



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN**

---

---

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO CON BOLOS  
INTRARRUMINALES SOBRE LAS CONCENTRACIONES  
ERITROCITARIAS EN BOVINOS LECHEROS**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**P R E S E N T A:**

**GLORIA LESLIE ALMAZÁN GONZÁLEZ**

**ASESORAS: DRA. RAQUEL LÓPEZ ARELLANO  
DRA. ALMA LUISA REVILLA VÁZQUEZ**



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.

## *TODO O NADA*

*A Dios le pedí fuerzas para grandes logros...  
Me hizo débil para aprender humildemente a obedecer.*

*Pedí salud para hacer cosas grandes...  
Me dio enfermedades para poder hacer cosas buenas.*

*Pedí riquezas para poder ser feliz...  
Me dio pobreza para poder ser sabio.*

*Pedí poder para obtener alabanzas...  
Me dio debilidad para sentir necesidad de dios.*

*Pedí todo, para poder disfrutar de la vida...  
Me dio vida, para poder disfrutar de todo.*

*Pedí lujos y fama...  
Me concedió amigos y amor.*

*A pesar de mi mismo las peticiones que no hice me fueron concedidas.*

## *AGRADECIMIENTOS*

*Gracias a Dios por la vida que me regalo, por iluminarme, guiarme y por permitirme cumplir una de mis más grandes metas en compañía de mi familia.*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por todo lo que en ella he aprendido.*

*A la Dra. Raquel López Arellano por la confianza, apoyo y ayuda brindada en la realización de este trabajo.*

*A la Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez por la confianza, apoyo y ayuda brindada en la realización de este trabajo.*

*A mis sinodales DAR, Juan José Díaz Esquivel, MA. Ma. Elena Mondragón Esquivel, QFB. José Juan Escobar Chávez, QFB. Roberto Díaz Torres por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo, por las valiosas sugerencias y comentarios para enriquecerlos.*

*A la Dra. Helgi Jung por la ayuda prestada en este trabajo.*

*A D.G.A.P.A. UNAM por su apoyo para el proyecto PAPIIT IN212903.*

*A la Unidad de Producción Animal de la FES-C, en especial a Víctor Hugo Román Domínguez, M.V.Z. Gustavo Díaz Manríquez y M.A. Antonio Gómez Alcántara.*

*“La llave del éxito en la vida es el conocimiento del valor de las cosas”... O'Reilly*

## DEDICATORIAS

*A mi mamá porque tu amor es la fuerza que me impulsa en la vida, siempre has estado a mi lado apoyándome incondicionalmente. Eres mi mayor ejemplo a seguir, te admiro y respeto. Me siento muy orgullosa de que seas mi madre... Te Quiero Mucho*

*A mi papá por estar siempre a mi lado apoyándome, por tu cariño. Sabes que eres muy especial para mi y que te quiero mucho.*

*A Enrique, Rigo y Pedro por todo su amor, cariño, apoyo y comprensión... por todo lo que hemos compartido juntos gracias por estar a mi lado. Recuerden que los AMO y que me siento afortunada de tenerlos como hermanos,... los Quiero Muchísimo.*

*A mis niñas preciosas Ale y sukeyri porque sus risas, travesuras y amor son una luz de alegría en mi vida... las Quiero Mucho.*

*A Yoya, Con, Jaime, Yesni, Pera, gracias por estar siempre conmigo, por su cariño, apoyo y comprensión, son realmente muy importantes en mi vida... los Quiero Mucho.*

*A Vivi por todo tu cariño, confianza, apoyo y comprensión, gracias por estar siempre a mi lado pero sobre todo por ser una verdadera amiga... t e quiero mucho.*

*A Mashe y Aidee por todos los momentos que compartimos, por su cariño y apoyo. Gracias por su amistad... las Quiero Mucho.*

*A mis amigos: Adrian, David, Erika, Ana, Mariana, Raul, Pedro, Wendy, Angel, Norma, y Carina... en ustedes encontré una amistad sincera.*



## ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE TABLAS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE GRÁFICAS	X
ABREVIATURAS	XIV
I INTRODUCCIÓN	1
II OBJETIVOS	3
III MARCO TEORICO	4
3.1 Biodisponibilidad	5
3.1.1 Concepto de Biodisponibilidad	5
3.1.2 Objetivos de los Estudios de Biodisponibilidad	6
3.1.3 Factores que Influyen en la Biodisponibilidad	8
3.1.4 Determinación de la Biodisponibilidad	10
3.1.5 Clasificación de los Estudios de Biodisponibilidad	12
3.1.6 Métodos para Determinar la Biodisponibilidad	15
3.1.7 Estudios en los que se Miden Niveles Plasmáticos	16
3.1.8 Relación de la Suplementación de Selenio y su Biodisponibilidad	17
3.1.8 Biodisponibilidad del Selenio en Eritrocitos	19



IV	PARTE EXPERIMENTAL	21
	4.1 Reactivos	22
	4.2 Estándares	22
	4.3 Material	22
	4.4 Equipos	24
	4.5 Gases	24
	4.6 Muestra Biológica	25
	4.7 Producto Administrado	25
	4.8 Formulación de Bolos Intrarruminales	25
	4.9 Condiciones Experimentales del Estudio	27
	4.9.1 Localización	27
	4.9.2 Características de las Unidades Experimentales	27
	a. Tratamiento	28
	b. Dosis Administrada	30
	c. Alimentación	30
	4.10 Obtención de las Muestras	31
	4.10.1 Tratamiento de las Muestras	32
	4.10.2 Condiciones del Método	33
	4.11 Preparación de la Curva de Calibración	35
	4.12 Método de Cuantificación	36
	4.13 Análisis Farmacocinético	38
V	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
VI	CONCLUSIONES	62
VII	REFERENCIAS	64
VIII	ANEXOS	73

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla</b>	<b>Título</b>	<b>Pág.</b>
1	Métodos para determinar la biodisponibilidad.	15
2	Formulación de bolos con Selenito de Sodio de 13 g.	25
3	Formulación de bolos con Selenito de Sodio de 7.2 g.	26
4	Identificación de las unidades experimentales del grupo 1.	28
5	Identificación de las unidades experimentales del grupo 2.	29
6	Dosis administrada a cada unidad experimental.	30
7	Condiciones de digestión ácida para paquete eritrocitario.	33
8	Curva de calibración.	35
9	Condiciones de presión.	36
10	Características de los bolos de selenito de sodio utilizados en el estudio.	40
11	Peso de los animales en tratamiento obtenidos durante el periodo de experimentación.	41





12	Peso promedio de los animales del grupo placebo obtenidos durante el periodo de experimentación.	42
13	Curva de calibración de selenio.	45
14	Parámetros estadísticos de la regresión del sistema.	46
15	Análisis de varianza del sistema.	47
16	Análisis de regresión.	47
17	Resultados promedios y su desviación de la concentración de selenio en el grupo tratamiento antes de la administración.	48
18	Resultados promedios y su desviación de la concentración de selenio en el grupo placebo antes de la administración.	49
19	Resultados promedios y desviación de la concentración de selenio en el grupo tratamiento.	52
20	Resultados promedios y desviación de la concentración de selenio en el grupo placebo.	53
21	Área bajo la curva.	55
22	Promedio y desviación del área bajo la curva.	55



23	Comparación de las ABC promedio del grupo tratamiento y grupo placebo.	56
24	Parámetros farmacocinéticos del grupo tratamiento.	57
25	Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 860.	57
26	Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 861.	58
27	Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 867.	59
28	Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 870.	59
29	Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 142.	60
30	Calendario de toma de muestra a las unidades experimentales.	74
31	Días de toma de muestra de las unidades experimentales.	75
32	Observaciones durante el periodo de experimentación.	75
33	Condiciones para la preparación de las muestras.	81



34	Cantidad de la solución stock a tomar para la preparación de la curva de calibración.	83
35	Presión de cada gas a la que se debe trabajar.	84
36	Flujos requeridos para trabajar en el VGA.	86
37	Evaluación del granulado.	91
38	Evolución de las concentraciones de selenio endógeno.	92
39	Evolución de las concentraciones de selenio endógeno.	95
40	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 860 durante la experimentación.	98
41	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 861 durante la experimentación.	99
42	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 867 durante la experimentación.	100
43	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 870 durante la experimentación.	101
44	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 142 durante la experimentación.	102



45	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 863 durante la experimentación.	103
46	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 395 durante la experimentación.	104
47	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 864 durante la experimentación.	105
48	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 876 durante la experimentación.	106
49	Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 874 durante la experimentación.	107

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Fig.</b>	<b>Título</b>	<b>Pág.</b>
1	Curva de concentración respecto al tiempo para un fármaco administrado por vía oral.	11
2	Bolo de Selenito de sodio de 13 g.	26
3	Bolo de Selenito de sodio de 7.2 g.	26
4	Fotografía de las Vacas Holstein utilizadas en el experimento.	27
5	Peso promedio correspondiente a cada grupo experimental.	29
6	Obtención de la muestra biológica (Paquete eritrocitario).	31
7	Diagrama de flujo para el tratamiento de las muestras.	32
8	Pretratamiento de la muestra biológica (paquete eritrocitario) sometida a digestión ácida.	34
9	Espectrofotómetro de absorción Atómica con sistema de atomización por generador de hidruros.	37
10	Diagrama de flujo de la preparación de HCl 7M.	76



11	Diagrama de flujo de la preparación de Borohidruro.	77
12	Horno de Microondas MARS 5.	78

**ÍNDICE DE GRÁFICAS**

<b>Gráfica</b>	<b>Título</b>	<b>Pág.</b>
1	Pesos promedios y su desviación del grupo tratamiento en función del tiempo.	42
2	Pesos promedios y su desviación del grupo placebo en función del tiempo.	43
3	Gráfica de regresión lineal del sistema.	44
4	Promedio y desviación de los niveles eritrocitarios de selenio endógeno del grupo tratamiento.	49
5	Promedio y desviación de los niveles eritrocitarios de selenio endógeno del grupo placebo.	50
6	Promedio y desviación de los niveles eritrocitarios de selenio en el grupo tratamiento.	54
7	Promedio y desviación de los niveles eritrocitarios de selenio en el grupo placebo.	54
8	Comparación del área bajo la curva del grupo tratamiento contra el grupo placebo.	55



9	Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.	58
10	Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.	58
11	Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.	59
12	Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.	60
13	Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.	60
14	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 860 en función del tiempo.	92
15	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 861 en función del tiempo.	93
16	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 867 en función del tiempo.	93
17	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 870 en función del tiempo.	94





18	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 142 en función del tiempo.	94
19	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 863 en función del tiempo.	95
20	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 395 en función del tiempo.	96
21	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 864 en función del tiempo.	96
22	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 876 en función del tiempo.	97
23	Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 874 en función del tiempo.	97
24	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 860 en función del tiempo.	98
25	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 861 en función del tiempo.	99
26	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 867 en función del tiempo.	100



27	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 870 en función del tiempo.	101
28	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 142 en función del tiempo.	102
29	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 863 en función del tiempo.	103
30	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 395 en función del tiempo.	104
31	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 864 en función del tiempo.	105
32	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 876 en función del tiempo.	106
33	Niveles de selenio de la Unidad Experimental 874 en función del tiempo.	107

**ABREVIATURAS**

ABC	Área bajo la curva
ABCev	Área Bajo la Curva de la administración por la vía de prueba
ABCiv	Área Bajo la Curva de la administración por vía intravenosa
ABCpb	Área Bajo la Curva de la administración de prueba
ABCref	Área Bajo la Curva de la administración de referencia
Abs	Absorbancia
APhA	Asociación de Farmacéuticos Americanos
BH	Borohidruro
cm.	Centímetros
Conc.	Concentración
C <sub>máx</sub>	Concentración máxima
CV	Coefficiente de variación
Desvest	Desviación estándar
EDTA	Ácido etilendiamintetracético
EAA	Espectrofotometría de Absorción Atómica
FDA	Food and Drug Administration
Fig.	Figura



F	Fracción de la dosis administrada
GSH-Px	Glutati3n peroxidasa
G.L.	Grados de libertad
G	Gramos
H <sub>2</sub> O	Agua
H <sup>+</sup>	Hidronio
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
HCl	Ácido clorhídrico
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxido de hidrogeno
H	Hora
ID	Identificación
Instr.	Instrumento
Kg.	Kilogramo
L	Litro
mL	Mililitro
mm	Milímetro
µL	Microlitro
mg	Miligramo
mcg	Microgramo
min.	Minutos
MRT	Tiempo de vida media de residencia



Máx	Máxima
NaOH	Hidróxido de sodio
ng	Nanogramos
Pág.	Página
ppb	Partes por billón
$r^2$	Coefficiente de determinación
rpm	Revoluciones por minuto
Se	Selenio
S	Desviación estándar
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media
UE	Unidad experimental
vs.	Contra
W	Watts
%	Por ciento
°C	Grados centígrados



## I. INTRODUCCIÓN

El selenio es uno de los minerales traza esencial para el metabolismo en los humanos y en los animales que cumple funciones estructurales ya que forma parte de proteínas, enzimas y hormonas como son: glutatión peroxidasa (GSH-Px) la cual es vital para proteger a los glóbulos rojos y membranas celulares contra las reacciones indeseables con peróxidos solubles que se acumulan en los tejidos <sup>Serra, 1996</sup>. En el altiplano de México la deficiencia de selenio es un problema que afecta significativamente la producción ganadera pero no es fácilmente reconocible y es confundida con enfermedades infecciosas dejando muchas veces aun lado el origen del problema.

La suplementación de selenio puede realizarse a través del uso de fertilizantes con selenio en los suelos, suministrando selenio en la dieta de los animales, a través de formas farmacéuticas inyectables y como en el caso del presente estudio, a través del uso de bolos de liberación lenta.

El uso de bolos de liberación lenta cobra una especial relevancia en el caso de rumiantes. Debido a las características anatómicas del tracto digestivo de los rumiantes, existe la posibilidad de mantener un dispositivo que libere lentamente algún tipo de producto que proporcione beneficios para el ganado. Con el uso de este tipo de



dispositivos se puede tener la ventaja de depositar directamente, al interior del animal, microminerales esenciales como es el selenio.

La biodisponibilidad es una de las características más importantes en la evaluación de cualquier producto farmacéutico. En el caso de fármacos que se administran prolongadamente es posible minimizar riesgos de acumulación si se conoce su biodisponibilidad y farmacocinética. La biodisponibilidad es un parámetro que define la calidad del producto, y se refiere a la eficiencia con que una forma farmacéutica administrada al organismo, cumple con su función de hacer que el principio activo sea aprovechable en su máxima potencialidad y sea capaz de alcanzar intacta el torrente circulatorio quedando de esta manera disponible para el organismo Aiache, 1983; Cárdenas, 1996.

Este estudio tiene como finalidad la evaluación del comportamiento farmacocinético de los bolos y por tanto su biodisponibilidad, lo cual nos permitirá determinar los regimenes de dosificación de selenio en esta formulación en especial.



### OBJETIVO GENERAL

- Determinar el efecto de la suplementación de selenio inorgánico a través de bolos intrarruminales sobre las concentraciones eritrocitarias en bovinos lecheros.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Suplementar 10 vacas raza Holstein con bolos intrarruminales de liberación lenta con selenito de sodio y determinar por Espectrofotometría de Absorción Atómica por Generador de Hidruros (EAA-GH), la concentración de Selenio Total en las muestras de paquete eritrocitario durante tres meses.
- Determinar los parámetros farmacocinéticos:  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $T_{m\acute{a}x}$ ,  $t_{1/2}$ , TMR, ABC de bolos de Selenito de Sodio administrados a vacas Hosltein.



# **MARCO TEÓRICO**



### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 BIODISPONIBILIDAD Vila, 2001, p. 30-32; Estévez, 2000, p. 133-135.

Biodisponibilidad es el término utilizado para indicar la magnitud y la velocidad con que un fármaco alcanza su sitio de acción o un fluido biológico (sangre, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, etcétera) desde el cual tiene acceso a su sitio de acción. Cuando se dispone de una sustancia de eficacia farmacológica totalmente comprobada debe formularse y elaborarse tecnológicamente, de modo que su aprovechamiento por el organismo resulte óptimo. Para que un determinado principio activo ejerza una acción terapéutica óptima, la formulación que lo contiene debe liberarlo de forma que alcance una concentración eficaz en su lugar de acción durante un determinado período de tiempo. Debido a ello, en la actualidad se exige que, como paso previo a la comercialización de un medicamento, se determine su biodisponibilidad.

#### 3.1.1 CONCEPTO DE BIODISPONIBILIDAD Doménech, 2001, p. 19-20.

Existen dos definiciones oficiales de la biodisponibilidad:

1. La FDA
2. La APhA (Asociación de Farmacéuticos Americanos)



**1. La FDA define a la biodisponibilidad como:**

Velocidad y cantidad a la cual un fármaco o componente activo, absorbido a partir de la forma de dosificación que lo contiene, se hace disponible en su lugar de acción.

**2. La APhA (Asociación de Farmacéuticos Americanos) define la biodisponibilidad como:**

Velocidad y cantidad a la cual un principio activo o componente activo, absorbido a partir de la forma de dosificación que lo contiene alcanza la circulación sistémica.

**3.1.2 OBJETIVOS DE LOS ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD** Doménech, 2001, p. 21-22. Jung, 2003, p. 11.

La propiedad más importante de una forma farmacéutica es su capacidad para liberar el principio activo al sitio de acción en una cantidad suficiente para que pueda ejercer el efecto farmacológico esperado.

Los objetivos de los estudios de biodisponibilidad aportan la información necesaria en la que es importante conocer la velocidad y magnitud del acceso del principio activo en forma inalterada a la circulación sistémica.



Resulta evidente que el acceso del fármaco a la circulación sistémica es un proceso que puede cuantificarse de forma objetiva, dado que es posible tomar muestras de sangre y determinar las concentraciones de fármaco en ella.

Los estudios de biodisponibilidad se llevan acabo con diferentes propósitos:

#### **A. Fármaco nuevo**

- Determinar la eficiencia de absorción o fracción biodisponible, por distintas vías de administración.
- Establecer cual es la mejor vía de administración.
- Determinar la influencia de la formulación y el proceso de fabricación sobre la biodisponibilidad del principio activo.

#### **B. Fármaco conocido**

- Determinar la equivalencia entre el producto genérico en relación al producto innovador.
- Determinar la biodisponibilidad de un fármaco contenido en formas farmacéuticas distintas.



### 3.1.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA BIODISPONIBILIDAD Doménech, 2001, p.20, 24-25.

El acceso de un fármaco a la circulación sistémica depende de una serie de factores inherentes a sus propiedades fisicoquímicas y características farmacocinéticas, a la forma farmacéutica que lo contiene (capacidad de ser liberado de esta forma farmacéutica y de la velocidad de liberación) y al sustrato biológico al que va destinado (factores fisiológicos y patológicos del organismo).

En los estudios de biodisponibilidad es muy importante conocer los factores que pueden influir en la evaluación del parámetro y que de forma global pueden clasificarse:

1. Factores relacionados con el principio activo
2. Factores relacionados con la forma farmacéutica:
  - Factores de formulación
  - Factores tecnológicos
3. Factores relacionados con el individuo:
  - Factores fisiológicos
  - Factores patológicos

Los factores relacionados con el principio activo en el caso del selenio es la forma química que se utiliza para elaborar la forma farmacéutica (selenio orgánico o selenio inorgánico), estos factores inciden directamente, de forma relevante en su biodisponibilidad.



Estudios comparativos de biodisponibilidad del selenio en el ganado, empleando diferentes formas químicas de suplementación, indican que las formas químicas que proveen las concentraciones más altas de selenio por largos periodos de tiempo son el selenio orgánico. McDowell *et al.*, 2002. Cuando se suplementa selenio por vía oral se dispone de sales de selenito y selenato de sodio, así como selenio orgánico, principalmente como levaduras enriquecidas con selenio. El selenio orgánico ha demostrado tener mayor biodisponibilidad que el selenio inorgánico.

La información acerca de la influencia de estos factores en la biodisponibilidad es muy importante para aquellas variables que, de un modo u otro, pueden influir en la estimación de la biodisponibilidad y que no se relacionan directamente con el propio principio activo o su forma farmacéutica.

Los factores fisiológicos afectan directamente al proceso de absorción, o afectan a la aclaramiento plasmático del fármaco, modificando su biodisponibilidad.

