las madres suplementados tuvieron niveles de Se más altos ($p < 0.05$) que los corderos nacidos del grupo control hasta la 6° semana posparto.

El mayor incremento ($p < 0.05$) en la concentración plasmática de Se en el grupo de ovejas con suplementación oral, contra el grupo de tratamiento subcutáneo, en las semanas 6°, 5° pre- y 1° posparto, indica que esta vía de suplementación empleando selenito es adecuada y permite una buena bio-disponibilidad, a pesar de la baja absorción y retención señalada en los rumiantes y en particular en ovinos (Koenig *et al.*, 1997). Las ovejas suplementadas con Se demostraron una relación positiva ($r = 0.66$ a 0.95 ; $p < 0.05$) entre los niveles de Se en el plasma y la leche. Los niveles en la leche se incrementaron más ($p < 0.01$), en las ovejas suplementadas contra las controles; adicionalmente en el grupo control, la relación entre leche y plasma resultó negativa (r

= -0.60; $p < 0.05$). Estos datos indican que en el período de estudio, próximo al parto, la suplementación de las ovejas resulta crítica, para que los animales puedan mantener un buen aporte del elemento en la leche, sin sacrificar su propia condición, como ocurrió en los animales controles.

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE SE EN LOS RECIÉN NACIDOS

En este estudio, la suplementación parenteral a las hembras, incrementó la ganancia del peso de los corderos recién nacidos en las primeras dos semanas, en comparación con los corderos del grupo control ($p < 0.05$), resultados semejantes han sido ya señalados desde el nacimiento hasta los 28 días de edad en corderos (Rock *et al.*, 2001; Gabryszuk y Klewicz, 2002) y en becerros recién nacidos de madres suplementadas hasta los 70 días o 5 meses de edad, (Castellan *et al.*, 1999; Wichtel *et al.*, 1996). Sin embargo otros reportes indican que la suplementación con Se no tuvo efecto sobre la ganancia del peso de las vacas o sus becerros (Awdeh *et al.*, 1998; Gunter *et al.*, 2003; Rowntree *et al.*, 2004).

Las concentraciones de Se en la leche y el plasma de los corderos se correlacionaron positivamente en todos los grupos del segundo trabajo ($r = 0.57$ a 0.73 ; $p < 0.05$), resultados similares han sido reportados previamente (Perhson *et al.*, 1999; Davis *et al.*, 2005). Las concentraciones de Se en el plasma materno y en el de los corderos no se relacionaron ($p > 0.05$), sugiriendo que los corderos principalmente son dependientes del Se presente en la leche. Las concentraciones de Se en la leche y en el plasma de los corderos de las ovejas suplementadas por vía subcutánea, fueron más altas que las del grupo oral ($p < 0.05$), en las primeras dos semanas posparto. Esta diferencia probablemente fue influenciada por la aplicación de Se en este grupo, en la primera semana posparto. En contraste, la igualdad de concentraciones plasmáticas de Se, en los corderos de los dos grupos suplementados durante la 3^o, 4^o y 5^o semana posparto, puede explicarse por la pérdida del efecto de esa suplementación y relacionarse con la reducción en la producción de leche en este periodo (Cardellino y Benson, 2002). Resultados semejantes fueron previamente reportados en borregos suplementados por vía oral y parenteral (Gardner y Hüge, 1967; Givens *et al.*, 2004; Norton y McCarthy, 1986).

Maus *et al.* (1980), encontraron una fuerte relación entre la concentración de Se en el plasma y la leche de vacas lecheras. La suplementación de Se en la dieta de las vacas gestantes, aumentó la concentración de Se en el calostro y la leche, y éste aumento determinó que los

becerros recién nacidos presentaran una concentración plasmática de Se más alta (Ammerman *et al.*, 1980; Koller *et al.*, 1984; Salih *et al.*, 1987). La leche es la única fuente de nutrientes para los corderos (Jenkins y Hidioglou, 1971) y los resultados obtenidos en este estudio refuerzan la importancia del Se y de su suplementación posparto.

GENERAL DISCUSSION

FETAL FLUIDS SE AND THEIR CORRELATIONS

According to the results of the first part of this study, absence of relationships between the amniotic fluid and maternal plasma Se concentrations suggests that the fetus obtains its Se requirements, regardless of the maternal plasma level. A significant ($p < 0.01$) increase of Se concentration in the allantoic fluid with the age of the fetus, indicates an increased transfer from the dam to the fetus and greater excretion of Se by the fetus. Hyukjung *et al.* (2003), demonstrated that sheep allantoic fluid volume increased progressively ($p < 0.01$) from gestation day 40 to 120 and did not differ between days 120 to 140 of gestation, but at this period allantoic cysteine concentration increased. Considering Se-cysteine metabolic relationships, allantoic fluid may act as storage of this element in the late stage of pregnancy and plays a role in Se metabolism between dam and fetus.