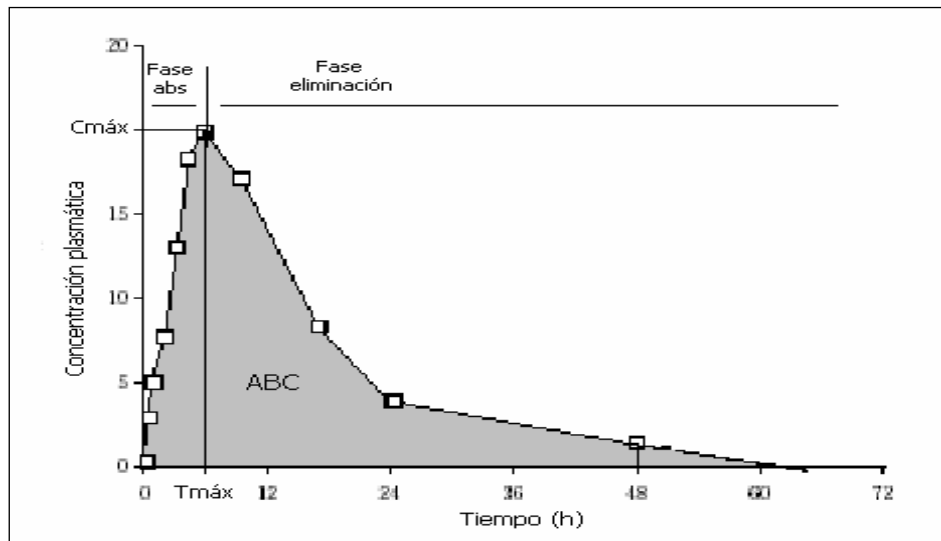


### 3.1.4 DETERMINACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD Doménech, 2001, p. 26; Estévez, 2000, p.135; Vila, 2001, p.30-31.

La cantidad de fármaco administrado que accede a la circulación sistémica puede determinarse a partir de las curvas de niveles plasmáticas o a partir de datos de excreción urinaria, al ser la sangre y la orina dos líquidos biológicos totalmente muestreables.

Las concentraciones plasmáticas que se obtienen con un principio activo después de su administración se pueden representar de forma gráfica como se muestra en la figura 1, relacionando concentraciones plasmáticas a distintos tiempos.

En la figura 1 se aprecian dos fases. En la primera fase predomina la absorción y existe un aumento de concentraciones en el plasma hasta que se alcanza el valor máximo de concentraciones ( $C_{m\acute{a}x}$ ). El tiempo al que se alcanza ese valor máximo es conocido como  $T_{m\acute{a}x}$ . Una vez que se alcanza el valor máximo comienza la segunda fase en la que disminuyen los valores de concentraciones plasmáticas. Se puede calcular la biodisponibilidad según el valor de Área Bajo la Curva (ABC) que se obtiene al representar las concentraciones plasmáticas frente al tiempo (Fig. 1).



**Fig. 1. Curva de concentración respecto al tiempo para un fármaco administrado por vía oral.**

Cuando se comparan las características biofarmacéuticas y farmacocinéticas de distintos principios activos y distintas formulaciones puede ser interesante contrastar la velocidad de absorción, lo que se puede hacer con facilidad mediante la comparación de los valores de  $T_{máx}$ . También se pueden cotejar las cantidades totales absorbidas mediante los valores de ABC; en ocasiones el  $C_{máx}$  puede suministrar información preliminar.





### 3.1.5 CLASIFICACIÓN DE LOS ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD Doménech, 2001, p. 26; Estévez, 2000, p.135; Jung, 2003, p. 12. Vila, 2001, p.30-31.

La biodisponibilidad puede ser determinada de dos formas:

- A. Biodisponibilidad absoluta
- B. Biodisponibilidad relativa

#### **A. Biodisponibilidad absoluta.**

La biodisponibilidad absoluta de un medicamento es una medida de la eficacia de la vía de administración. La vía intravenosa es la referencia absoluta dado que cuando se inyecta un fármaco por ella ingresa al medio interno 100% de la dosis administrada. Para evaluar la biodisponibilidad absoluta se administra el mismo principio activo primero en una forma farmacéutica para uso intravenoso y, luego, en otra forma farmacéutica preparada para administrar por la vía que queremos estudiar (oral, intramuscular, inhalatoria, rectal, etcétera). Se hace un muestreo seriado de sangre venosa y se grafican las concentraciones del fármaco en ordenadas y el tiempo en las abscisas, el área que queda bajo la curva determinada por estos puntos (ABC) es proporcional a la cantidad de fármaco que hay en el organismo en el intervalo considerado. La biodisponibilidad absoluta se determina comparando las áreas bajo la curva del producto administrado por vía extravascular y de la administración intravenosa.



El cociente entre el ABC de la forma farmacéutica administrada por la vía en estudio, sobre el ABC de la forma farmacéutica administrada por vía intravenosa representa la fracción de la dosis administrada que efectivamente alcanzó el medio interno (F), determinado por la siguiente expresión:

$$F = \text{ABC}_{\text{ev}} / \text{ABC}_{\text{iv}}$$

Donde:

- **F** = Fracción de la dosis administrada que efectivamente alcanzó el medio interno
- **ABC<sub>ev</sub>** = Área Bajo la Curva de la administración por la vía de prueba
- **ABC<sub>iv</sub>** = Área Bajo la Curva de la administración por vía intravenosa

### **B. Biodisponibilidad relativa.**

La biodisponibilidad relativa, sin embargo, es una medida de la eficacia de la absorción de un mismo principio activo desde dos formas farmacéuticas similares (comprimidos de liberación retardada versus una cápsula blanda de liberación inmediata) administradas por la misma vía. Por lo tanto en este caso se evalúa la eficacia de la forma farmacéutica, dado que la variable, vía de administración, permanece constante.



Puesto que no siempre es factible la utilización de la vía intravenosa, tampoco en todos los casos será posible la determinación de la biodisponibilidad absoluta. En los casos en que no es posible utilizar el fármaco por vía intravenosa se suele utilizar como estándar de referencia otra administración extravasal del fármaco en lugar de una intravenosa, estándar que debe ser lo más biodisponible posible; así, si el principio activo es soluble se utilizará una solución acuosa del mismo, mientras que si es insoluble se hará uso de una suspensión. En los estudios de bioequivalencia se utilizará como forma de referencia una forma de dosificación de la que se conoce la constancia de su biodisponibilidad así como su eficacia clínica. En estas circunstancias en las que no puede estimarse en términos absolutos la fracción de la dosis que tras la administración de la formulación problema accede inalterada a la circulación sistémica, sino sólo en términos relativos respecto a la formulación de referencia, lo que se determina es la biodisponibilidad relativa. En el caso en que la dosis administrada sea la misma para las dos formulaciones (en los estudios de biodisponibilidad relativa este caso se da con mucha frecuencia) dicho parámetro se determinará directamente a partir de la relación de los valores de las áreas bajo la curva de niveles plasmáticos, mediante la expresión:

$$F_{rel} = ABC_{pb} / ABC_{ref}$$



Donde:

- **F** = Fracción relativa de la dosis administrada que alcanzó el medio interno
- **ABC<sub>pb</sub>** = Área Bajo la Curva de la administración de prueba
- **ABC<sub>ref</sub>** = Área Bajo la Curva de la administración de referencia

### 3.1.6 MÉTODOS PARA DETERMINAR LA BIODISPONIBILIDAD Jung, 2003, p. 25

Para evaluar la biodisponibilidad existen métodos directos o indirectos.

**Tabla 1. Métodos para determinar la biodisponibilidad** Jung, 2003, p. 25

Evento	Método de evaluación	Ejemplo
Niveles de fármaco en circulación	Perfil concentración plasmática vs tiempo C <sub>máx</sub> , T <sub>máx</sub> Área bajo la curva	Niveles en plasma, sangre, suero
Eliminación	Cantidad acumulada excretada, velocidad de excreción máxima, tiempo máximo	Muestras de orina
Efecto farmacológico	Inicio, duración, intensidad, efecto	Presión arterial, glucosa sangre
Estudios in Vitro	Factor de similitud	Por ciento disuelto a diferentes tiempos de muestreo



### 3.1.7 ESTUDIOS EN LOS QUE SE MIDEN NIVELES PLASMÁTICOS DE UN FÁRMACO

El método más directo para determinar la biodisponibilidad es la medición de niveles de fármaco en plasma, suero o sangre después de la administración del fármaco. Si se toman las muestras a los tiempos adecuados y se cuantifican las concentraciones de fármaco utilizando un método validado, se puede obtener una representación apropiada del perfil de concentración contra tiempo. Para ello se requiere cuantificar el fármaco durante un período no menor a tres vidas medias.

A partir de este perfil de concentración plasmática vs tiempo se determinan los siguientes parámetros:

**Tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima ( $T_{máx}$ ).** Este parámetro es un indicador de la velocidad de absorción y se determina directamente de la gráfica. Si la velocidad de absorción es más rápida, el valor de  $T_{máx}$  será menor.

**Concentración plasmática máxima ( $C_{máx}$ ).** Este parámetro representa la concentración máxima obtenida después de la administración oral de un fármaco. La concentración plasmática máxima esta relacionada con la velocidad de absorción así como con la cantidad de fármaco absorbido.



**Área bajo la curva (ABC).** Esta área refleja la cantidad total de fármaco que alcanza la circulación sistémica. El área bajo la curva se puede determinar por un método de integración numérica como el área de los trapezoides.

### **3.1.8 RELACIÓN DE LA SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO Y SU BIODISPOIBILIDAD**

Existen diferentes formas químicas de selenio para suplementar al ganado, se pueden dividir en forma general en fuentes inorgánicas y fuentes orgánicas.

Los principales métodos para incrementar la ingesta de selenio al ganado incluye:

1. Suplementación mineral de libre elección
2. Fertilización con selenio
3. Inyecciones de selenio (parenteral)
4. Selenio como una solución oral (Oral)
5. Selenio en agua
6. Bolos ruminales

En nuestros días la suplementación se realiza con productos basados en selenitos o selenatos para prevenir su deficiencia, y así mismo se han empleado presentaciones orgánicas de selenio, las cuales



incrementan la biodisponibilidad del elemento en los organismos en comparación a las presentaciones inorgánicas. Ullrey, 1992; Ullrey *et al.*, 1977; Underwood, 1999. En el caso específico de los rumiantes, se han realizado estudios comparativos entre diferentes métodos de suplementación, observándose mayor disponibilidad de selenio empleando selenato de bario por vía inyectada, y a su vez, mayor disponibilidad de selenio cuando éste es suministrado en forma orgánica por vía oral. McDowell, 2002.

La suplementación de selenio puede realizarse a través del uso de fertilizantes con selenio en los suelos, suministrando selenio en la dieta de los animales, a través de formas farmacéuticas inyectables y a través del uso de bolos de liberación lenta.

En todos los casos existe un riesgo latente al suplementar selenio, ya que como muchos microminerales, se tiene un mínimo margen de seguridad entre una dosis terapéutica y una dosis tóxica. Es importante contar con productos de suplementación de selenio que proporcionen un alto grado de seguridad, proporcionando dosis adecuadas de selenio, evitando su deficiencia, pero sin descuidar el riesgo de generar toxicidad.

La suplementación de selenio a través de sistemas de liberación lenta, como es el caso de los bolos intrarruminales, ha sido empleada desde finales de los años sesentas. Kuchel and Buckley, 1969. En la actualidad, el uso de este tipo de dispositivos es una práctica que se ha ido haciendo



común, pero en la gran mayoría de los casos empleando fuentes inorgánicas de selenio. McDowell, 2002. Los bolos intrarruminales tienen la ventaja de proporcionar cantidades de selenio por periodos más prolongados de tiempo que cuando se suplementa en forma parenteral, por lo que se puede llegar a proporcionar mayor seguridad en la prevención de deficiencia de selenio. Además, a través de los sistemas de liberación lenta se tiene la oportunidad de proporcionar varios nutrientes, antibióticos y antihelmínticos. Vandame and Ellis, 2004.

Cuando se emplean dispositivos de liberación lenta se tiene la posibilidad de proveer de selenio al animal de una manera constante, y por tanto las concentraciones de selenio plasmático pueden llegar a ser un reflejo inmediato del efecto del dispositivo.

Algunos bolos intrarruminales están compuestos por selenio elemental (5% en peso) en una matriz de hierro y cuando se administran por vía oral se retienen en retículo-rumen. Los primeros prototipos fueron altamente demandados por ser más efectivos en el mantenimiento y elevación de selenio en sangre hasta por cuatro años. Judson et al., 1991.

### **3.1.9 BIODISPONIBILIDAD DEL SELENIO EN ERITROCITOS**

En estudios comparativos entre selenio orgánico y selenio inorgánico se ha demostrado que suplementando los mismos niveles de selenio en la dieta se observa mayor biodisponibilidad del primero. En





muestras de sangre, la concentración de selenio y la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en los eritrocitos fueron mayores en el caso de la suplementación con la fuente orgánica. Pehrson 1999; Selenio orgánico, 2001.

El selenio forma parte de una enzima, la GSH-Px, en la cual se encuentra en forma de selenocisteína. Esta enzima se reconoce generalmente por su función antioxidante.

La GSH-Px asegura la destrucción del peróxido de hidrógeno que se forma en las reacciones oxidativas respiratorias y que es tóxico. Sin tal eliminación, las células musculares, pancreáticas, hepáticas y los eritrocitos de la sangre serían destruidos con rapidez.

En los eritrocitos se encuentra la mayor cantidad de GSH-Px; lo cual depende de la utilización del selenio: del curso de su desarrollo, velocidad de eritropoyesis y desaparición de estas células. Durante la eritropoyesis la selenocisteína se incorpora a la GSH-Px eritrocitaria Wright, 1965. y, a corto plazo, existe un cierto periodo antes de que el nuevo enzima estructurado se libere al torrente sanguíneo y otro periodo antes de que desaparezca, en cuyo momento el eritrocito alcanza el final de su vida media normal (60-120 días).

El selenio se presenta en plasma en una concentración menos de la mitad de la que contienen los eritrocitos pero responde mucho más rápido a oscilaciones en la ingestión.

# **PARTE EXPERIMENTAL**



## IV. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1 REACTIVOS

- Ácido Clorhídrico R.A. 36.5-38% de pureza J. T. Baker de México.
- Ácido Nítrico R.A. 65.4% de pureza J. T. Baker de México.
- Peróxido de Hidrógeno en solución al 30% J.T. Baker de México.
- Hidróxido de Sodio perlas 98.4% de pureza bajo en carbonatos J.T. Baker de México.
- Borhidruro de Sodio 99% de pureza Aldrich Alemania.
- Agua desionizada 18.2  $\Omega$ cm Millipore.

### 4.2 ESTÁNDARES

- Estándar de selenio High-Purity 1000  $\pm$  3  $\mu$ g/mL en 2% de Ácido Clorhídrico con 99.999% de pureza.

### 4.3 MATERIAL

- Vasos de Teflón para Horno de Microondas HP-500 Plus CEM Temperatura máxima 210 °C y presión máxima 350 psi (Falcon USA).
- Tapas de Teflón para los vasos HP-500 Plus CEM (Falcon USA).



- Discos para los vasos HP-500 Plus CEM (Falcon USA).
- Membranas de seguridad para los vasos HP-500 Plus CEM 140 piezas (Falcon USA).
- Tapones de Teflón de seguridad colores azul y blanco para los vasos HP-500 Plus CEM (Falcon USA).
- Thermowell de Zafiro para el sensor de temperatura (Falcon USA).
- Sensor de temperatura de fibra óptica CEM modelo RTP-300 Plus rango -40 a 250 °C (Falcon USA).
- Micropipeta finnpipette Labsystems capacidad de 1-5 mL.
- Micropipeta finnpipette Labsystems capacidad de 100-1000 µL.
- Micropipeta finnpipette Labsystems capacidad de 20-200 µL.
- Micropipeta finnpipette Labsystems capacidad de 5-50 µL.
- Matraz volumétrico de 1000 mL BLAU BRAND Alemania.
- Matraz volumétrico de 50 mL Kimax de México, tipo "A".
- Matraz volumétrico de 25 mL Kimax de México, tipo "A".
- Vasos de precipitados de 150 mL Kimax de México.
- Vasos de precipitados de 100 mL Kimax de México.
- Probeta de 1000 mL IVA Argentina vidrio borosilicato.
- Probeta de 10 mL Kimax de México.
- Puntas azules para micropipetas.
- Puntas amarillas para micropipetas.
- Lámpara de cátodo hueco de Selenio HC Lamp-Se (Varian Australia).
- Celda de cuarzo VGA-76 (Varian Australia).
- Papel parafilm.



- Aguja vacutainer 21G x 38mm Becton Dickinson, cat. No. 367223.
- Tubos vacutainer de 5 mL con EDTA K<sub>3</sub> al 15 %. Becton Dickinson.
- Frascos de pvc de 100 mL.

#### 4.4 EQUIPOS

- Centrifugadora.
- Balanza Analítica BOECO. 120g Máximo - 0.01g Mínimo Alemania.
- Horno de Microondas Mars 5 CEM Corporation Falcon USA.
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica SpectrAA-800 (varian Australia).
- Generador de Hidruros VG 77 Varian Australia.
- Tira bolo.

#### 4.5 GASES

- Acetileno 99.5% de pureza AGA de México
- Nitrógeno 99.95% de pureza AGA de México.
- Aire comprimido.



#### 4.6 MUESTRA BIOLÓGICA

- Sangre de vaca Holstein.

#### 4.7 PRODUCTO ADMINISTRADO

- Se utilizaron dos tipos de bolos de selenito de sodio de 7.2 g y 13g para facilitar el ajuste de dosis por unidad experimental. La única diferencia entre los bolos fue el peso.

#### 4.8 FORMULACIÓN DE BOLOS INTRARRUMINALES Amador, 2005, p. 32.

Tabla 2. Formulación de bolos con Selenito de Sodio de 13 g.

Componente	Función	Cantidad por bolo (g)
Selenito de Sodio	Principio activo	2.000*
Hierro reducido	Excipiente (Densificador)	6.840
Cutina HR	Excipiente (Retardador de velocidad de liberación)	3.900
Estearato de magnesio	Excipiente (Lubricante)	0.065
Talco	Excipiente (Antiadherente)	0.195
Total		13.000

---

\* La cantidad de Selenito de Sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) equivalente a 900 mg de Selenio.

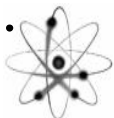


Fig. 2. Bolo de Selenito de sodio de 13 g.

Tabla 3. Formulación de bolos con Selenito de Sodio de 7.2 g.

Componente	Función	Cantidad por bolo (g)
Selenito de Sodio	Principio activo	1.107*
Hierro reducido	Excipiente (Densificador)	3.789
Cutina HR	Excipiente (Retardador de velocidad de liberación)	2.160
Estearato de magnesio	Excipiente (Lubricante)	0.036
Talco	Excipiente (Antiadherente)	0.108
Total		7.200



Fig. 3. Bolo de Selenito de sodio de 7.2 g.

\* La cantidad de Selenito de Sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) equivalente a 498.15 mg de Selenio.



## 4.9 CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL ESTUDIO

### 4.9.1 LOCALIZACIÓN

El experimento se llevó acabo en las instalaciones del módulo de producción de bovinos de la licenciatura de Medicina Veterinaria Zootecnista de la FES Cuautitlán campo 4, UNAM.

### 4.9.2 CARACTERÍSTICAS DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Se utilizaron 10 vacas raza Holstein de 1 año de edad en promedio en el mismo estado fisiológico (sin gestaciones), con un peso promedio entre 260 y 280 kg, sin la administración de un tratamiento previo, se encontraron en un sistema de producción estabulado.



Fig. 4. Fotografía de las Vacas Holstein utilizadas en el experimento.





### a. TRATAMIENTO

Las unidades experimentales fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos:

1. Grupo tratamiento: Se le administro un bolo con selenio por vía oral.
2. Grupo placebo: Se le administro un bolo placebo por vía oral.

**Tabla 4. Identificación de las unidades experimentales del grupo 1.**

Grupo	ID	Peso kg*
Tratamiento	860	275
Tratamiento	861	268
Tratamiento	867	226
Tratamiento	870	240
Tratamiento	142	508
	Promedio	303.4
	Desvest	116.11

---

\* El peso indicado corresponde a cada unidad experimental al inicio del estudio.



Tabla 5. Identificación de las unidades experimentales del grupo 2.

Grupo	ID	Peso kg*
Placebo	863	271
Placebo	395	435
Placebo	864	263
Placebo	876	215
Placebo	874	213
	Promedio	279.4
	Desvest	90.97

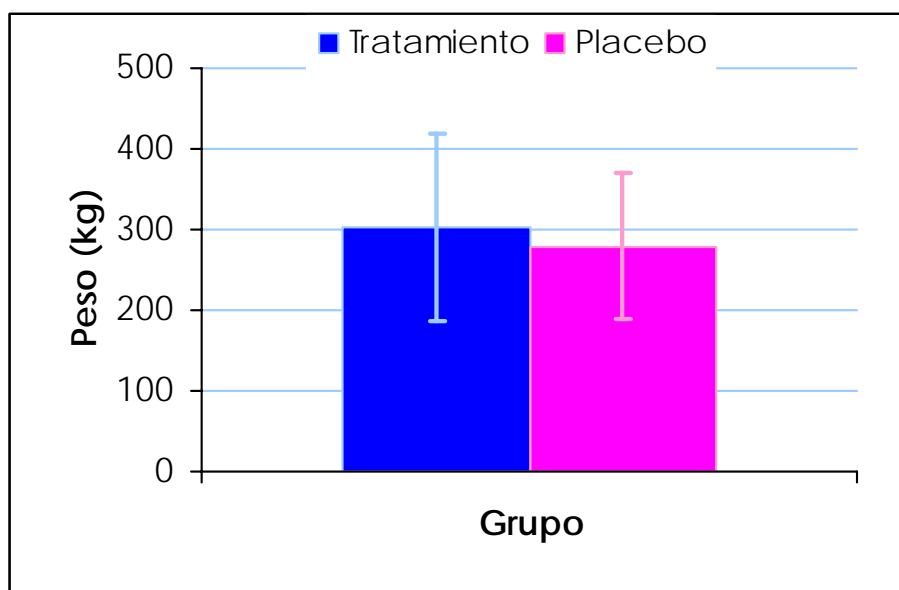


Fig. 5. Peso promedio correspondiente a cada grupo experimental.

\* El peso indicado corresponde a cada unidad experimental al inicio del estudio.



### b. DOSIS ADMINISTRADA

Cada unidad experimental de los dos grupos recibieron una sola administración a los 15 días del experimento con el producto en estudio, a la dosis recomendada (2.6 - 3.6 mg Se/Kg).

**Tabla 6. Dosis administrada a cada unidad experimental.**

<b>Grupo</b>	<b>ID</b>	<b>Peso (Kg)</b>	<b>Dosis (mg)</b>
Tratamiento	860	275	900
Tratamiento	861	268	900
Tratamiento	867	226	900
Tratamiento	870	240	900
Tratamiento	142	508	1800
Placebo	863	271	Placebo
Placebo	395	435	Placebo
Placebo	864	263	Placebo
Placebo	876	215	Placebo
Placebo	874	213	Placebo

### c. ALIMENTACIÓN

Las unidades experimentales fueron alimentadas con silo de maíz adicionado con urea y suero de leche, y agua, alimentadas por las mañanas ad libitum.



#### 4.10 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras de sangre de cada animal se obtuvieron por punción yugular o coccígea en tubos con EDTA, 15 días antes del tratamiento cada 72 horas, el día de la administración, y posteriormente cada 72 horas por 3 meses para evaluar las concentraciones eritrocitarias. Después de la toma de muestra estas se centrifugaron para obtener el paquete eritrocitario y realizar inmediatamente después su análisis.

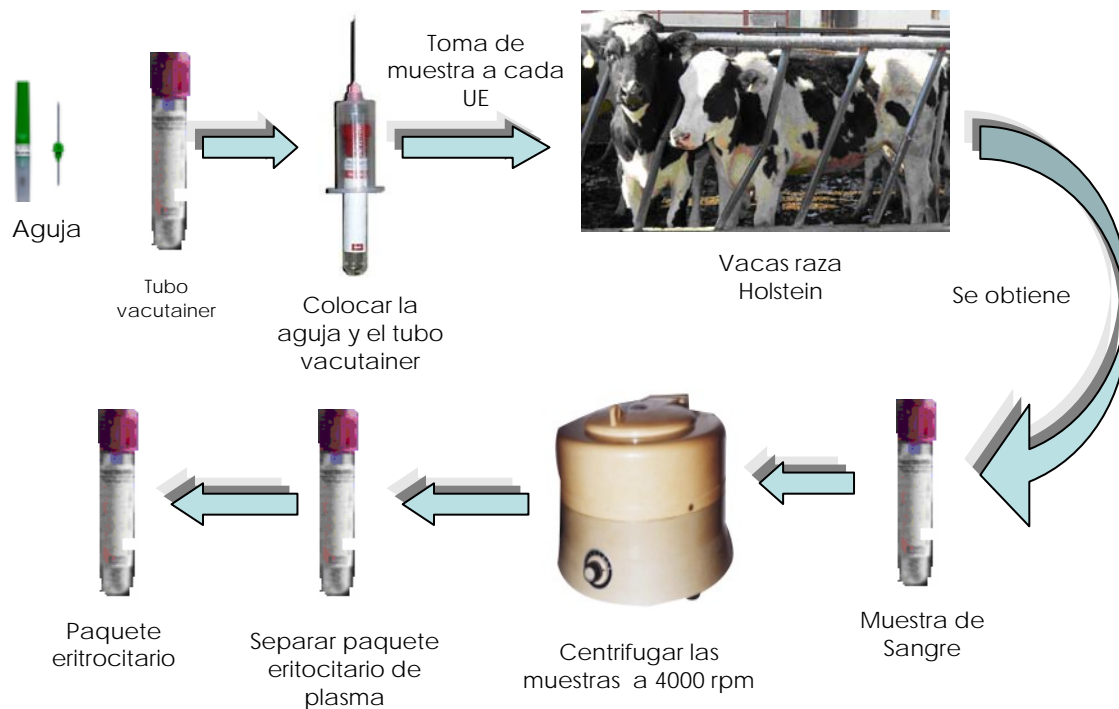


Fig. 6. Obtención de la muestra biológica (Paquete eritrocitario).



#### 4.10.1 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron tratadas el mismo día que se realizó la toma de muestra.

#### DIGESTIÓN ÁCIDA EN HORNO DE MICROONDAS

El método y las condiciones de digestión ácida para la muestra biológica (paquete eritrocitario) son las siguientes:

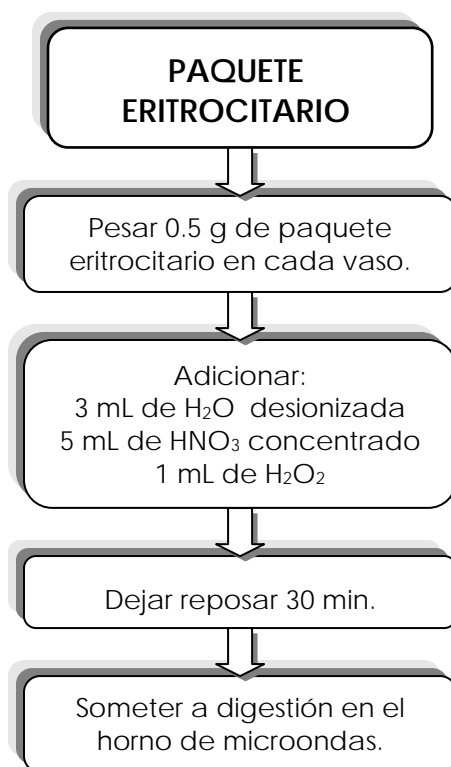


Fig. 7. Diagrama de flujo para el tratamiento de las muestras.



#### 4.10.2 CONDICIONES DEL MÉTODO

Tabla 7. Condiciones de digestión ácida para paquete eritrocitario Gleason, 2004; Hernández, 2005.

Potencia (W)	Potencia (%)	Tiempo de Alcance (min)	Temperatura (°C)	Presión (Psi)	Tiempo de Mantenimiento (Min)
1200	100	6.24	100	350	5.12
1200	100	4.15	140	350	6.12

Una vez terminado el proceso de digestión ácida en el horno de microondas:

- Dejan enfriar las muestras a temperatura ambiente.
- Las muestras digeridas se transvasaron en matraces volumétricos de 25 mL (los vasos y tapas se enjuagan 3 veces con HCl 7M) y se llevaron a la marca de aforo con HCl 7M.
- Por último, las muestras son transferidas a frascos de pvc previamente etiquetados y se dejaron reposar hasta el día siguiente para su posterior análisis.

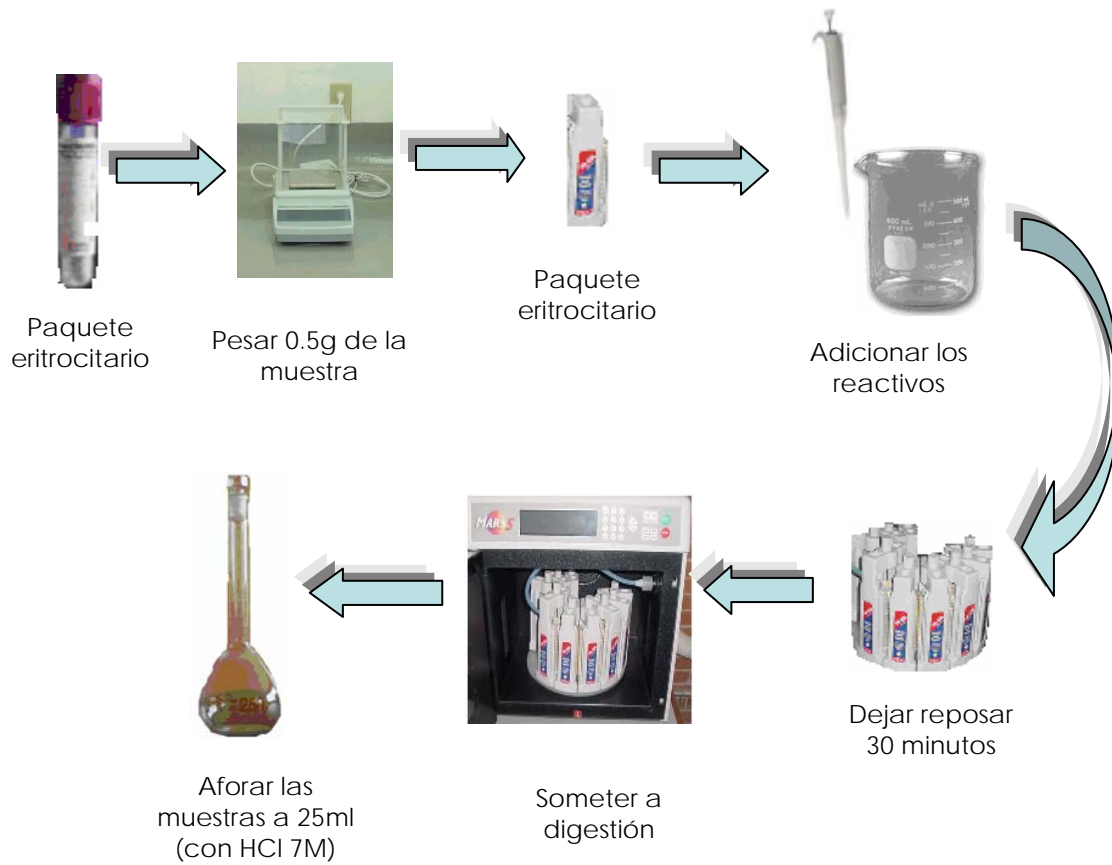


Fig. 8. Pretratamiento de la muestra biológica (paquete eritrocitario) sometida a digestión ácida.



#### 4.11 PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

El método de análisis de las muestras fue una curva de calibración de 1 a 17 mcg/L de Selenio.

1. Del estándar de Selenio High – Purity, se tomaron 50  $\mu\text{L}$  con una micropipeta.
2. El volumen tomado se vació en un matraz volumétrico de 25 mL llevándose a la marca de aforo con agua desionizada (solución stock).
3. De la solución stock se tomaron los siguientes volúmenes mostrados en la siguiente tabla y se vaciaron en matraces volumétricos de 50 mL llevando a la marca de aforo con HCl 7M.

Tabla 8. Curva de calibración.

SISTEMA	CONCENTRACION (mcg/L)	VOLUMEN ( $\mu\text{L}$ )
1	1	25
2	5	125
3	9	225
4	13	325
5	17	425

4. La curva de calibración se analizó por el sistema de atomización por generador de hidruros.





#### 4.12 MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN

La técnica analítica para la cuantificación de selenio total en las muestras fue el Espectrofotómetro de Absorción Atómica, sistema de atomización por generador de hidruros.

1. Abrir los tanques de gas de acetileno y nitrógeno, verificando que la compresora esté encendida y que la presión de los gases sea la indicada para el equipo (tabla 10).

**Tabla 9. Condiciones de presión.**

<b>GAS</b>	<b>PRESION (Psi)</b>
Acetileno	10-15
Nitrógeno	40-50
Aire	50-60

2. Abrir las llaves de paso de gas de acetileno, nitrógeno y aire.
3. Se prende el equipo y la computadora para abrir el programa SpectrAA y se edita el método, indicando el sistema de atomización, el elemento que se va analizar (Selenio) y el número de muestras que se van a leer.
4. El módulo VGA-77 se monta en las ranuras del instrumento EAA.
5. Posteriormente se alinea el quemador con el paso óptico y se coloca la celda de cuarzo sobre el quemador conectándola a la trampa y al separador de gas-liquido del generador.



6. Conectar la manguera de drenaje de desechos en la parte inferior del módulo VGA-77 y se termina de conectar esta manguera en un frasco de desechos.
7. Colocar los tubos capilares de A-ácido, R-reductor y M-muestra en el la bomba peristáltica del generador de Hidruros, para controlar el flujo.
8. Medir el flujo que se requiere para cada tubo capilar, 7-8 mL/min para la muestra y 1 mL/min para el ácido y reductor.
9. Se optimiza la señal de la lámpara de cátodo hueco de selenio y se calibra el equipo a cero conectando los tubos capilares en los reactivos correspondientes.
10. Una vez optimizado y calibrado el equipo, se mide la absorbancia de cada sistema de la curva de calibración de selenio y de las muestras.



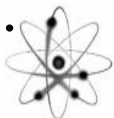
**Fig. 9. Espectrofotómetro de absorción Atómica con sistema de atomización por generador de hidruros.**



#### 4.13 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

Los parámetros farmacocinéticos de la administración oral fueron calculados de los resultados obtenidos de tiempo vs Concentración usando el programa WINNONLIN análisis NO COMPARTMENTAL Version 4.1 Build 200307301056 Core Version 16May2003. Este análisis se realizó para cada una de las unidades experimentales del grupo tratamiento.

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### BOLOS

La tabla 10 muestra las características físicas evaluadas de los dos tipos de bolos intrarruminales de selenito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) utilizados durante el estudio, sus coeficientes de variación fueron inferiores a tres por ciento por lo tanto su calidad es consistente.

Tabla 10. Características de los bolos de selenito de sodio utilizados en el estudio.

Característica	Estadística	Bolo de 7.2 g	Bolo de 13 g
Largo (mm)	Media	35,5	45,0
	CV	0,0	0,0
Ancho (mm)	Media	10,8	13,3
	CV	0,0	0,0
Espesor (mm)	Media	10,7	13,8
	CV	0,6	0,1
Densidad (g/ml)	Media	2,4	2,1
	CV	0,8	0,3
Peso (g)	Media	7,3	13,0
	CV	1,2	0,6
Dureza (kp)	Media	24,3	17,6
	CV	3,0	3,4
Unif. Cont. (%)	Media	15,2	15,6
	CV	0,2	0,2

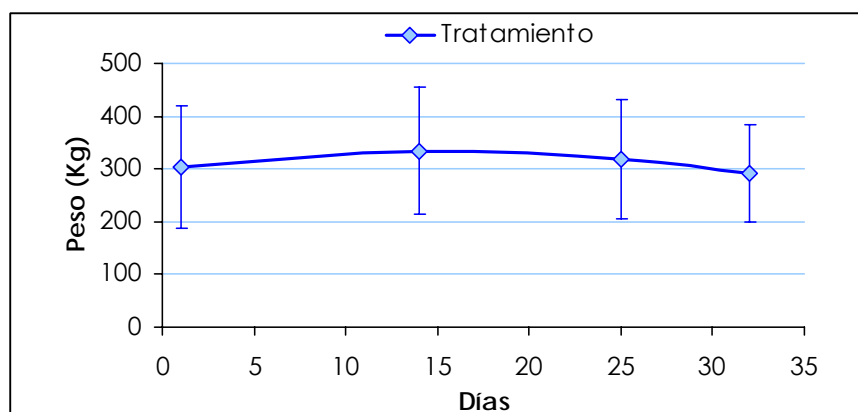
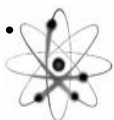


## EFFECTO DEL BOLO DE SELENITO DE SODIO SOBRE EL PESO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

En la tabla 11 y la gráfica 1 se muestra la evolución de los pesos de las unidades experimentales a las que se administro el bolo con selenito de sodio (grupo tratamiento) con un peso promedio alrededor de 300 kg, pero se observa una diferencia importante en el peso de cada unidad experimental.

Tabla 11. Peso de los animales en tratamiento obtenidos durante el periodo de experimentación.

Grupo	ID	Pesos (Kg) de la UE de los días			
		1	14	25	32
Tratamiento	860	275,0	288,0	276,0	251,0
Tratamiento	861	268,0	302,0	284,0	256,0
Tratamiento	867	226,0	259,0	255,0	236,0
Tratamiento	870	240,0	274,0	262,0	260,0
Tratamiento	142	508,0	547,0	521,0	458,0
	Promedio	303,4	334,0	319,6	292,2
	Desvest	116,1	120,1	113,1	93,1

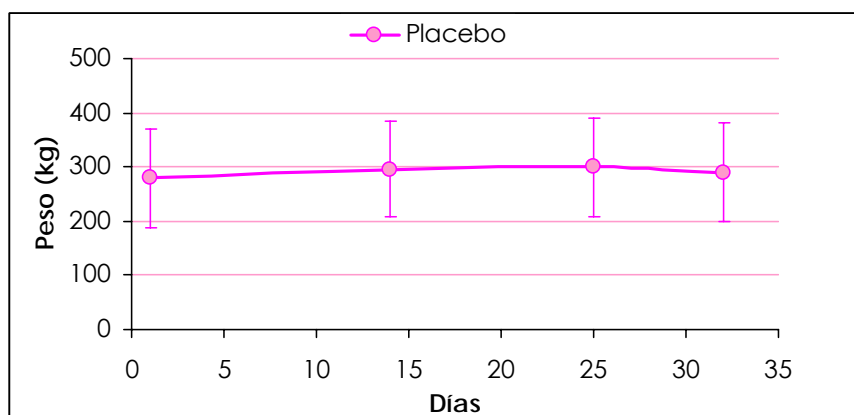
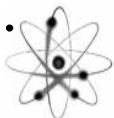


**Gráfica 1. Pesos promedios y su desviación del grupo tratamiento en función del tiempo.**

La tabla 12 y la gráfica 2 muestra los datos de los pesos de las unidades experimentales a las que se les administro el bolo placebo (grupo placebo) con un peso promedio alrededor de 280 kg observándose que la diferencia en sus pesos es menor que las del grupo tratamiento.

**Tabla 12. Peso promedio de los animales del grupo placebo obtenidos durante el periodo de experimentación.**

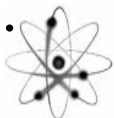
Grupo	ID	Pesos (Kg) de la UE de los días			
		1	14	25	32
Placebo	863	271,0	300,0	296,0	290,0
Placebo	395	435,0	438,0	450,0	440,0
Placebo	864	263,0	297,0	300,0	288,0
Placebo	876	215,0	228,0	232,0	214,0
Placebo	874	279,0	218,0	223,0	217,0
	Promedio	279,4	296,2	300,2	289,8
	Desvest	90,9	87,8	90,9	91,6



**Gráfica 2. Pesos promedios y su desviación del grupo placebo en función del tiempo.**

En la gráfica 1 se observa que el bolo con selenito de sodio en el día catorce provoca un ligero aumento del peso de las unidades experimentales, sin embargo el bolo placebo no presentó ningún efecto sobre el peso (gráfica 2). Dado el comportamiento obtenido se deduce que el bolo con selenito de sodio no presentó un efecto significativo ( $p > 0.5$ ) sobre la ganancia de peso en las unidades experimentales.

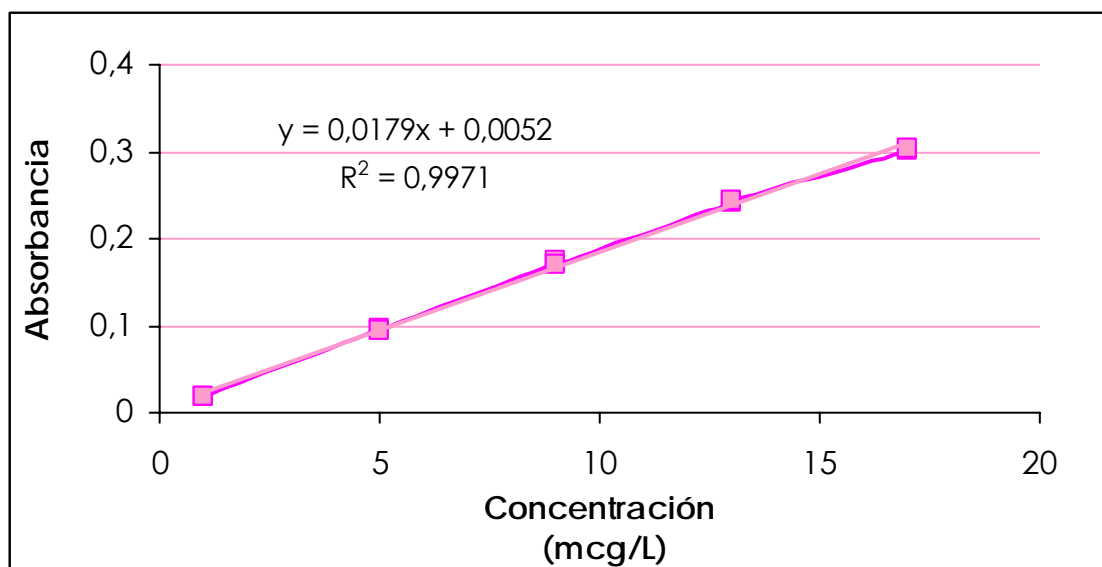




### EFFECTO DEL BOLO CON SELENITO DE SODIO SOBRE LOS NIVELES DE SELENIO EN EL PAQUETE ERITROCITARIO

La determinación de selenio en paquete eritrocitario se realizó a través de una curva de calibración bajo las condiciones experimentales descritas en la parte experimental de este trabajo (Pág. 33 a 37).