Allantoic fluid extraction was a simple, rapid and save procedure, until the 4th week prepartum, nevertheless the author never used it previously, only one animal was aborted for its use. Se concentration in this fluid was modified by supplementation indicating a better contribution to the fetus Se status (Abd Elghany *et al.*, 2007). In this study, Se concentrations in the allantoic fluid of sheep and goats increased significantly ($p < 0.01$) together with the age of the fetus, while the concentrations in the amniotic fluid decreased significantly ($p < 0.01$). Grace *et al.* (1986), also found Se concentrations in mixed amniotic and allantoic fluid to increase in sheep as the fetus matured.

Among monotocous ewes nearing the end of gestation, fetal Se accounted for about 66% of the total in the conceptus. In cattle non-fetal conceptus, the Se level increased between 190-270 days of gestation (Ferrell *et al.*, 1982; William *et al.*, 1994). The allantoic fluid Se concentration increased, indicating that the fetus excretes an elevated amount of this element at this late stage of pregnancy - which is probably associated with a high transplacental transfer from the dam (Young *et al.*, 1961; Hamdy *et al.*, 1963) or variations in fluid osmosis between amniotic and allantoic fluid (Thomsen, 1976; Gilbert, 1999).

Increased excretion of Se to the allantoic fluid, especially during the late stage of pregnancy, is a factor that influences the loss of maternal Se and increases the risk of dam

deficiency. High blood and tissue (kidney cortex, liver and spleen) Se concentrations have been reported in fetuses from Se-treated ewes - indicating transplacental transfer of Se from the dam (Ahmed *et al.*, 1990). Thus, Se supplementation to pregnant animals during the last few weeks of gestation has been shown to be an important practical recommendation, even though the maternal plasma level may be normal, this precaution will help avoid the risk of Se deficiency caused by the rapid transplacental transfer of Se from the dam to the fetus. Se treatment in pregnant ewes has been proven to be successful in preventing nutritional muscular dystrophy in new born lambs, the therapy preventing a variation in the Se concentrations in both the plasma and the maternal liver (Young *et al.*, 1961; Hamdy *et al.*, 1963; Wright and Bell, 1966; Hidroglou *et al.*, 1969).

In the 2nd experimental part of this study, allantoic fluid Se levels was higher in Se supplemented groups than that of the control ($p < 0.01$). A high positive relationship ($r = 0.92$ to 0.96 ; $p < 0.05$) was demonstrated between allantoic fluid Se concentrations and gestational age in both supplemented and control groups. This result confirmed previous findings (Grace *et al.*, 1986) and hierarchies the use of allantoic fluid as indicator of the fetal Se status (Abd Elghany *et al.*, 2007).

MATERNAL AND FETAL TISSUES SE

In this study fetal liver Se concentration increased significantly ($p < 0.01$), together with the age of the fetus in both sheep and goats. Similar results have been previously reported by other authors for bovine (Goonerante and Christenen, 1989; Abd Elrahman and Kincaid, 1993). However, the fetal liver Se concentrations are not affected by the gestational stage in dairy cattle (Van Saun *et al.*, 1989; William *et al.*, 1994). Hidroglou *et al.* (1969) and Grace *et al.* (1986) found minimal changes in liver and other tissue Se concentrations of fetal lambs during late gestation.

In bovine, Koller *et al.* (1984), reported fetal liver Se to increase progressively as pregnancy advanced - reaching levels 3 to 6 times higher than those in the liver of the dam. These results do not reflect the results of the present study, where Se in the maternal liver was significantly ($p < 0.01$) higher than that found in the fetal liver. The results suggest that both the fetus and the dam depend on Se stored in the maternal liver to maintain their Se status. Hostetler and Kincaid (2004) found the liver Se concentration to decrease in the fetus with advancement of gestation beyond day 45 in sows fed a diet low in Se. Mahan *et al.* (1975), Mahan *et al.* (1977), Mahan and Kim, (1996) demonstrated maternal hepatic Se levels in sows to be greater than the hepatic concentration in the

offspring. Variations in species regarding the relative concentrations of Se in the fetal and maternal liver have been recorded. These differences may be attributed to differences in maternal fetal transplacental transfer, liver - plasma mobilization, Se diet utilization and absorption, and metal hepatic metabolism. Quantification of Se in maternal liver may be considered the best method for determining the Se status in both the dams and fetuses. Changes in the maternal liver Se level may be attributed to the Se mobilization to colostrum and milk or to the rapid growth of the fetus during late pregnancy - causing an increase in fetal requirements and thus leading to a reduction of Se in the maternal blood and tissues (Hawkes *et al.*, 2004).