Los resultados de la curva de calibración estuvieron conforme a los requerimientos de la guía de validación de métodos analíticos de la FDA, por lo tanto las mediciones son confiables.



Gráfica 3. Regresión lineal del sistema.



Tabla 13. Curva de calibración de selenio.

Sistema	Se (mcg/L)	Abs	Abs/Conc
1	1	0,0185	0,0185
1	1	0,0181	0,0181
1	1	0,0182	0,0182
2	5	0,0969	0,01938
2	5	0,0951	0,01902
2	5	0,0935	0,0187
3	9	0,1729	0,0192
3	9	0,1744	0,0194
3	9	0,1707	0,0190
4	13	0,2423	0,0186
4	13	0,2434	0,0187
4	13	0,2427	0,0187
5	17	0,3007	0,0177
5	17	0,3035	0,0179
5	17	0,3023	0,0178
<b>Promedio</b>			0,0186
<b>DesVest</b>			0,0006
<b>CV</b>			3,0177

El modelo lineal que nos permitió estimar las concentraciones en las muestras de paquete eritrocitario es el descrito en la siguiente ecuación obtenida a partir de un análisis de regresión (tabla 14):

$$\text{Abs} = 0.0052 + 0.0178 * \text{Conc}$$

**Tabla 14. Parámetros estadísticos de la regresión del sistema.**

Pendiente (m)	0,0178
Intercepto (b)	0,0052
Coefficiente de correlación (r)	0,9985
Coefficiente de determinación (r <sup>2</sup> )	0,9971

De acuerdo a los datos de regresión observamos que el coeficiente de determinación explica el 99.71% de la variación en la absorbancia por los cambios en la concentración de selenio. El coeficiente de correlación nos indica una relación fuerte entre las variables.

**H<sub>0</sub>:** No existe relación lineal entre la concentración y la propiedad medida.

**H<sub>1</sub>:** Existe relación lineal entre la concentración y la propiedad medida.

**Criterio de aceptación:**

Si  $F_{cal} < F_{crítica}$  no se rechaza H<sub>0</sub>.

Si  $F_{cal} > F_{crítica}$  se rechaza H<sub>0</sub>.

De acuerdo a los resultados del análisis de varianza (Tabla 15) y a la hipótesis establecida, se rechaza H<sub>0</sub> por lo tanto existe relación lineal entre la concentración y la propiedad medida.

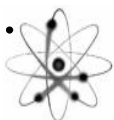


Tabla 15. Análisis de varianza del sistema.

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Promedio de cuadrados	F Calculada	F Crítica
Regresión	1	0,1535	0,1535	4507,4	6,5E-18
Residuos	13	0,0004	3,4E-05		
Total	14	0,1539			

La prueba del intercepto (b) evaluada para la recta establece la siguiente hipótesis:

$H_0$ :  $b = 0$  La ordenada al origen es cero.

$H_1$ :  $b \neq 0$  La ordenada al origen es diferente a cero.

**Criterio de aceptación:**

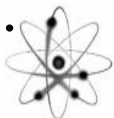
Si  $t_{cal} < t_{crítica}$  no se rechaza  $H_0$ .

Si  $t_{cal} > t_{crítica}$  se rechaza  $H_0$ .

Tabla 16. Análisis de regresión

	Coefficientes	Error Típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepto	0,0052	0,0028	1,8506	0,0870	-0,0008	0,0113
mcg/L	0,0178	0,0002	67,1379	6,5E-18	0,0173	0,0184

El intervalo de confianza del intercepto considera el cero por lo tanto se acepta la hipótesis nula que implica que a cero de



concentración no hay respuesta de selenio en el instrumento utilizado. Esto muestra evidencia de la confiabilidad del método para estimar los niveles de selenio.

Existe una relación lineal altamente significativa entre la concentración de selenio y la absorbancia de la muestra.

### CONCENTRACIONES DE SELENIO OBTENIDAS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

En la tabla 17 se muestra los niveles de selenio determinados en el grupo tratamiento relacionándolos con los días de muestreo y sus desviaciones estándar correspondientes y en la tabla dieciocho se muestran los niveles de selenio del grupo placebo.

**Tabla 17. Resultados promedios y su desviación de la concentración de selenio en el grupo tratamiento antes de la administración.**

Día	Muestra	Grupo	Concentración mcg/L	Desvest
0	Paquete	Tratamiento	106,8	26,7
3	Paquete	Tratamiento	101,9	15,3
6	Paquete	Tratamiento	166,9	54,76
9	Paquete	Tratamiento	115,2	40,2

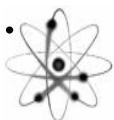
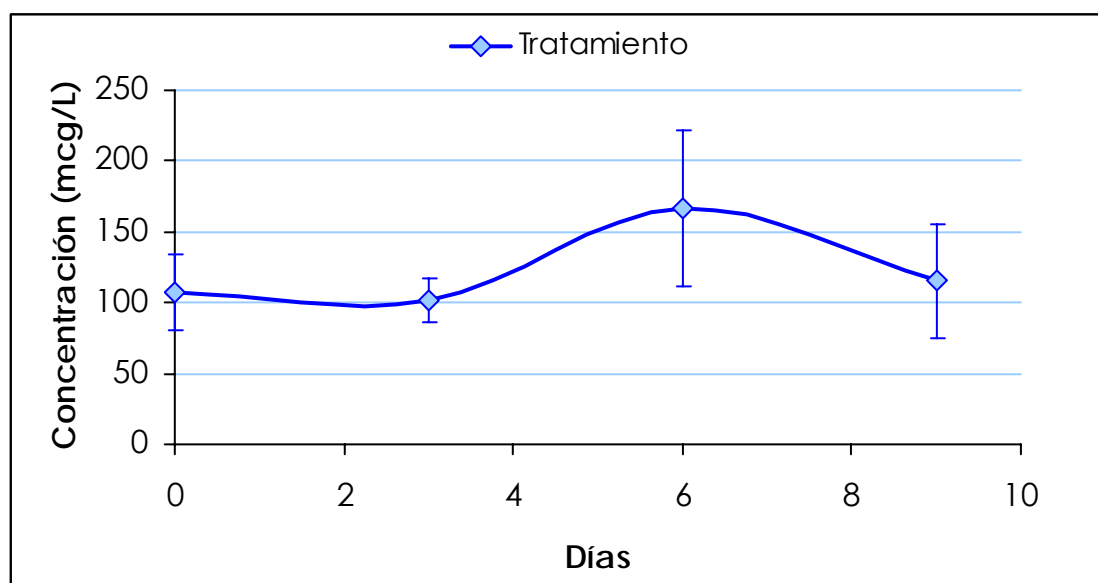


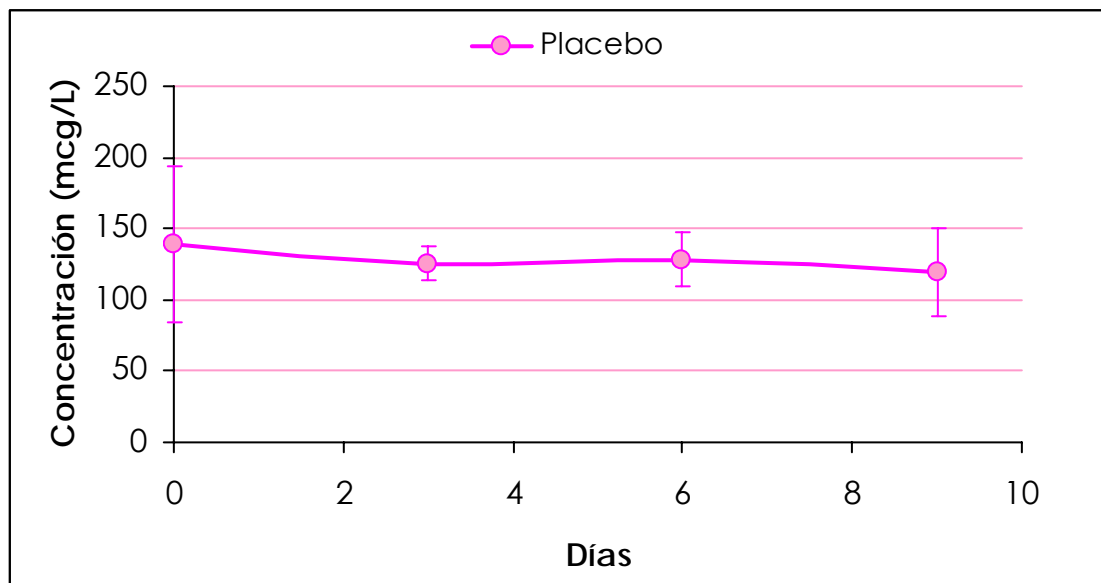
Tabla 18. Resultados promedios y su desviación de la concentración de selenio en el grupo placebo antes de la administración.

Día	Muestra	Grupo	Concentración mcg/L	Desvest
0	Paquete	Placebo	139,1	54,6
3	Paquete	Placebo	125,5	11,8
6	Paquete	Placebo	128,4	18,9
9	Paquete	Placebo	119,6	31,1

En las gráficas 4 y 5 se muestran los niveles de selenio en el paquete eritrocitario que tenían las unidades experimentales días antes de la administración de los bolos.



Gráfica 4. Promedio y desviación de los niveles de selenio endógeno del grupo tratamiento.



Gráfica 5. Promedio y desviación de los niveles de selenio endógeno del grupo placebo.

Se decidió tomar muestras de paquete eritrocitario 15 días antes de la administración del bolo de selenio con el fin de determinar las concentraciones de selenio endógeno de cada unidad experimental. Los niveles de selenio endógeno en los animales del grupo tratamiento fueron ligeramente menores excepto en las concentraciones del día 2 (Gráfica 4) en comparación a los animales del grupo placebo (Gráfica 5).



### **CONCENTRACIONES DE SELENIO OBTENIDAS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DEL BOLO DE SELENITO DE SODIO Y DEL BOLO PLACEBO.**

En la tabla 19 se muestran los resultados de los niveles de selenio en el grupo de tratamiento y en la tabla veinte los niveles de selenio del grupo placebo.

Al comparar los niveles de selenio en el paquete eritrocitario del grupo tratamiento y el grupo placebo (ver gráficas 6 y 7) se observó que hay una diferencia importante entre el tratamiento y placebo, por lo tanto el bolo de selenito de sodio nos permite aumentar los niveles de selenio en el paquete eritrocitario obteniendo su nivel máximo el día cinco después de su administración.





Tabla 19. Resultados promedios y desviación de la concentración de selenio en el grupo tratamiento.

Días	Muestra	Grupo	Concentración (mcg/L)	Desvest
0	Paquete	Tratamiento	127,34	27,78
5	Paquete	Tratamiento	273,33	103,08
8	Paquete	Tratamiento	256,53	52,52
11	Paquete	Tratamiento	263,03	54,47
14	Paquete	Tratamiento	208,26	36,84
17	Paquete	Tratamiento	188,41	15,96
20	Paquete	Tratamiento	200,57	34,54
23	Paquete	Tratamiento	207,64	33,93
26	Paquete	Tratamiento	179,34	27,24
29	Paquete	Tratamiento	145,27	45,48
33	Paquete	Tratamiento	146,95	25,39
36	Paquete	Tratamiento	218,41	38,52
42	Paquete	Tratamiento	191,31	34,38
47	Paquete	Tratamiento	123,64	14,56
50	Paquete	Tratamiento	193,54	81,57
54	Paquete	Tratamiento	165,96	21,61

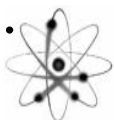
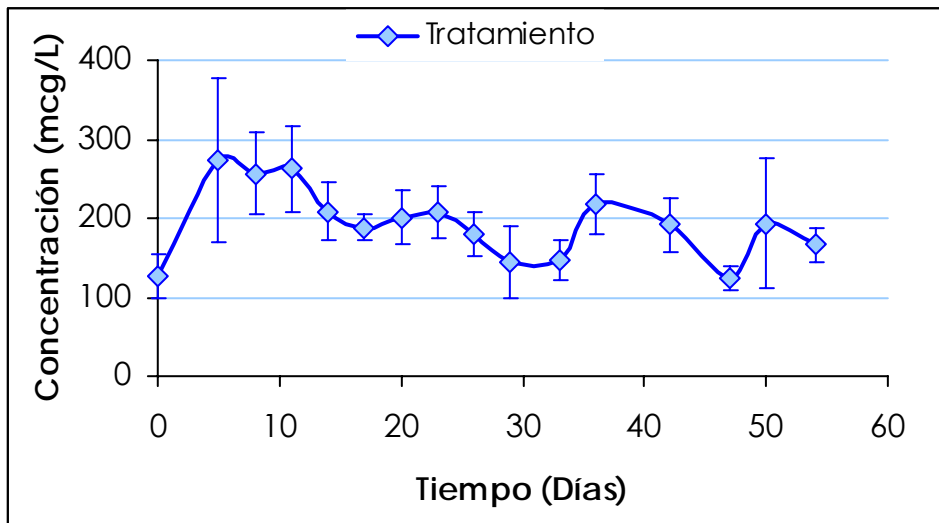
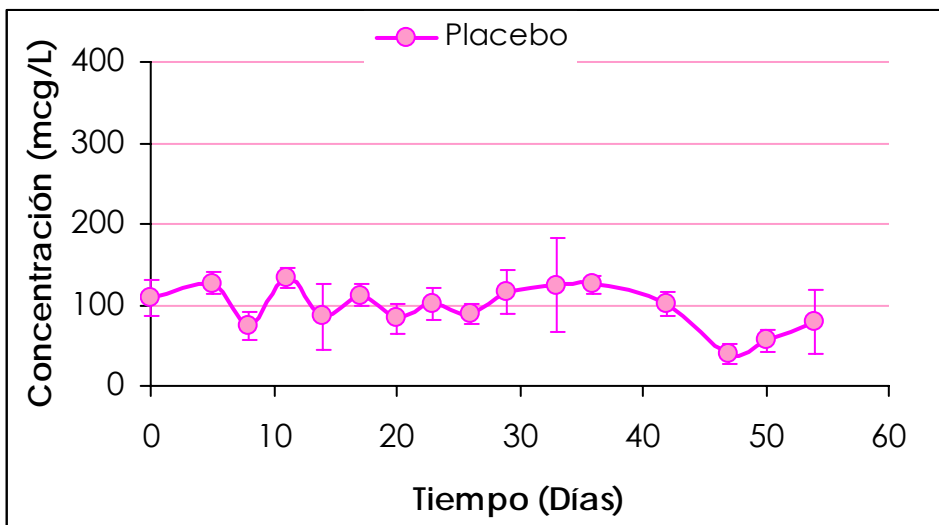


Tabla 20. Resultados promedios y desviación de la concentración de selenio en el grupo placebo.

Días	Muestra	Grupo	Concentración (mcg/L)	Desvest
0	paquete	Placebo	108,18	22,31
5	paquete	Placebo	126,89	14,24
8	paquete	Placebo	73,76	17,81
11	paquete	Placebo	132,83	12,64
14	paquete	Placebo	85,23	41,22
17	paquete	Placebo	111,53	13,56
20	paquete	Placebo	83,88	18,49
23	paquete	Placebo	100,57	20,10
26	paquete	Placebo	88,04	12,46
29	paquete	Placebo	115,67	26,57
33	paquete	Placebo	124,13	57,68
36	paquete	Placebo	124,93	10,24
42	paquete	Placebo	101,73	14,83
47	paquete	Placebo	38,88	12,41
50	paquete	Placebo	55,64	13,36
54	paquete	Placebo	78,98	38,84



Gráfica 6. Promedio y desviación de los niveles de selenio en el grupo tratamiento.



Gráfica 7. Promedio y desviación de los niveles de selenio en el grupo placebo.

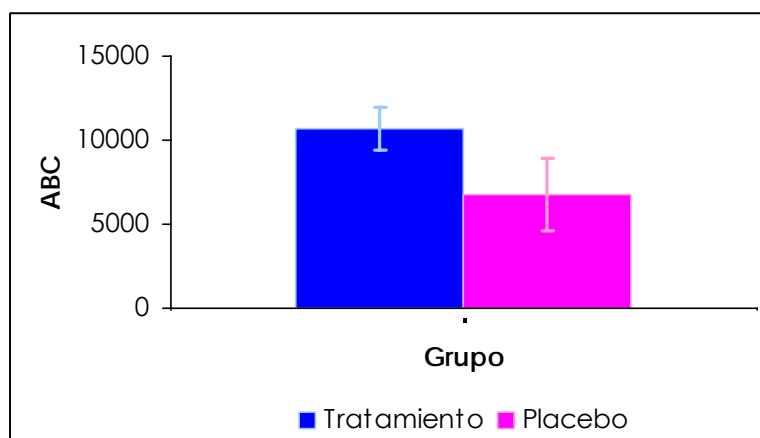


Tabla 21. Área bajo la curva

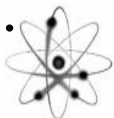
ID	Grupo	ABC
860	Tratamiento	12353,2
861	Tratamiento	10908,0
867	Tratamiento	10384,4
870	Tratamiento	10776,1
142	Tratamiento	8799,7
863	Placebo	9737,4
864	Placebo	5041,7
876	Placebo	5410,0
874	Placebo	6909,1

Tabla 22. Promedio y desviación del área bajo la curva

Grupo	ABC	S
Tratamiento	10644,3	1272,5
Placebo	6774,5	2133,9



Gráfica 8. Comparación del área bajo la curva del grupo tratamiento contra el grupo placebo.

**Hipótesis:**

$$H_0 : \bar{Y}_{tratamiento} = \bar{Y}_{placebo}$$

$$H_a : \bar{Y}_{tratamiento} \neq \bar{Y}_{placebo}$$

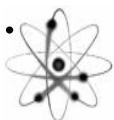
Tabla 23. Comparación de las ABC promedio del grupo tratamiento y grupo placebo.

	<b>Grupo tratamiento</b>	<b>Grupo placebo</b>
Unidades experimentales	5	4*
Media	106443.0	67745.5
Desviación estándar	12725.3	21339.6
Varianza	1.62E+08	4.55E+08
Grados de libertad	5	4
Valor de "t"	- 3.40102	Asumiendo variancias iguales
Nivel de significancia (P-value)	0.0114268	

En la gráfica 8 y la tabla 23 se muestra que hay una diferencia significativa entre las ABC del grupo tratamiento y el grupo placebo observándose que en el grupo tratamiento son mayores que el grupo placebo.

---

\* En el grupo placebo tenemos solo 4 unidades experimentales porque la UE 395 se murió.



### DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DEL BOLO CON SELENITO DE SODIO

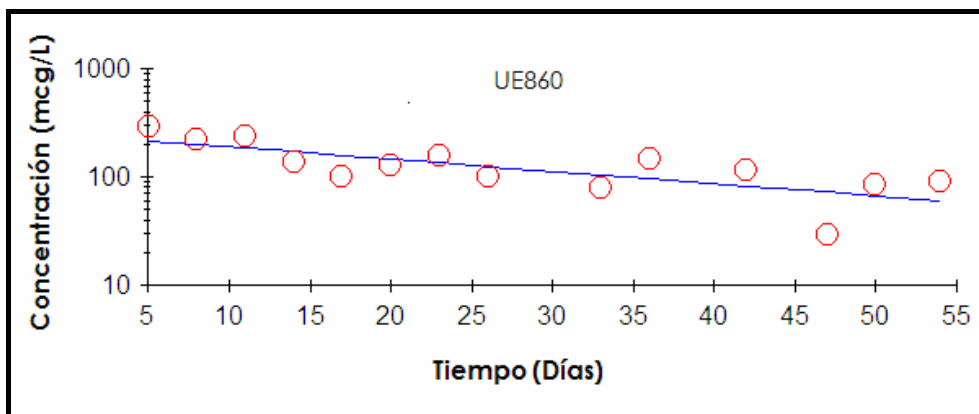
Los datos de concentración de selenio en paquete eritrocitario de cada grupo experimental se sometieron a un análisis farmacocinético con el programa Winnonlin análisis no compartimental Versión 4.1 Build 200307301056 core versión 16May2003 con el cual se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla 24. Parámetros farmacocinéticos del grupo tratamiento.

Variable	Promedio	Variante	Media	Rango	% CV
C <sub>máx</sub>	194,0	4791,2	171,3	17,2	35,6
T <sub>máx</sub>	5,0	0,0	5,0	0,0	0,0
t <sub>1/2</sub>	22,9	98,6	26,5	24,2	43,2
MRT	20,9	15,8	22,4	9,9	19,0
ABC	6271,9	10540637,2	6299,3	8192,1	51,7
Corr_XY	-0,6	0,0	-0,7	0,5	-28,5

Tabla 25. Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 860.

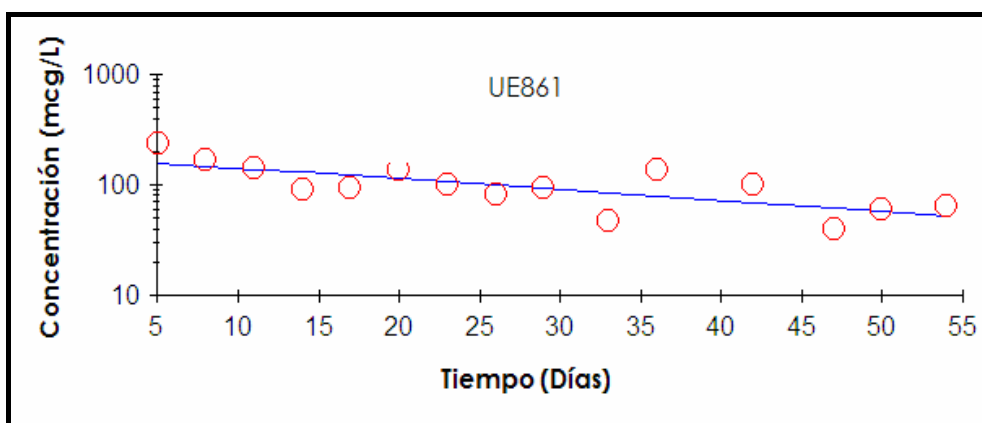
Vaca	Rsq	Corr_XY	t <sub>1/2</sub> (día)	T <sub>máx</sub> (día)	C <sub>máx</sub> (mcg/L)	ABC (día*mcg/L)	MRT (día)
860	0,5498	-0,7415	26,5	5,0	293,6	10,355,2	22,4



Gráfica 9. Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.

Tabla 26. Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 861.

Vaca	Rsq	Corr_ XY	t1/2 (día)	Tmáx (día)	Cmáx (mcg/L)	ABC (día*mcg/L)	MRT (día)
861	0,5480	-0,7403	30,5	5,0	233,9	8,345,4	23,2

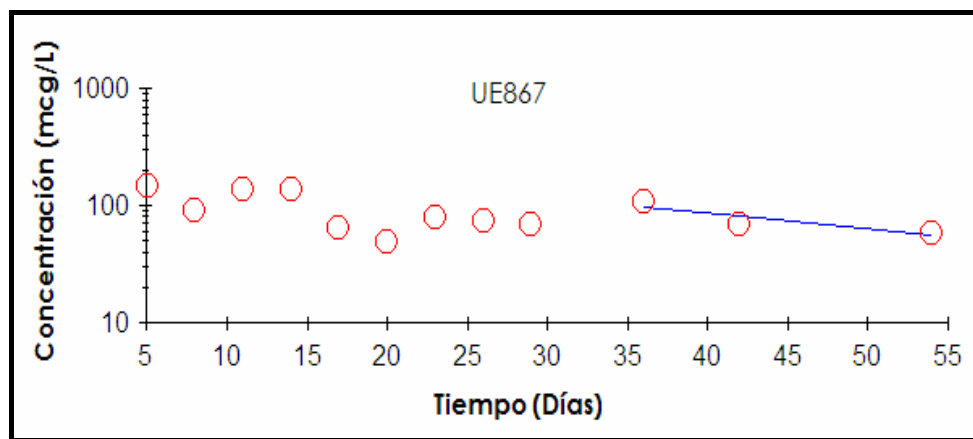


Gráfica 10. Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.



Tabla 27. Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 867.

Vaca	Rsq	Corr_ XY	t1/2 (día)	Tmáx (día)	Cmáx (mcg/L)	ABC (día*mcg/L)	MRT (día)
867	0,7875	-0,8874	21,7	5,0	147,7	6,299,3	25,1

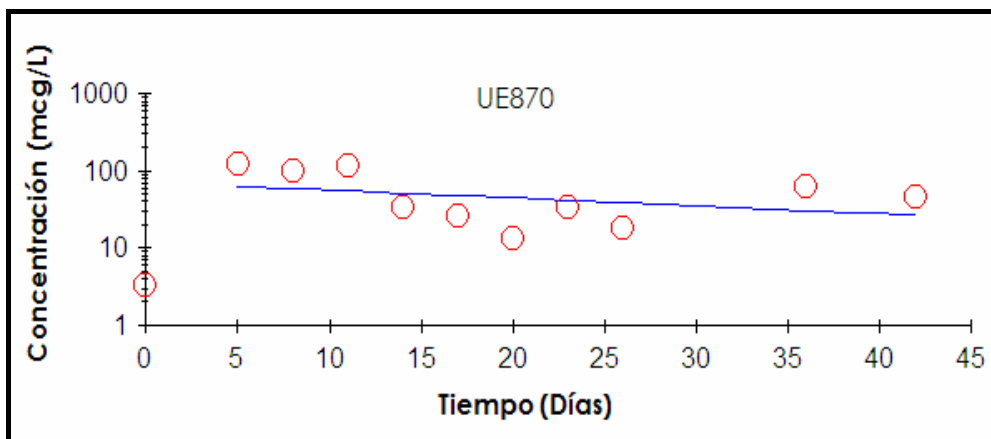
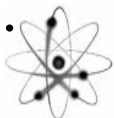


Gráfica 11. Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.

Tabla 28. Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 870.

Vaca	Rsq	Corr_ XY	t1/2 (día)	Tmáx (día)	Cmáx (mcg/L)	ABC (día*mcg/L)	MRT (día)
870	0,1285	-0,3585	29,5	5,0	123,3	4,196,7	18,6

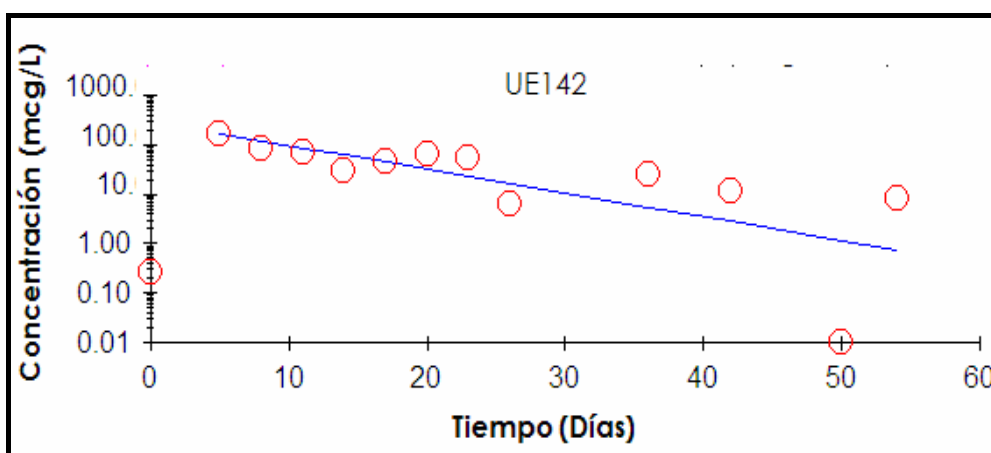




Gráfica 12. Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.

Tabla 29. Parámetros farmacocinéticos correspondientes a la unidad experimental 142.

Vaca	Rsq	Corr_ XY	t1/2 (día)	Tmáx (día)	Cmáx (mcg/L)	ABC (día*mcg/L)	MRT (día)
142	0,5048	-0,7105	62,8	5,0	171,3	2,163,1	15,1



Gráfica 13. Resultados de concentración que se tomaron para el análisis farmacocinético.



Los perfiles de selenio obtenidos de la administración del bolo de liberación lenta se distinguen de forma general dos fases, la primera de liberación inmediata y la segunda de liberación lenta.

A partir de los niveles de selenio se obtuvieron los parámetros farmacocinéticos, donde su  $T_{m\acute{a}x}$  fue de 5 días para las 5 unidades experimentales teniendo una  $C_{m\acute{a}x}$  en promedio de 194 mcg/L.

Los datos experimentales muestran que el bolo aumenta los niveles de selenio en sangre encontrándose su concentración máxima a los 5 días después de su administración. Las unidades experimentales con tratamiento durante 22 días presentaron mayores niveles de selenio que las no tratadas (ver gráficas 6 y 7).

Se calculo el ABC por el método trapezoidal de cada uno de los niveles de concentración del grupo con tratamiento, con la finalidad de determinar la biodisponibilidad relativa de los bolos teniendo como resultado en promedio un ABC de 6,271.9 mcg/L\*día.

El promedio del tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) fue de 22.9 días que en nuestro caso es el tiempo de absorción de selenio y no de eliminación con lo cual podemos decir que seria conveniente que a los 22 días se administrara un nuevamente un bolo para mantener los niveles de selenio.

# **CONCLUSIONES**



## VI. CONCLUSIONES

- ▀ Las concentraciones de selenio en paquete eritrocitario en los animales que recibieron el bolo de selenito de sodio resultaron mayores y diferentes a las encontradas en los animales que recibieron el bolo placebo.
- ▀ De acuerdo a los resultados obtenidos se determinó que hay diferencia significativa en tres parámetros farmacocinéticos  $t_{1/2}$ , ABC, TMR entre los niveles de selenio en el grupo tratamiento y grupo placebo, mientras que  $C_{máx}$  y  $T_{máx}$  no presentan diferencias significativas.
- ▀ Los niveles de selenio en paquete eritrocitario nos permitieron determinar que con la dosificación de un bolo se puede alcanzar una vida media del bolo de selenito de sodio de 22 días pero se sugiere administrar una segunda dosis para mantener los niveles de selenio adecuados.

# REFERENCIAS



## VII. REFERENCIAS

1. Abdelrahman M. M., Kincaid R. L. 1995. Effect of selenium supplementation on maternal transfer of selenium to fetal and newborn calves. *J. Dairy Sci.*, 78, 625-630.
2. Aburto, E.; Cribb, A.; Fuentealba. 2001b. Effect of chronic exposure to excess dietary copper and dietary selenium supplementation on liver specimens from rats. *AJVR*, 62: 1423-1427.
3. Aiache, J. M. *Biofarmacia. El manual moderno*, México, 1983: 3-11, 92-93, 276-314.
4. Amador, G. E. Desarrollo de un bolo intra-ruminal para la liberación prolongada de yodo y selenio y su evaluación en ganado bovino. Tesis de Maestría en ciencias de la producción y de la salud animal. FES Cuautitlán, UNAM. 2005.
5. Andersen, O. and Nielsen, J.B. 1994. Effects of simultaneous low-level dietary supplementation with inorganic and organic selenium on whole-body, blood, and organ levels of toxic metals in mice, *Environmental Health Perspectives*, 102: 321-324.
6. Andrés, S. Mañé, M.; Sánchez, J. ; Barrera, R. ; Jiménez, A. 1999. Temporal variations in blood glutathione peroxidase (GSHP<sub>x</sub>) activity in sheep at pasture in a Mediterranean area, *The Veterinary Journal*, 157: 186-188.



7. Baeza, H. M. Validación de un método de digestión ácida en horno de microondas para la cuantificación de selenio por absorción atómica en materia prima y fluido ruminal. FES Cuautitlán, UNAM. 2005.
8. Cárdenas, R. H. Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos. UAM Xochimilco, México 1996: 101-104.
9. Clark LJ, Familton AS, Wright AB, Isherwood P, Baas E. Selenium field trials in dairy cattle. Trace Elements in Ruminants. Proceedings of the 22<sup>nd</sup> Seminar Sheep and Cattle Society New Zealand Veterinary Association, 1992 June. New Zealand: Fundation for Continuing Education of the New Zealand Veterinary Association, 1992: 27-31.
10. Combs G. F., Combs S. B. Absorption and Transfer. In: The role of Selenium in Nutrition. New York: academic Press, 1986.
11. Daniela L. A. Selenium Metabolism and Bioavailability. Biol Trace Elem Res 1996; 54: 185.
12. Daun, C. and Akesson, B. 2004a. Comparison of glutathione peroxidase activity, and of total and soluble content in two muscles from chicken, turkey, duck, ostrich and lamb. Food Chemistry, 85: 295-303.



13. Daun, C. and Akesson, B. 2004b. Glutathión peroxidase activity and content of total and soluble selenium in five bovine and porcine organs used in meat production. *Meat Science*, 66: 801-807.
14. Doménech B. J., Martínez L. J., Plá D. J. *Biofarmacia. Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen II.* Editorial Síntesis, S.A. España, 2001. p. 19-41.
15. Draft Toxicological Profile for Selenium. U.S Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry: 1-386, 2001.
16. Estévez C. F. Estudios de bioequivalencia: enfoque metodológico y aplicaciones prácticas en la evolución de medicamentos genéricos. *Rev Med Uruguay* 2000; p. 16: 133-143.
17. Gaytan, S. G. Comparación de la biodisponibilidad de selenito de sodio y de selenio orgánico en bolos intrarruminales de lenta liberación en ganado ovino. Tesis de Maestría en ciencias de la producción y de la salud animal. FES Cuautitlán, UNAM. 2005.
18. Gleason, H. M. E. Métodos de separación para el análisis químico y el desarrollo tecnológico: "desarrollo y optimización de los métodos de digestión ácida en horno de microondas para la cuantificación de selenio en muestras biológicas". FES Cuautitlán, UNAM. 2004.





19. González. C. M. Estudio de biodisponibilidad y de los parámetros farmacocinéticos de bolos de sulfametazina sodica en ovinos. Tesis de Maestría en ciencias de la producción y de la salud animal. FES Cuautitlán, UNAM. 2005.
20. Henry PR, Ammerman CB. Selenium bioavailability. In: Ammerman CB, Baker DH, Lewis AJ, editors. Bioavailability of nutrients for animals: amino acids, minerals, and vitamins. San Diego (USA): Academic Press Inc, 1995:303-331.
21. Hernández Cruz Elivet Sandra. Validación de los métodos de digestión ácida en horno de microondas para la determinación de selenio en leche y plasma. FES Cuautitlán, UNAM. 2005.
22. Humphreys , D. J. 1988. Veterinary toxicology, Baiee Tindal, London, pp 74-77.
23. Jiménez, A.; Andrés, S.; Mañé, M.; Sánchez, J. ; Barrera, R. ; Benito, M. 1998. Evaluation of different prophylactic methods against selenium deficiency in sheep grazing on range in Southwester Spain, Small Ruminant Research, 29: 193-199.
24. Judson, G.H; Ellis, N,F., Kempe B. R., Shallow M. 1991. Long-acting selenium treatment for sheep. Aust. Vet. J., 68: 263-265.



25. Jukola, E., Hakkarainen J., Saloniemi H., Sankari S. 1996. Blood selenium, vitamin E, vitaminin A, and B-carotene concentrations and udder health, fertility treatments and fertility. *J. Dayri Sci.* 79: 838-845.
26. Jung, C. H. Hong. CH. E. Doménech B. J., Martínez L. J., Plá D. J. *Biofarmacia. Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen II.* Editorial Síntesis, S.A. España, 2001. p. 19-41.
27. Biodisponibilidad y bioequivalencia. Tópicos selectos de tecnología farmacéutica. 1<sup>ra</sup> ed. Noviembre de 2003.
28. knowles, S. O., Grace N. D., Wurms K., lee J. 1999. Significance of amount and form of dietary selenium in blood, milk and casein concentrations in grazing cows. *J. Dairy Sci.* 82: 429-437.
29. Kuchel, R.E. and Buckley, R.A. 1969. The provision of Se to sheep by means of heavy pellets. *Aust. J. Agric. Res.*, 2001: 1009-1107.
30. Levander O. A. Selenium. In: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition.* 5<sup>th</sup>. Volume 2. Florida: Academic Press, 1986: 209-279.
31. McDowell L. R. trace Elements Supplementation in Latin America and the Potencial for Organic Selenium. *Prroc. Alltech 13<sup>th</sup> Annual Biotechnology in the Feed Industry*, 1997: 45 (Abstract).



32. McDowell, L.R; Valle, G; Cristaldi, L; Davis, P; Rosendo, O and Wilkinson, S. 2002. Selenium availability and methods of selenium supplementation for grazing ruminants. Proceeding 13<sup>th</sup> Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, pp 86-102.
33. Nonato N. F. "Sistemas de atomización utilizados en espectrofotometría de absorción atómica: flama, horno de grafito, generador de hidruros y generador de vapor, para el análisis de muestras complejas". FES Cuautitlán, UNAM. 1997.
34. Oblitas, F.; Contreras, P.A.; Böhmwald, H.; Wittwer, F. 2000. Effect of selenium supplementation on blood glutathione peroxidase (GSH-Px) activity and weight gain in heifers. Arch. Med. Vet. 32: 1-12.
35. Ortman, K. y Pehrson, B. 1997. Selenite and selenium yeast feed supplements for dairy cows. J. Vet. Med. 44: 373-380.
36. Pavlata, L; Pechová, A; and Illek, J. 2001. Blood and tissue selenium concentrations in calves treated with inorganic or organic selenium compounds a comparison. 70: 19-26.
37. Pehrson, B.; Ortman, N.; Madjid, N. and Trafikowska, U. 1999. The Influence of dietary 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.



38. Sarabia, M. M. Desarrollo de un bolo intrarruminal de liberación prolongada con selenio orgánico de levaduras para bovinos productores de leche. Tesis de Maestría en ciencias de la producción y de la salud animal. FES Cuautitlán, UNAM. 2004.
39. Serra A. B., Serra S. D. et al. Effect of Selenium in Soluble Glass Bolus on Selenium Content of Milk and Blood of Goats. *Biol Trace Elem Res* 1996; 55:207-211.
40. Ullrey, D. E. 1992. Basis for regulation of selenium supplements in animal diets, *J. Anim. Sci.* 70: 3922-3927.
41. Ullrey, D. E.; Bradly, P. S.; Whitter, K. 1977. Selenium supplementation of diets for sheep and beef cattle. *J. Anim. Sci.* 45: 559.
42. Underwood, E. J. y Suttle N. F. 1999. *The Mineral Nutrition of Livestock*. 3<sup>rd</sup> ed. Wallingford: CABI publishing, UK.
43. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Guidance for industry bioanalytical method validation. May 2001. 5-11.
44. Valadez Pérez Juan Carlos. Comparación de la forma inorgánica de suplementación de selenio sobre la toxicidad en ovinos. FES Cuautitlán, UNAM. 2005.



45. Vandame, T.F. and Ellis, K.J. 2004. Issues in developing ruminal drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56: 1415-1436.
  
46. Vila J. J. Tecnología farmacéutica. Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas. Editorial Síntesis. Primera reimpresión. España, 2001. volumen 1.
  
47. Waldner C., Campbell J., et al. Comparison of 3 Methods of Selenium Assessment in Cattle. *Can. Vet. J.* (1998) 39: 225-231.

#### SITIOS WEB

1. Anzola H. J. (2001) Algunas Descripciones de la Actividad Biológica y Fisiológica del Selenio.  
[http://www.encolombia.com/acovez24284\\_algunas14htm](http://www.encolombia.com/acovez24284_algunas14htm)
2. [http://atsdr.cdc.gov/HAC/PHA/marshall/mar\\_p2.html](http://atsdr.cdc.gov/HAC/PHA/marshall/mar_p2.html).
3. Selenio Orgánico. 2001.  
[http://www.encolombia.com/acovez24284\\_organico.htm](http://www.encolombia.com/acovez24284_organico.htm).
4. Selenio y Ganado. 2001.  
<http://ansci.correl.ecl/plants/toxicagents/selenium/selenium.html>.
5. [www.tuotromedico.com/temas/eritrocitos.htm](http://www.tuotromedico.com/temas/eritrocitos.htm) - 2k (180406).

# **ANEXOS**



## ANEXO 1

## Calendario de toma de muestra

Tabla 30. Calendario de toma de muestra a las unidades experimentales.