The significant ($p < 0.05$) negative correlation ($r = -0.22$ to -0.50) between the Se level in the maternal and fetal liver and the significant ($p < 0.05$) positive correlation ($r = 0.37$ to 0.57) between the Se in the maternal liver and plasma, indicate the withdrawal of a large quantity of maternal Se, which is then transferred to the fetus. The results obtained suggest that the drainage of maternal Se firstly occurs from the maternal plasma and then by means of liver mobilization - which may explain the low maternal Se status of the dam during late pregnancy.

In the current evaluation, the fetal kidney Se concentration also increased significantly ($p < 0.01$) as the fetus matured, which is in agreement with Abd Elrahman and Kincaid, (1993) According to the findings of *Ahmed et al.* (1990), all the analyzed samples of fetal liver and kidney of sheep and goats in the present study, were within the normal range. However according to the reference values of Smith and Isopenko, (1997) and *Mustafa et al.*, (1998), 43.3% ($n = 13$) of the sheep and 52.7% ($n = 19$) of the goats and maternal plasma samples with an inadequate level of Se during late pregnancy. Normal fetal values recorded together with inadequate maternal levels, indicate that fetus values are independent from of the dam's Se status.

The fetal kidney and thyroid Se concentrations in both sheep and goats were significantly ($p < 0.01$) lower than that in the fetal liver. Similar results have been reported during the gestation period, with a median Se content in the kidney cortex and a thyroid level lower than that found in the liver (Tiran *et al.*, 1995). Low Se thyroid content and histological examination of the gland suggested minor thyroid activity in the fetus, which is metabolically dependent on the dam during gestation. Other research report Se to be highest in the kidney, followed by the liver, pancreas, heart and finally in the skeletal muscle of adult sheep (Combs and Combs, 1986).

EFFECT OF SE SUPPLEMENTATION IN EWES

Maternal plasma Se concentration, as expected, was significantly greater in Se supplemented groups than that of the control group ($p < 0.01$) and decreased at parturition, especially in the control group ($p < 0.01$). These results supported previous observations that indicated a great mobilization of Se from dam to the fetus at the end of gestation (Abd Elghany *et al.*, 2007). Surely Se transported to colostrum and milk, added to the rapid fetal growth, increased Se requirements in the late stage of pregnancy (Van Saun *et al.*, 1989). This observation may conclude the importance of the prepartum (Enjalbert *et al.*, 1999) and postpartum (Rowntree *et al.*, 2004) Se supplementation for maintaining the maternal Se levels. Weiss *et al.*, (1984), found that cows fed Se supplemented diets during the dry period increased blood serum Se concentrations of their calves at birth. In sheep Se oral supplementation resulted in adequate level in the dam to ensure effective transfer to the fetus and provide to the neonate appropriate blood concentrations to prevent Se-deficient associated syndromes (Paulson *et al.*, 1968; Horton *et al.*, 1978; Loren *et al.*, (1984).

Se supplemented ewes produced colostrum with higher Se concentration than that of the control group ($p < 0.01$). Colostrum values were 407.3 ± 31.2 ; 381.3 ± 19.4 , and 270.9 ± 32.7 ppb in oral, SC Se supplemented and control group respectively. Previous works reported similar results in sows (Mahan, 2000) and cows (Overnes *et al.*, 1985; Cuesta *et al.*, 1995; Rowntree *et al.*, 2004). While Schingoethe *et al.* (1982), reported that dietary administration (0.1 or 2 ppm Se) or selenite injection (5 mg Se / 45.4 kg BW) did not influence dairy cow colostrum Se concentrations in normal cows.

Significant increase in the dam and lamb plasma Se concentration in supplemented groups than the control indicated that the treatment may allow adequate plasma Se levels which was higher than the normal values (110.1 ± 5.8 ppb) according to Mustafa *et al.* (1998). The diet used in the experiment accidentally had adequate Se levels and control group had normal plasma selenium concentrations however supplementation improvement this with good results. It has been reported that, sheep receiving 12 mg/kg dietary Se gave birth lambs with up to three-fold higher plasma Se than did in the non-supplemented (Davis *et al.*, 2005). Similar results have been reported in calves born from supplemented cows (Enjalbert *et al.*, 1999; Rowntree *et al.*, 2004). In this study, lambs born to Se supplemented ewes had greater plasma Se concentrations until the 6th week postpartum compared with lambs born to control ewes ($p < 0.05$).

Significant increase in the maternal plasma Se concentration in the oral Se supplemented group than that of the SC one ($p < 0.05$) in 6th, 5th pre- and 1st week postpartum indicates that, the improvement of the Se status after oral supplementation and a good availability of sodium selenite, despite the lower absorption and retention of Se in sheep (Koenig *et al.*, 1997).