Domingo	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Mes
15	16	<b>17 *</b>	18	19	<b>20 *</b>	21	Enero
22	<b>23 *</b>	24	25	<b>26 *</b>	27	28	
29	30	31					
			1	2	3	4	Febrero
5	6	7	<b>8 *</b>	9	10	11	
12	<b>13 *</b>	14	15	<b>16 *</b>	17	18	
<b>19 *</b>	20	21	<b>22 *</b>	23	24	<b>25 *</b>	
26	27	<b>28 *</b>					
			1	2	<b>3 *</b>	4	Marzo
5	<b>6 *</b>	7	8	<b>9 *</b>	10	11	
12	<b>13 *</b>	14	15	<b>16 *</b>	17	18	
19	20	21	<b>22 *</b>	23	24	25	
26	<b>27 *</b>	28	29	<b>30 *</b>	31		
						1	Abril
2	<b>3 *</b>	4	5	<b>6 *</b>	7	8	
9	<b>10 *</b>	11	12	13	14	15	

---

\* Día de toma de muestra.



Tabla 31. Días de toma de muestra a las unidades experimentales.

Toma de Muestra	Mes	Día
Antes de la administración	Enero	17, 20, 23, 26
Día de la administración	Febrero	8
Después de la administración	Febrero	13, 16, 19, 22, 25, 28
	Marzo	3, 6, 9, 13, 16, 22, 27, 30
	Abril	3, 6, 10

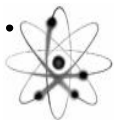
## ANEXO 2

### OBSERVACIONES DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN.

Tabla 32. Observaciones durante el periodo de experimentación.

Fecha	ID	Grupo	Observaciones
170106	860	Tratamiento	Se le aplico un antiinflamatorio, debido a un traumatismo.
240206	142	Tratamiento	Se le aplico Oxitetraciclina de larga acción, trisulfas intravenosas porque tenia fiebre.
250206			
260206			





### ANEXO 3

#### PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

1 L : ACIDO CLORHIDRICO 7 MOLAR  
(HCl 7 M)

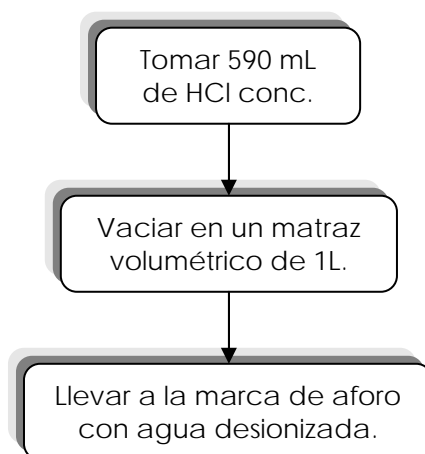


Fig. 10. Diagrama de flujo de la preparación de HCl 7M.



## 100 mL: BOROHI DRURO DE SODIO AL 1%

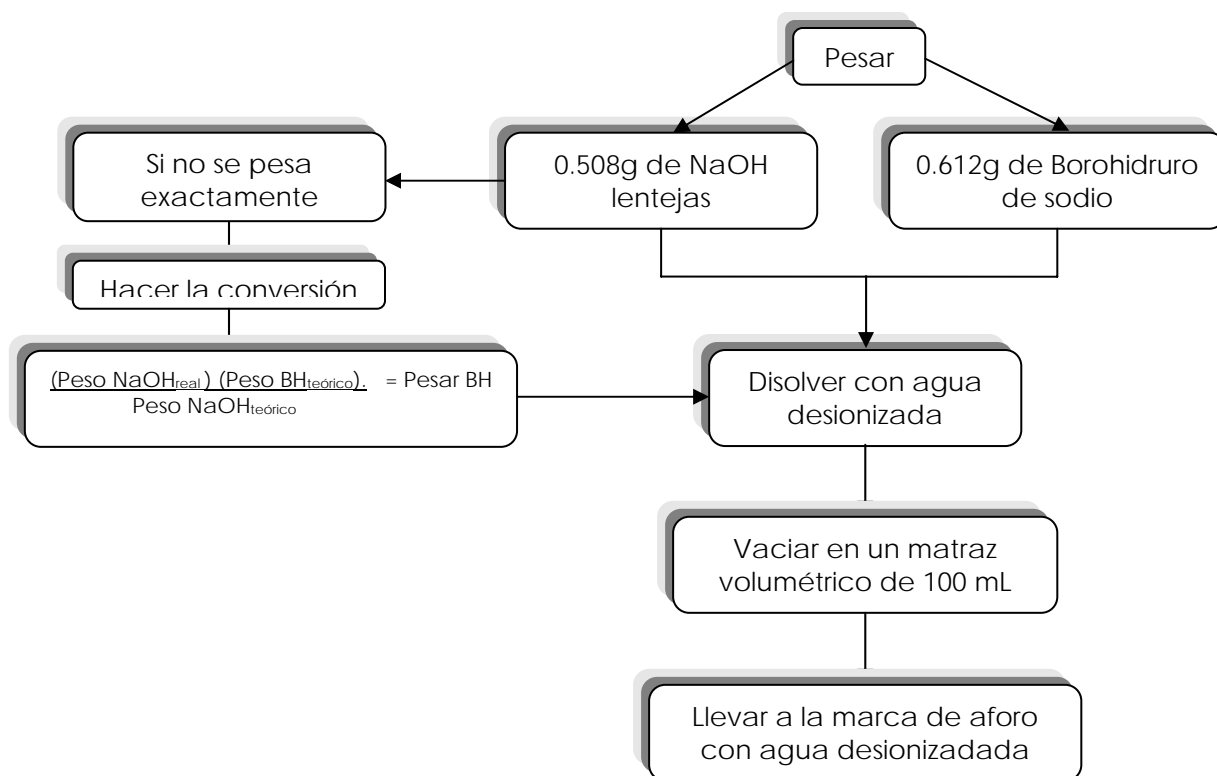


Fig. 11. Diagrama de flujo de la preparación de Borohidru ro.



## ANEXO 4

### COMPONENTES DEL HORNO DE MICROONDAS MARS 5 CEM CORPS

- ✚ Vasos de teflón HPS500 plus
- ✚ Sensor de temperatura (temperatura máx 210°C)
- ✚ Sensor de presión (presión máx 350 psi)
- ✚ Tornamesa
- ✚ Marcos de soporte
- ✚ Chaquetas
- ✚ Capilar de zafiro (thermowell)
- ✚ Tapones de seguridad
- ✚ Membranas de seguridad
- ✚ Tapón para sensor de temperatura
- ✚ Tapones para vaso control
- ✚ Tapas de teflón para el vaso control y vasos HP500 plus
- ✚ Discos para vaso control y vasos HP500 plus
- ✚ Adaptador de la tapa para el vaso control



Fig. 12. Horno de Microondas MARS 5.



## ANEXO 5

### PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN

#### 1. LIMPIEZA

Verificar que el área, material y equipo de trabajo se encuentre limpio y en buen estado.

#### 2. SEGURIDAD

El personal involucrado en realizar la metodología y manejo de materias primas, equipo, material, gases, reactivos y muestras biológicas debe de portar; Bata blanca (limpia, manga larga, en buen estado y cerrada), lentes de seguridad, guantes, cubrebocas.

#### 3. IDENTIFICACIÓN

Identificar el área y equipo de trabajo que se va a utilizar. Siguiéndose las indicaciones para el manejo y seguridad del equipo.

#### 4. SURTIDO, MEDICIÓN DE REACTIVOS Y MUESTRAS BIOLÓGICAS

- a. Verificar el orden y limpieza de las áreas de trabajo.
- b. Verificar cada uno de los contenedores que contienen a los gases, reactivos y muestras biológicas, que estén debidamente identificados.
- c. Pesar una muestra biológica a la vez, en una balanza analítica.



- d. Verificar que la pesada de cada una de las muestras biológicas sea correcta.
- e. Etiquetar debidamente cada una de las pesadas.
- f. Verificar el orden y limpieza de las áreas de trabajo una vez concluido el desarrollo del procedimiento descrito a continuación.

## **5. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

### **DIGESTIÓN ACIDA EN HORNO DE MICROONDAS**

1. Una vez obtenida las muestras biológicas (paquete eritrocitario) proseguir de la siguiente manera para su pre-tratamiento.
2. En la balanza analítica, pesar 0.5 g de cada muestra biológica en los vasos de teflón para horno de microondas (10 vasos), con ayuda de una micropipeta de capacidad de 100-1000  $\mu\text{L}$  y Registrar los pesos.
3. A cada vaso se le adicionan los siguientes volúmenes de reactivos



Tabla 33. Condiciones para la preparación de las muestras.

Vaso	Muestra		Agua mL	Ácido nítrico mL	Peróxido de H <sup>+</sup> mL
	ID	Peso (g)			
1	860	0.5	3	5	1
2	861	0.5	3	5	1
3	867	0.5	3	5	1
4	870	0.5	3	5	1
5	142	0.5	3	5	1
6	863	0.5	3	5	1
7	395	0.5	3	5	1
8	864	0.5	3	5	1
9	874	0.5	3	5	1
10	876	0.5	3	5	1

4. Se dejan reposar los vasos durante 30 minutos en condiciones ambientales.
5. Se coloca a cada tapón de los vasos una membrana HP-500 safety.
6. Cerrar los vasos con los tapones, colocarlos en las chaquetas y en las bases de plástico para montarlas en el carrusel.
7. Montar las bases que contienen a los vasos en el carrusel, colocando en el lugar del vaso control aquel que contenga la muestra de mayor concentración de Selenio.
8. Colocarle al vaso control el sensor de Temperatura.
9. Conectar y encender el Horno de microondas.
10. Indicar menú, revisar métodos, select y elegir Leche 2-HP500 y stop.



11. Abrir la puerta del Horno y colocar el carrusel hasta que embone en la base del horno.
12. Conectar el sensor de Temperatura en la pared superior del horno. verificando que la pantalla nos indique una Temperatura.
13. Verificar que gire adecuadamente el carrusel.
14. Cerrar la puerta del horno y oprimir el botón Start para someter a digestión las muestras biológicas por el método de leche 2.
15. Apagar la luz del cuarto donde se encuentra el Horno y esperar a que finalice la digestión de las muestras biológicas.
16. Al término de la digestión, abrir la puerta del horno, desconectar la manguera de temperatura del horno y sacar el carrusel.
17. Apagar el Horno de microondas y desconectarlo.
18. Quitar el sensor de temperatura del vaso control y desmontar del carrusel las bases de plástico que contienen los vasos.
19. Colocar las bases que contienen los vasos enchaquetados en la campana de extracción de gases.
20. Dejarlos reposar durante 1 hora para que se enfríen.
21. Desmontar las chaquetas de las bases de plástico y sacar los vasos de las chaquetas para evitar que estas se mojen.
22. El contenido de los vasos se coloca en matraces volumétricos de 25 mL, enjuagándose 3 veces cada vaso y tapón con HCl 7M.
23. Llevar a la marca de aforo con HCl 7M, tapar el matraz y agitar.
24. Las muestras contenidas en los matraces volumétricos transferirlas a recipientes de polietileno previamente etiquetados, para su posterior análisis.
25. Lavar el material utilizado.



26. Para realizar el análisis de las muestras se prepara una curva de calibración de 1 a 17 mcg/L de Selenio.

## 6. PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

1. Del estándar de Selenio High – Purity, tomar 50  $\mu\text{L}$  con una micropipeta.
2. Vaciar el volumen tomado con la micropipeta en un matraz volumétrico de 25 mL.
3. Con agua desionizada llevar a la marca de volumen de aforo.
4. Etiquetar el matraz aforado como solución stock.
5. De la solución stock tomar los siguientes volúmenes mostrados en la siguiente tabla con micropipetas y vaciar el contenido en matraces aforados de 50mL.

**Tabla 34. Cantidad de la solución stock a tomar para la preparación de la curva de calibración.**

Sistema	Concentración (mcg/L)	Volumen ( $\mu\text{L}$ )
1	1	25
2	5	125
3	9	225
4	13	325
5	17	425

6. Con HCl 7M llevar a la marca de volumen de aforo cada matraz volumétrico de 50 mL.





## 7. METODO DE CUANTIFICACIÓN

**Espectrofotometría de absorción atómica, sistema de atomización por generador de hidruros.**

1. Abrir los tanques de gas de nitrógeno y acetileno (para el caso de acetileno, la presión del tanque no debe ser menor a 100psi), verificando que la compresora esté encendida y que la presión de los gases sea la indicada para el equipo.

**Tabla 35. Presión de cada gas a la que se debe trabajar.**

<b>Gas</b>	<b>Presión (Psi)</b>
Aire	50-60
Nitrógeno	40-50
Acetileno	10-15

2. Abrir las llaves de gas de aire, acetileno y nitrógeno, que se encuentran en el laboratorio de analítica.
3. Colocar la chimenea, el generador de hidruros módulo VGA-77, la celda de cuarzo y la ventana de la flama.
4. El módulo VGA-77 se monta en las ranuras del instrumento EAA.
5. Conectar la manguera de drenaje de desechos en la parte inferior del módulo VGA-77 y se termina de conectar esta manguera en un frasco de desechos.



6. Colocar los tubos capilares de A-ácido, R-reductor y M-muestra en el la bomba peristáltica del generador de Hidruros, para controlar el flujo.
7. Los tubos capilares tienen una marca la cual indica que esa punta se conecta arriba y la otra punta hacia abajo, apoyándose en el soporte de retención.
8. Ajustar los tubos capilares con el controlador de flujo y oprimiendo la barra de presión.
9. Este módulo trae un cable independiente y se debe conectar al módulo VGA-77 y a la corriente eléctrica.
7. Alinear la ranura del quemador paralelamente con el haz de luz, utilizando una tarjeta marcada con una línea perpendicular a la ranura del quemador.
8. En la ventana se muestra el controlador de la altura del quemador, un controlador manual se localiza a un lado de la cámara de atomizado y otro controlador es para mover el quemador adentro/afuera.
9. El quemador cuenta con una palanca con la cual puede girar el mismo.
10. Conectar la trampa en la celda de cuarzo.
11. Montar la celda de cuarzo en un soporte metálico especial.
12. Colocar la ventana de flama.
13. Encender el equipo del botón de encendido y apagado del instrumento.
14. Estabilizar el flujo en el Generador de Hidruros con agua desionizada y registrar el flujo real en la siguiente tabla.



15. Encender el Generador VGA-77.

Tabla 36. Flujos requeridos para trabajar en el VGA.

Liquido	Flujo requerido mL/min
M – muestra	7 – 8
A – ácido	1
R – reductor	1

16. Al medir el flujo, colocar los capilares en las soluciones correspondientes, solo el de la muestra se coloca en agua hasta estabilizar el equipo.

17. Encender la computadora.

18. Acceso directo a SpectrAA

✚ Clíc en el Ícono Worksheet; para editar el método.

✚ Clíc en New; para crear un nuevo método.

- Nombre del análisis: \_\_\_\_\_.
- Nombre del analista: \_\_\_\_\_.
- Número de muestras por analizar: \_\_\_\_\_ ok

✚ Ventana 2. Clíc en Develop

- Add methods

Element: \_\_\_\_\_ Se \_\_\_\_\_.

Matrix: \_\_\_\_\_ HCl \_\_\_\_\_.

Method type:  vapor ok

✚ Ventana 2. Clíc en Edit Methods

- Type/Mode



- Element: Se.
- Matrix: HCl.
- Units: µg / L.
- Sampling Mode: \* manual
- Flame type: aire/acetylene.
- Air flow: 13.5.
- Acetylene flow: 2.0.
- Measurement
  - Measurement Mode: \* Integration
  - Calibration Mode: \* Concentration
  - Replicates: standard 3 y sample 3.
- Optical
  - Lamp position: \_\_\_\_\_.
- Standards
  - Concentration:
    - 1
    - 5
    - 9
    - 13
    - 17

ok

✚ Clíc en Instrument: Para hacer el análisis

- Optimize: Estabilizar 10-15 min hasta tener la línea verde.
- Verificar con la tarjeta marcada el haz de luz.
- Poner 6.1 mm de altura del haz de luz en la ventana.



- En la ventana se muestra el controlador de la altura del quemador con una línea verde y un valor que debe ser mayor de 1.
- Rescale: para disminuir el voltaje, mover los tronillos de la lámpara hasta lo más que suba la línea verde.
- Rescale: para ajustar la señal y anotar el voltaje sin celda

Voltaje sin celda:\_\_\_\_\_.

19. Cambiar el agua por HCl y colocar los 3 capilares en el HCl.

20. Tapar de arriba el separador gas-líquido con papel, para que avance, hasta que no haya 2 fases y se muestre homogéneo el sistema.

21. Colocar los capilares en las soluciones correspondientes: R-reductor en Borohidruro de sodio, A-ácido en HCl y M-muestra en agua.

22. Cuando el sistema esté homogéneo y no haya efervescencia en el separador gas-líquido, indica que el sistema se ha estabilizado.

23. Colocar la celda de cuarzo con la trampa y cerrar la ventana de flama.

- Verificar en la barra verde que la señal de un valor arriba de 6.0
- Rescale: para que aumente el valor a 0.9 y anotar el voltaje con celda.

Voltaje con celda:\_\_\_\_\_.

24. Encender el generador de hidruros.



25. Mover la celda sujetándola de su soporte, hasta que quede libre la ranura del quemador (aprox. 45° de inclinación).
26. Encender la flama con el botón rojo de Ignición.
27. Colocar lentamente la celda en su lugar y encender la campana.
  - Optimize Signal: la barra mostrará la señal de absorbancia detectada por el instrumento. La señal debe ser aprox. 0.0
  - Ints zero: que ajusta la señal a cero de absorbancia, debe de dar 0.00
28. A optimizar la señal, colocar la concentración media (estándar 3) de la curva de calibración y leer, si da la absorbancia esperada o una línea azul, indica que sí lee al Se.
29. Quitar el estándar 3 y colocar el capilar de la muestra en HCl.
30. Observar hasta que la señal esté en ceros.
  - Ok y cerramos la ventana.
31. Una vez editadas las condiciones del método, la secuencia y la optimización del instrumento, queda listo todo para comenzar el análisis.
  - Seleccionamos las celdas que utilizaremos y Start.
32. Leer la curva de calibración, colocando el capilar de la muestra en los sistemas.
33. Anotar la curva de calibración aceptada por el equipo.
34. Una vez aceptada la curva de calibración, leer cada una de las muestras y anotar los resultados.
35. Terminadas las lecturas de las muestras de paquete eritrocitario.



36. Apagar la campana.

- Complete
- ok.

37. Colocar los tres capilares en HCl 15 minutos y posteriormente en agua otros 15 minutos.

38. Apagar y desmontar el equipo.

39. Guardar las lecturas obtenidas, Cerrar el programa SpectrAA y Apagar la computadora.

40. Cerrar las llaves de paso de las líneas de los gases y los tanques.



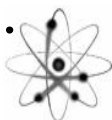
## ANEXO 6

## RESULTADOS OBTENIDOS DE LA EVALUACIÓN DEL GRANULADO

Tabla 37. Evaluación del granulado.

Característica	Estadística	Lote 2.16 kg	Lote de 3.9 Kg
Vel fluj Din (g/s)	Media	14,9	14,9
	CV (%)	1,3	2,4
Vel Flujo. Est (g/s)	Media	7,8	8,8
	CV	1,4	2,0
Angulo Rep (grados)	Media	44,3	45,0
	CV	1,1	1,9
Humedad (%)	Media	0,1	0,0
	CV	86,6	0,0
Dens Aparente (g/ml)	Media	1,2	1,1
	CV	1,2	1,3
Dens. Compactada (g/ml)	Media	1,3	1,3
	CV	1,0	1,4
Índice de Carr (%)	Media	11,5	12,0
	CV	0,0	0,0
Índice de Haussner	Media	1,1	1,1
	CV	0,0	0,0
Tamaño de partícula (micrones)	Media	721,4	661,4
	CV	0,2	0,6



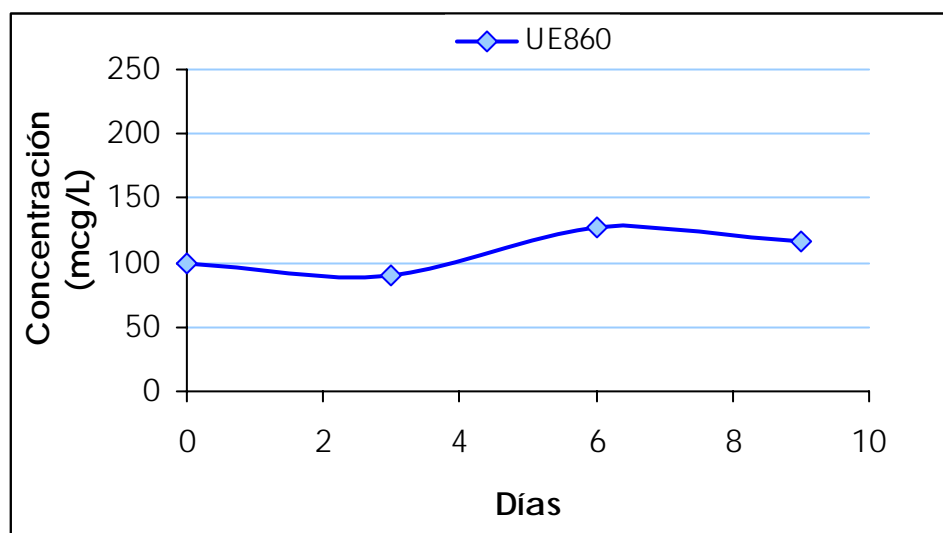


## ANEXO 7

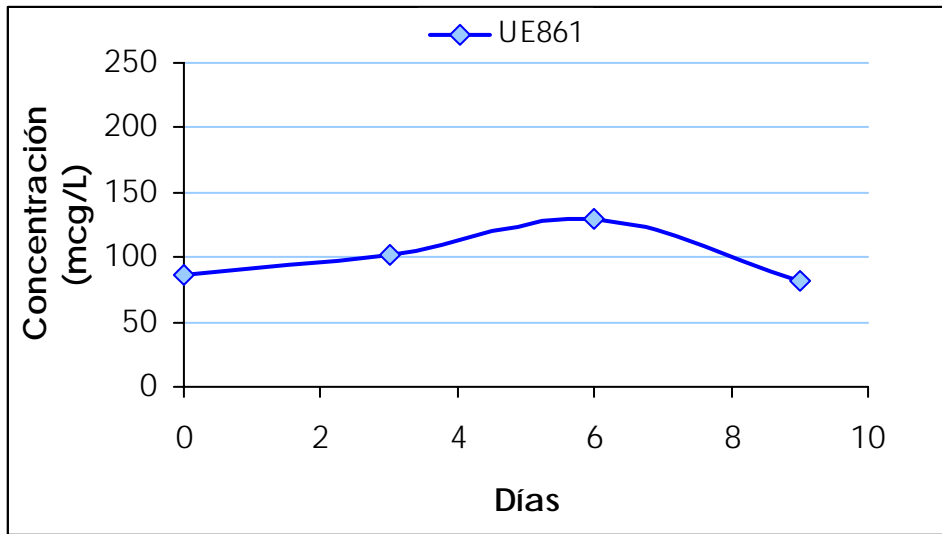
CONCENTRACIONES DE SELENIO ENDOGENO DE CADA UNIDAD  
EXPERIMENTAL

Tabla 38. Evolución de las concentraciones de selenio endógeno.

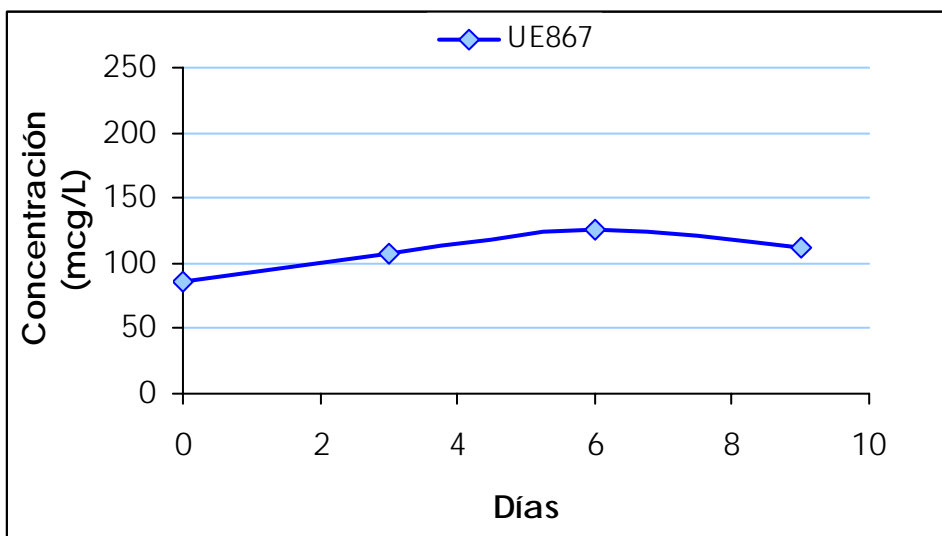
Fecha	Día	Concentración (mcg/L)				
		860	861	867	870	142
170106	0	100,0	86,9	85,7	151,0	110,2
200106	3	90,2	101,8	106,7	125,0	86,0
230106	6	126,7	129,2	125,5	219,0	234,2
260106	9	116,7	81,4	112,1	181,3	84,3



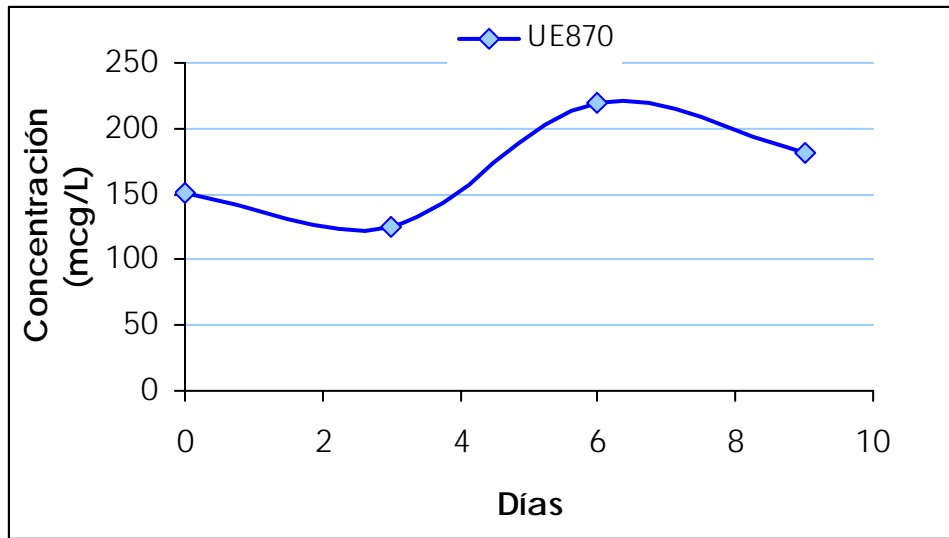
Gráfica 14. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 860 en función del tiempo.



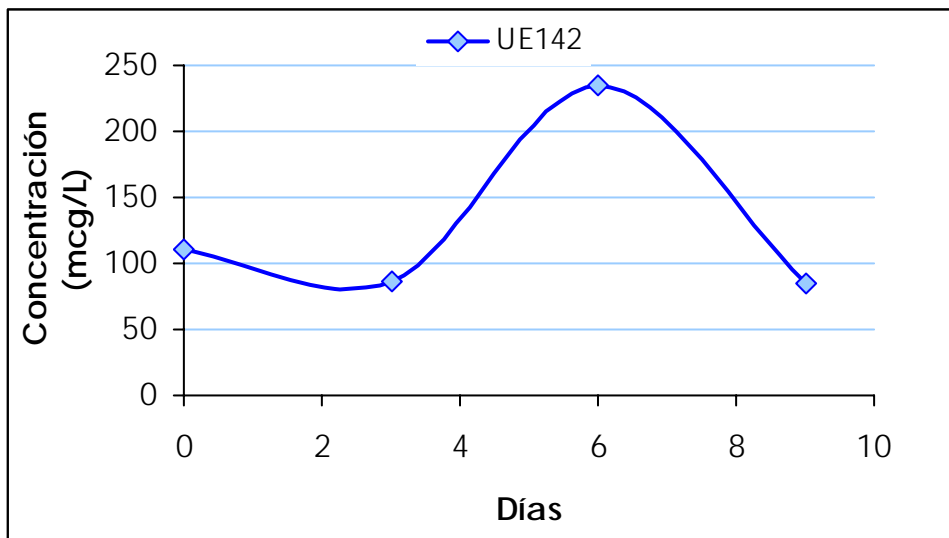
Gráfica 15. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 861 en función del tiempo.



Gráfica 16. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 867 en función del tiempo.



Gráfica 17. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 870 en función del tiempo.

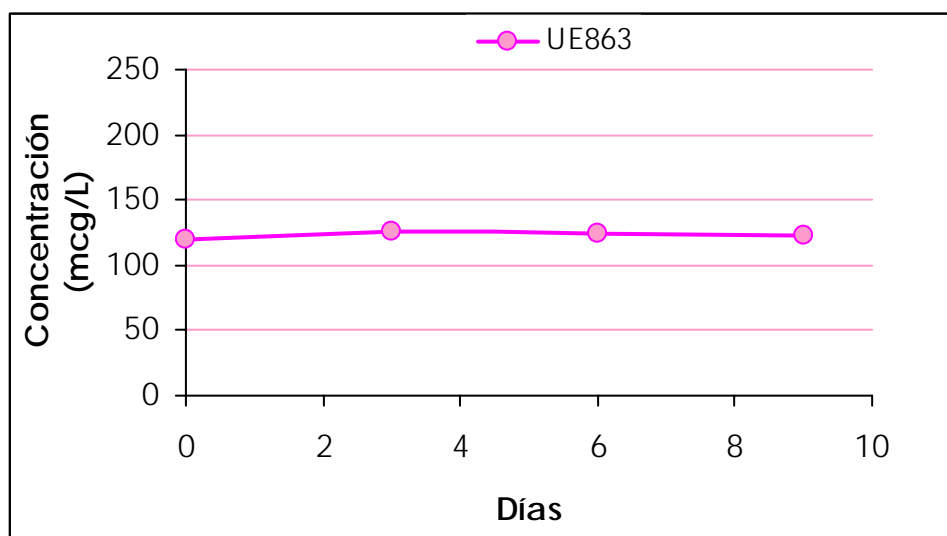


Gráfica 18. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 142 en función del tiempo.

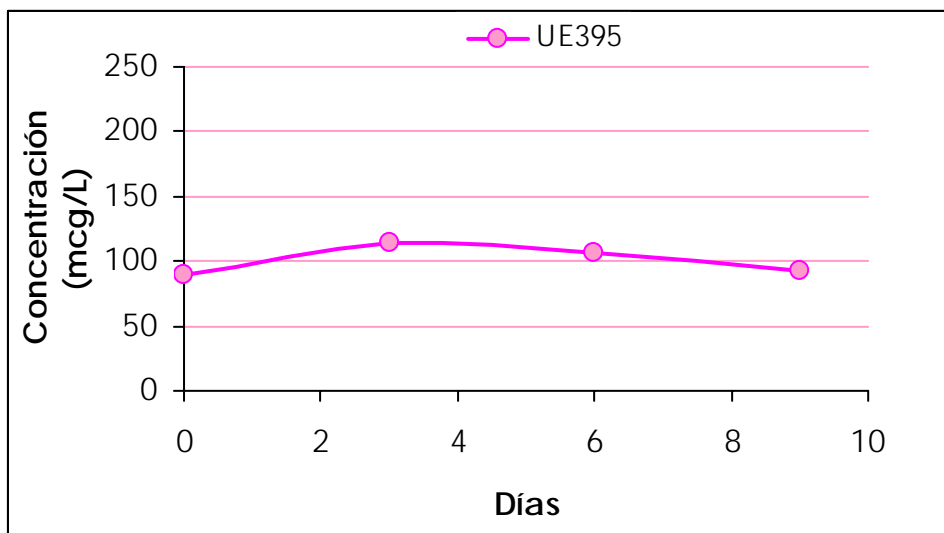


Tabla 39. Evolución de las concentraciones de selenio endógeno.

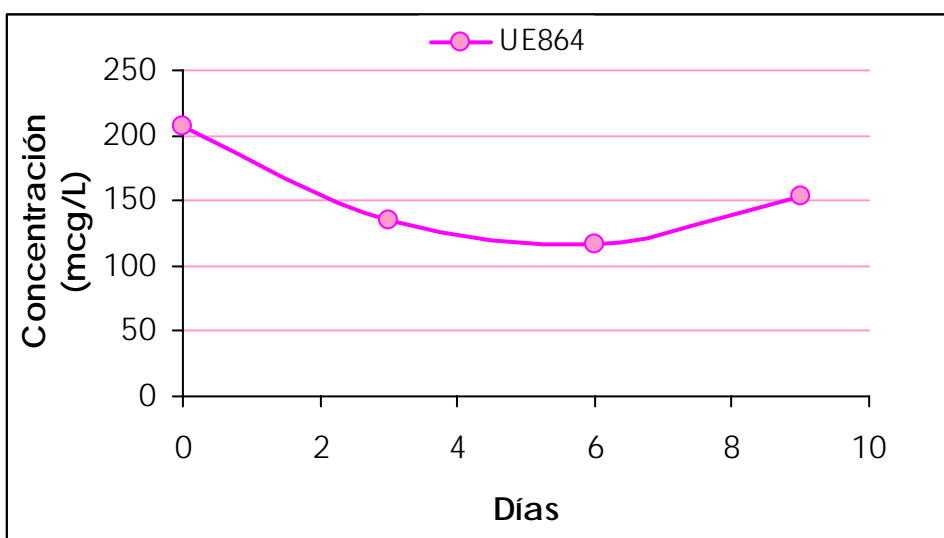
Fecha	Día	Concentración (mcg/L)				
		863	395	864	876	142
170106	0	120,0	89,0	206,5	160,1	100,8
200106	3	126,3	114,5	134,2	139,7	112,8
230106	6	123,6	106,9	116,1	143,5	152,1
260106	9	122,0	92,5	153,7	112,7	110,8



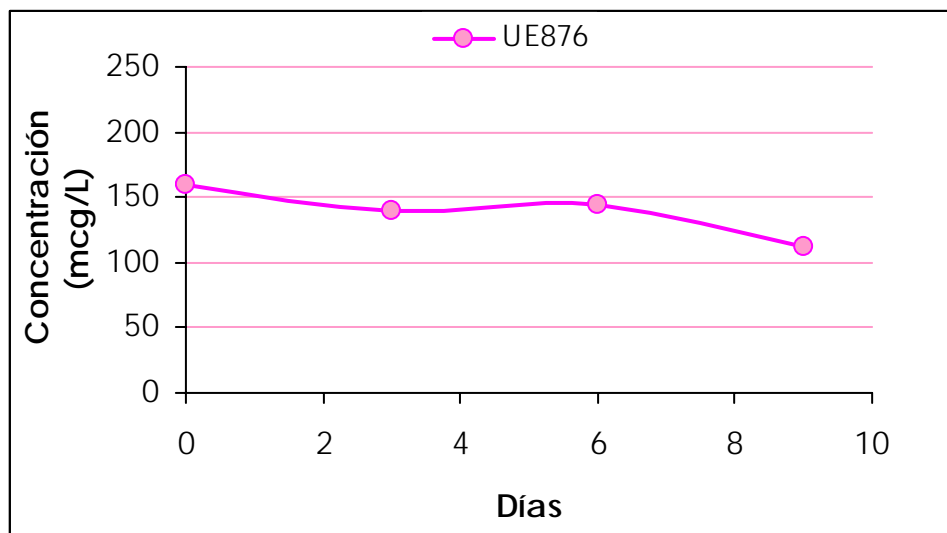
Gráfica 19. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 863 en función del tiempo.



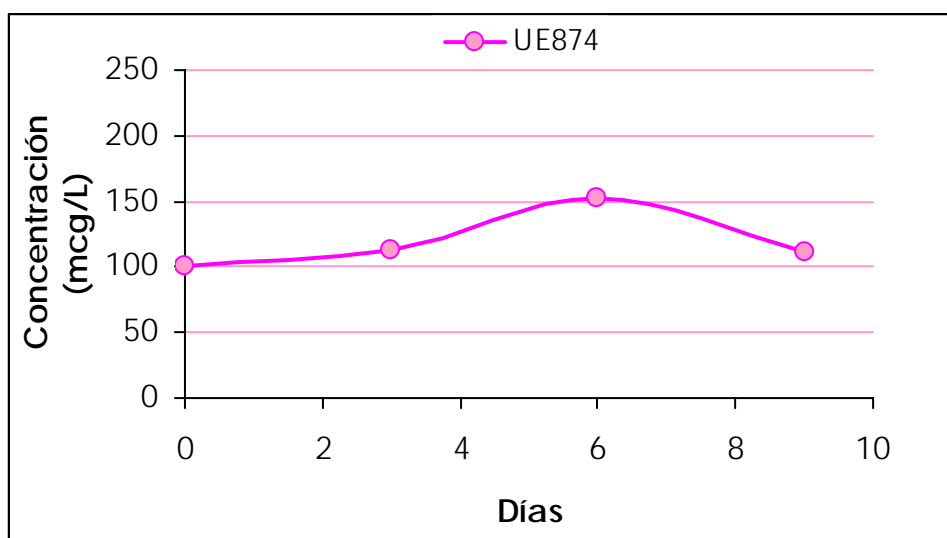
Gráfica 20. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 395 en función del tiempo.



Gráfica 21. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 864 en función del tiempo.



Gráfica 22. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 876 en función del tiempo.



Gráfica 23. Niveles de selenio endógeno de la Unidad Experimental 874 en función del tiempo.

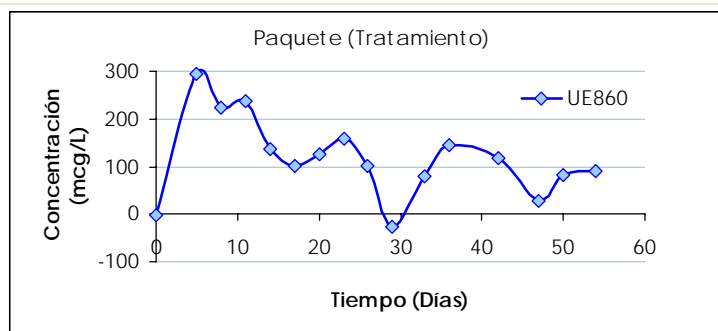


## ANEXO 8

## CONCENTRACIONES DE SELENIO DE CADA UNIDAD EXPERIMENTAL

Tabla 40. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 860 durante la experimentación.

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Tratamiento	860	0,534	0,0604	2,2	105,8	108,4	-2,6
5	Tratamiento	860	0,5341	0,1845	8,5	402,0	108,4	293,6
8	Tratamiento	860	0,5145	0,1532	6,8	332,8	108,4	224,3
11	Tratamiento	860	0,5318	0,1619	7,3	344,5	108,4	236,1
14	Tratamiento	860	0,5023	0,1173	4,9	245,8	108,4	137,4
17	Tratamiento	860	0,5075	0,1037	4,2	209,3	108,4	100,9
20	Tratamiento	860	0,5067	0,1139	4,7	234,8	108,4	126,3
23	Tratamiento	860	0,5076	0,1264	5,4	266,4	108,4	157,9
26	Tratamiento	860	0,507	0,1039	4,2	210,0	108,4	101,6
29	Tratamiento	860	0,5016	0,031	1,6	82,2	108,4	-26,2
33	Tratamiento	860	0,5136	0,0754	3,8	188,3	108,4	79,9
36	Tratamiento	860	0,5017	0,0949	5,1	254,1	108,4	145,6
42	Tratamiento	860	0,5135	0,0879	4,6	225,4	108,4	116,9
47	Tratamiento	860	0,5055	0,0496	2,7	137,4	108,4	29,0
50	Tratamiento	860	0,5197	0,0729	3,9	191,9	108,4	83,4
54	Tratamiento	860	0,5087	0,0737	4,0	198,0	108,4	89,5

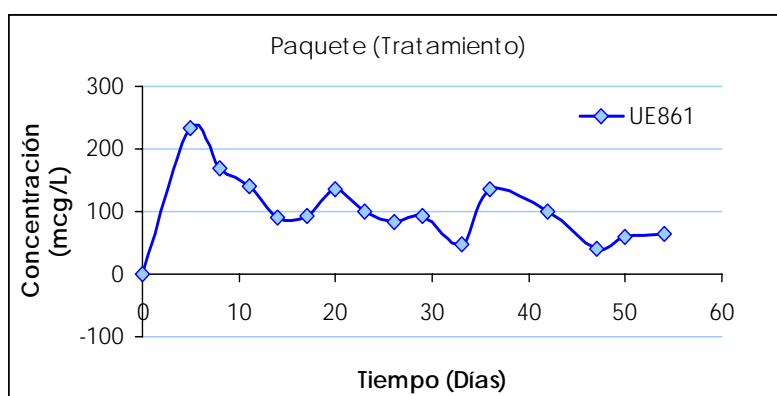


Gráfica 24. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 860 en función del tiempo.



Tabla 41. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 861 durante la experimentación.

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Tratamiento	861	0,5083	0,0551	2,0	99,8	99,8	-0,0
5	Tratamiento	861	0,5085	0,1521	6,7	333,8	99,8	233,9
8	Tratamiento	861	0,5308	0,1318	5,7	268,4	99,8	168,6
11	Tratamiento	861	0,5142	0,1177	4,9	241,1	99,8	141,2
14	Tratamiento	861	0,5039	0,095	3,8	190,0	99,8	90,1
17	Tratamiento	861	0,5174	0,0981	3,9	192,3	99,8	92,4
20	Tratamiento	861	0,5173	0,1162	4,8	235,8	99,8	135,9
23	Tratamiento	861	0,513	0,1002	4,0	198,8	99,8	98,9
26	Tratamiento	861	0,5022	0,0917	3,6	182,7	99,8	82,8
29	Tratamiento	861	0,5005	0,0751	3,8	192,8	99,8	92,9
33	Tratamiento	861	0,5072	0,0574	2,9	146,8	99,8	47,0
36	Tratamiento	861	0,506	0,0902	4,7	235,6	99,8	135,8
42	Tratamiento	861	0,5109	0,0793	4,1	200,6	99,8	100,7
47	Tratamiento	861	0,5248	0,0524	2,9	139,5	99,8	39,7
50	Tratamiento	861	0,5351	0,0613	3,4	158,8	99,8	58,9
54	Tratamiento	861	0,5137	0,0608	3,3	164,0	99,8	64,1



Gráfica 25. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 861 en función del tiempo.