In the 2nd experimental part of this work, supplemented ewes demonstrated a positive relationship between maternal plasma and milk ($r = 0.66$ to 0.95 ; $p < 0.05$), and their milk Se concentration was significantly higher than that of the control group ($p < 0.01$), while the relationship was significantly negative in the control group ($r = -0.60$; $p < 0.05$).

EFFECT OF SE SUPPLEMENTATION IN NEWLY BORN ANIMALS

In the 2nd experimental part of this study, maternal SC Se supplementation increased BW of the newborn lambs for the first two weeks than that of the control, similar results has been reported in lambs from birth to 28 days when their dams received Se supplementation by injection (Rock *et al.*, 2001; Gabryszuk and Klewec, 2002). Similar condition occurred in newborn calves from birth until 70 days or 5 months of age, when cows were supplemented with Se (Castellan *et al.*, 1999; Wichtel *et al.*, 1996). Nevertheless, others reports indicated that, Se supplementation did not influence the BW gain in cows and their calves (Awdeh *et al.*, 1998; Gunter *et al.*, 2003; Rowntree *et al.*, 2004).

As expected milk and lamb plasma Se concentrations relationship was positive in all groups ($r = 0.57$ to 0.73 ; $p < 0.05$), this results were similar to obtained in previous works (Perhson *et al.*, 1999; Davis *et al.*, 2005). Maternal and lamb plasma Se concentrations did not correlated ($p > 0.05$), and this suggest that lambs mainly depend upon the milk Se source. Milk and lamb plasma Se concentrations in the SC supplemented group was greater than the oral ($p < 0.05$) in the first two weeks postpartum. This change probably was influenced by the Se injection (0.1mg / kg BW) to this group in the first week postpartum. Absence of differences in lamb plasma between supplemented groups at 3rd, 4th and 5th weeks postpartum may be related with declining milk production in this period. Cardellino and Benson, (2002), founded that the milk production of 2 yr old ewe rearing twin lambs peaked at 21 days of lactation. Similar results were previously reported in sheep supplemented orally or by injection (Gardner and Hüge, 1967; Givens *et al.*, 2004; Norton and McCarthy, 1986).

Maus *et al.* (1980), demonstrated a close relationship between Se concentrations in the plasma and milk as function of Se intake of dairy cows. Dietary Se supplementation of pregnant beef cows markedly increased concentrations of Se in the colostrum and milk and this increase caused that suckling calves have higher Se concentrations in their plasma (Koller *et al.*, 1984; Ammerman *et al.*, 1980; Salih *et al.*, 1987). Milk is normally the sole source of nutrients consumed by lambs (Jenkins and Hidioglou, 1971) and these reinforce the importance of dam postpartum supplementation.

CONCLUSIONES GENERALES

1- Se estableció una estrecha relación entre el feto y la madre, en el metabolismo y utilización del Se.

2- Al final de la gestación, ovejas y cabras sacrifican sus niveles de Se para mantener el aporte al feto, independientemente de su estado. Esta situación las predispone a padecer la deficiencia al final de la gestación, al aumentar el paso de selenio hacia el producto y reducir los niveles del elemento en la leche materna.

3- Las concentraciones de Se en el líquido alantoideo correlacionaron positivamente con todas las muestras tisulares fetales, por lo que es un buen indicador del estado del elemento en el feto, particularmente en los últimos dos meses de gestación. El Se alantoideo podría actuar como una reserva para el feto y jugar un papel importante en el metabolismo y la homeostasis de Se entre la madre y el feto, este aspecto debe sin embargo ser estudiado.

4- El hígado fetal actuaría como una importante reserva de Se y es también un buen indicador de la condición fetal.

5- La suplementación preparto es importante para mantener los niveles plasmáticos maternos de Se. La suplementación posparto puede mejorar esta y la concentración de Se en la leche y el plasma de los corderos recién nacidos.

6- La suplementación de los corderos debería iniciarse desde la 7^o semana o antes, aún en crías de ovejas suplementadas.

GENERAL CONCLUSIONS

1-There is a strong relationship between the fetus and dam concerning Se metabolism during pregnancy.

2-The dams seem to sacrifice their Se level in order to maintain the fetal Se disposition. Fetus Se which was transferred from the dam's system plays an important role in the incidence and occurrence of Se deficiency in the dam, especially in the final stage of pregnancy, when the fetal requirements are higher.

3-Se concentration in the allantoic fluids may be used as an indicator of Se status in the fetus throughout gestation, and may act as storage and play a role in Se metabolism between the dam and fetus.

4-The fetal liver is considered to be the main storage organ of Se in the fetus and hepatic tissue has also been shown to be a good indicator of the Se status of the fetus.

5-While prepartum Se supplementation was important to maintain maternal plasma Se levels; postpartum Se supplementation may improve the Se status in the milk and plasma of the new born lambs.

6-Supplementation of the new born lamb is recommended to start at least in the 7th postpartum week even though they born to ewes supplemented with Se.