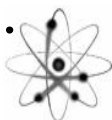
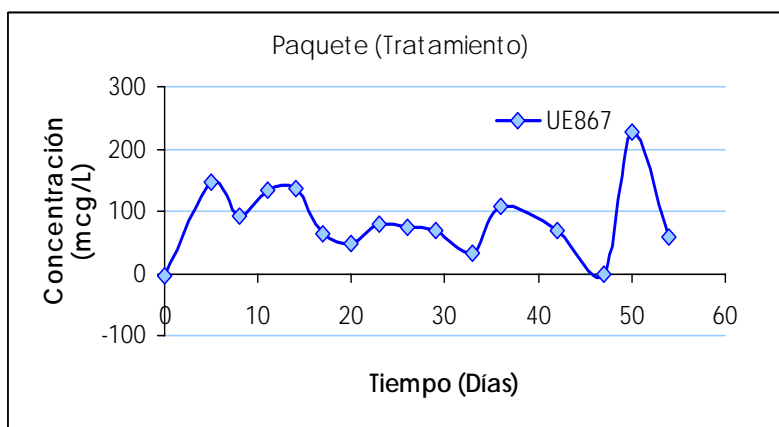


Tabla 42. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 867 durante la experimentación.

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Tratamiento	867	0,5445	0,06	2,2	102,8	107,5	-4,7
5	Tratamiento	867	0,5033	0,1211	5,1	255,3	107,5	147,7
8	Tratamiento	867	0,5218	0,1015	4,1	198,8	107,5	91,2
11	Tratamiento	867	0,5055	0,1166	4,9	242,3	107,5	134,7
14	Tratamiento	867	0,5069	0,1172	4,9	243,6	107,5	136,0
17	Tratamiento	867	0,523	0,0899	3,5	171,1	107,5	63,5
20	Tratamiento	867	0,5106	0,0816	3,1	156,1	107,5	48,6
23	Tratamiento	867	0,5085	0,0942	3,7	186,3	107,5	78,7
26	Tratamiento	867	0,507	0,0922	3,6	181,9	107,5	74,3
29	Tratamiento	867	0,505	0,069	3,5	176,2	107,5	68,6
33	Tratamiento	867	0,5023	0,0534	2,7	138,8	107,5	31,3
36	Tratamiento	867	0,523	0,0863	4,5	216,5	107,5	108,9
42	Tratamiento	867	0,5225	0,0719	3,6	175,1	107,5	67,5
47	Tratamiento	867	0,5105	0,0382	2,1	106,2	107,5	-1,2
50	Tratamiento	867	0,5033	0,1282	6,7	333,8	107,5	226,2
54	Tratamiento	867	0,5135	0,0614	3,4	165,5	107,5	57,9

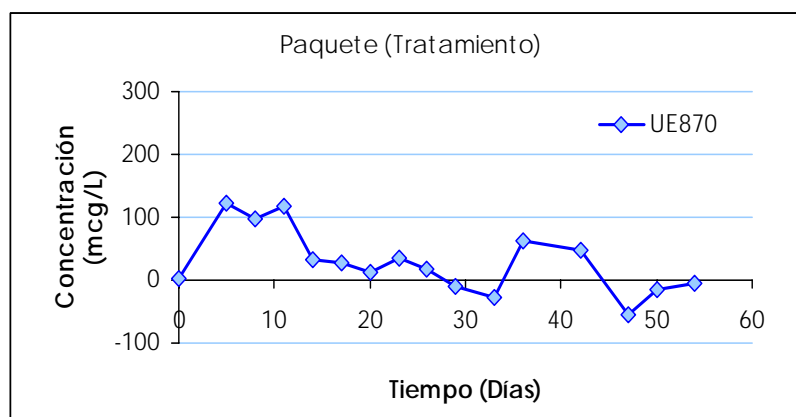


Gráfica 26. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 867 en función del tiempo.



**Tabla 43. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 870 durante la experimentación.**

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Tratamiento	870	0,5035	0,0875	3,4	172,2	169,1	3,1
5	Tratamiento	870	0,5026	0,1352	5,8	292,4	169,1	123,3
8	Tratamiento	870	0,5113	0,1272	5,4	266,4	169,1	97,3
11	Tratamiento	870	0,5023	0,1326	5,7	285,6	169,1	116,5
14	Tratamiento	870	0,5173	0,1024	4,1	202,4	169,1	33,3
17	Tratamiento	870	0,514	0,099	4,0	195,5	169,1	26,4
20	Tratamiento	870	0,509	0,0925	3,7	182,2	169,1	13,1
23	Tratamiento	870	0,5015	0,1002	4,0	203,3	169,1	34,2
26	Tratamiento	870	0,5058	0,094	3,7	186,8	169,1	17,7
29	Tratamiento	870	0,5018	0,0618	3,2	159,4	169,1	-9,6
33	Tratamiento	870	0,5166	0,0562	2,9	141,3	169,1	-27,8
36	Tratamiento	870	0,5261	0,092	4,8	231,9	169,1	62,7
42	Tratamiento	870	0,5083	0,0839	4,3	215,4	169,1	46,3
47	Tratamiento	870	0,5153	0,0415	2,3	114,0	169,1	-55,1
50	Tratamiento	870	0,5068	0,0562	3,1	154,4	169,1	-14,7
54	Tratamiento	870	0,5042	0,06	3,3	165,1	169,1	-4,0

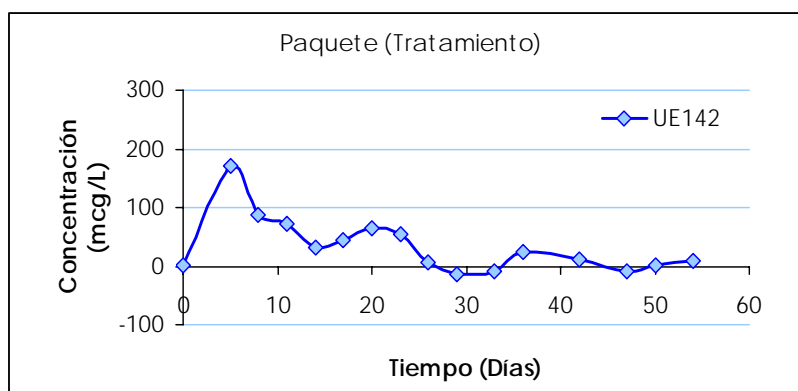


**Gráfica 27. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 870 en función del tiempo.**



Tabla 44. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 142 durante la experimentación.

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Tratamiento	142	0,502	0,0681	2,5	128,9	128,7	0,2
5	Tratamiento	142	0,5083	0,1395	6,1	300,0	128,7	171,3
8	Tratamiento	142	0,5057	0,106	4,3	216,0	128,7	87,3
11	Tratamiento	142	0,5052	0,1	4,0	201,4	128,7	72,7
14	Tratamiento	142	0,5022	0,0818	3,2	159,3	128,7	30,5
17	Tratamiento	142	0,5137	0,0896	3,5	173,7	128,7	45,0
20	Tratamiento	142	0,5032	0,0961	3,8	192,7	128,7	64,0
23	Tratamiento	142	0,5185	0,0945	3,8	183,2	128,7	54,5
26	Tratamiento	142	0,5234	0,0735	2,8	135,1	128,7	6,4
29	Tratamiento	142	0,5114	0,0448	2,3	115,6	128,7	-13,1
33	Tratamiento	142	0,5113	0,0466	2,4	119,3	128,7	-9,4
36	Tratamiento	142	0,5039	0,0623	3,1	153,8	128,7	25,0
42	Tratamiento	142	0,5144	0,0586	2,8	139,9	128,7	11,2
47	Tratamiento	142	0,5006	0,0428	2,4	120,8	128,7	-7,8
50	Tratamiento	142	0,538	0,0494	2,7	128,7	128,7	0,0
54	Tratamiento	142	0,5142	0,0504	2,8	137,1	128,7	8,4

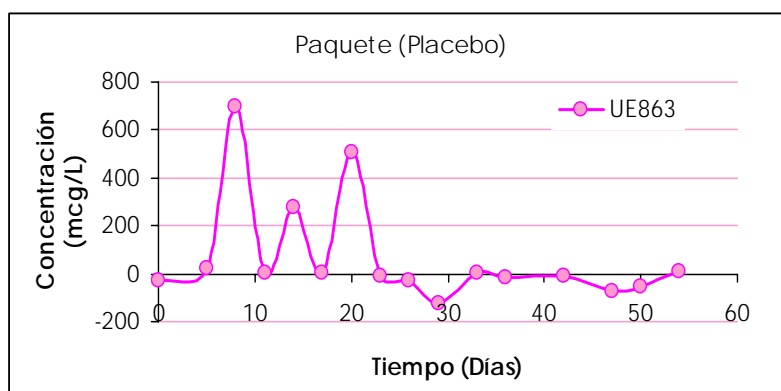


Gráfica 28. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 142 en función del tiempo.



**Tabla 45. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 863 durante la experimentación.**

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Placebo	863	0,5348	0,056	2,0	96,7	125,0	-28,2
5	Placebo	863	0,5254	0,079	3,0	146,5	125,0	21,54
8	Placebo	863	0,5049	0,3897	16,6	823,4	125,0	698,4
11	Placebo	863	0,5053	0,067	2,5	125,6	125,0	0,6
14	Placebo	863	0,5154	0,1786	8,2	400,6	125,0	275,6
17	Placebo	863	0,5128	0,0699	2,6	130,1	125,0	5,1
20	Placebo	863	0,5053	0,2641	12,7	632,7	125,0	507,7
23	Placebo	863	0,515	0,0641	2,4	116,9	125,0	-8,0
26	Placebo	863	0,5135	0,0554	2,0	99,3	125,0	-25,7
29	Placebo	863	0,5029	0,4921	over	-	125,0	-125,0
33	Placebo	863	0,5064	0,051	2,6	131,3	125,0	6,3
36	Placebo	863	0,511	0,0469	2,2	109,5	125,0	-15,4
42	Placebo	863	0,5069	0,0492	2,3	116,3	125,0	-8,6
47	Placebo	863	0,5014	0,0189	1,1	54,8	125,0	-70,1
50	Placebo	863	0,5288	0,0259	1,5	70,9	125,0	-54,1
54	Placebo	863	0,5049	0,0493	2,7	136,6	125,0	11,6



**Gráfica 29. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 863 en función del tiempo.**

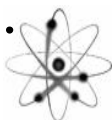
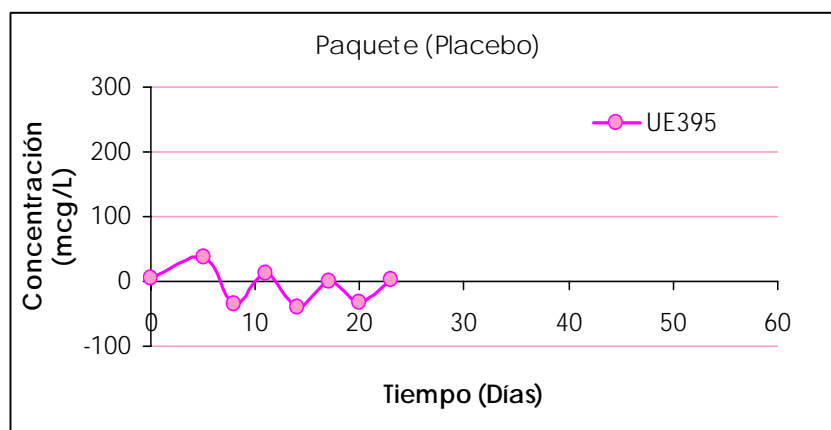


Tabla 46. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 395 durante la experimentación.

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Placebo	395	0,5258	0,0595	2,2	105,5	100,7	4,8
5	Placebo	395	0,5128	0,0742	2,8	139,4	100,7	38,6
8	Placebo	395	0,504	0,0372	1,3	64,9	100,7	-35,7
11	Placebo	395	0,5073	0,062	2,3	114,3	100,7	13,5
14	Placebo	395	0,5045	0,0357	1,2	61,9	100,7	-38,8
17	Placebo	395	0,5129	0,0557	2,0	99,9	100,7	-0,8
20	Placebo	395	0,5085	0,0392	1,3	68,3	100,7	-32,4
23	Placebo	395	0,5103	0,057	2,1	103,3	100,7	2,6
26	Placebo	395	-	-	-	-	-	-
29	Placebo	395	-	-	-	-	-	-
33	Placebo	395	-	-	-	-	-	-
36	Placebo	395	-	-	-	-	-	-
42	Placebo	395	-	-	-	-	-	-

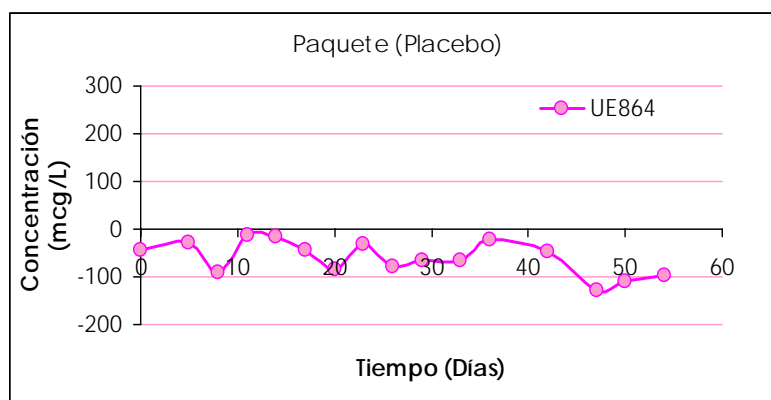


Gráfica 30. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 395 en función del tiempo.



Tabla 47. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 864 durante la experimentación.

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Placebo	864	0,5274	0,0619	2,3	109,9	152,6	-42,6
5	Placebo	864	0,5082	0,0667	2,5	124,4	152,6	-28,2
8	Placebo	864	0,5154	0,0366	1,2	62,5	152,6	-90,0
11	Placebo	864	0,5098	0,0737	2,8	139,2	152,6	-13,3
14	Placebo	864	0,5184	0,074	2,8	137,4	152,6	-15,2
17	Placebo	864	0,5141	0,0596	2,2	107,9	152,6	-44,7
20	Placebo	864	0,5008	0,0382	1,3	67,3	152,6	-85,2
23	Placebo	864	0,5253	0,0668	2,5	120,4	152,6	-32,2
26	Placebo	864	0,5157	0,0431	1,5	74,6	152,6	-78,0
29	Placebo	864	0,5053	0,0327	1,7	85,5	152,6	-67,0
33	Placebo	864	0,5134	0,0342	1,8	88,1	152,6	-64,5
36	Placebo	864	0,528	0,0562	2,7	130,2	152,6	-22,4
42	Placebo	864	0,527	0,0468	2,2	106,2	152,6	-46,4
47	Placebo	864	0,5186	0,0086	0,5	24,5	152,6	-128,0
50	Placebo	864	0,506	0,015	0,8	43,4	152,6	-109,1
54	Placebo	864	0,5047	0,0193	1,1	55,4	152,6	-97,1

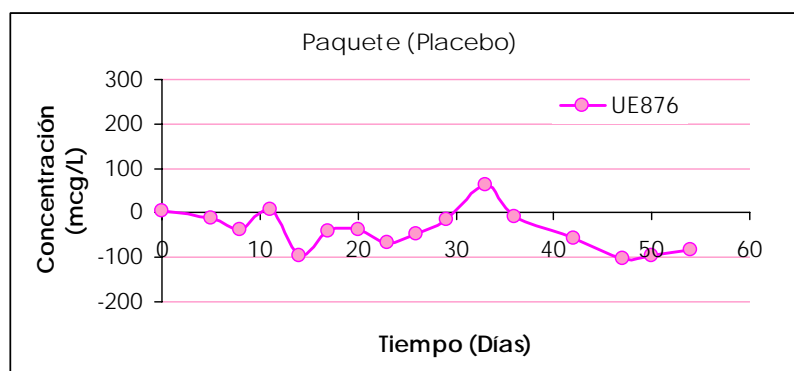


Gráfica 31. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 864 en función del tiempo.



Tabla 48. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 876 durante la experimentación.

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Placebo	876	0,5114	0,0764	2,9	144,7	139,0	5,6
5	Placebo	876	0,5344	0,0707	2,7	126,3	139,0	-12,7
8	Placebo	876	0,5158	0,056	2,0	100,3	139,0	-38,7
11	Placebo	876	0,5102	0,0766	2,9	145,5	139,0	6,5
14	Placebo	876	0,5145	0,0265	0,9	44,2	139,0	-94,8
17	Placebo	876	0,5178	0,0556	2,0	98,9	139,0	-40,0
20	Placebo	876	0,5007	0,0543	2	99,8	139,0	-39,1
23	Placebo	876	0,5107	0,0409	1,4	71,4	139,0	-67,5
26	Placebo	876	0,5103	0,0505	1,8	90,1	139,0	-48,8
29	Placebo	876	0,518	0,0498	2,6	125,4	139,0	-13,5
33	Placebo	876	0,512	0,0812	4,1	202,6	139,0	63,6
36	Placebo	876	0,5059	0,0542	2,6	130,4	139,0	-8,5
42	Placebo	876	0,5112	0,0357	1,6	81,1	139,0	-57,8
47	Placebo	876	0,503	0,0127	0,7	37,2	139,0	-101,7
50	Placebo	876	0,5216	0,0151	0,8	42,1	139,0	-96,8
54	Placebo	876	0,5101	0,0197	1,1	56,3	139,0	-82,6

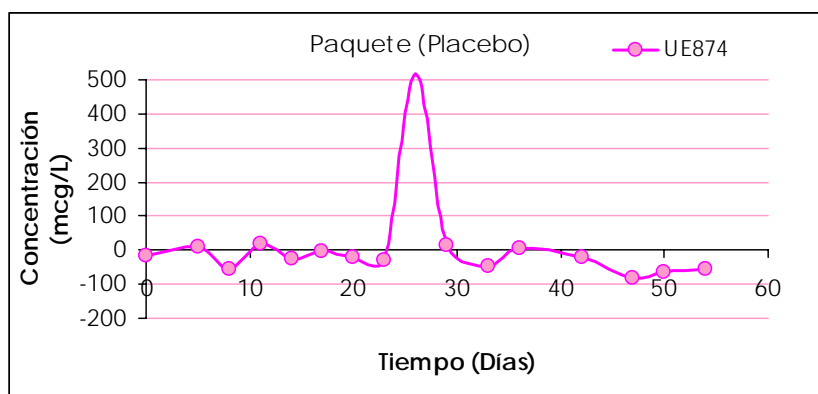


Gráfica 32. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 876 en función del tiempo.



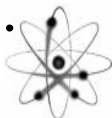
**Tabla 49. Evolución de las concentraciones de Selenio de la unidad experimental 874 durante la experimentación.**

Día	Grupo	ID	Muestra (g)	Abs	Conc instr	mcg/L Se Muestra	mcg/L Se basal	mcg/L Se animal*
0	Placebo	874	0,5231	0,0584	2,1	103,7	121,9	-18,2
5	Placebo	874	0,5292	0,072	2,7	130,3	121,9	8,4
8	Placebo	874	0,5174	0,0392	1,3	67,1	121,9	-54,7
11	Placebo	874	0,5148	0,0745	2,8	139,3	121,9	17,4
14	Placebo	874	0,5009	0,0532	1,9	97,3	121,9	-24,6
17	Placebo	874	0,5015	0,0642	2,4	120,6	121,9	-1,3
20	Placebo	874	0,5079	0,0552	2,0	99,9	121,9	-22,0
23	Placebo	874	0,5103	0,0508	1,8	90,6	121,9	-31,3
26	Placebo	874	0,5149	0,2716	13,1	637,5	121,9	515,5
29	Placebo	874	0,5021	0,0524	2,7	135,9	121,9	13,9
33	Placebo	874	0,5038	0,0282	1,5	74,4	121,9	-47,5
36	Placebo	874	0,5001	0,0532	2,5	129,4	121,9	7,5
42	Placebo	874	0,5093	0,0443	2,1	103,0	121,9	-18,8
47	Placebo	874	0,5218	0,0139	0,8	38,8	121,9	-83,1
50	Placebo	874	0,5302	0,0203	1,1	55,6	121,9	-66,3
54	Placebo	874	0,5118	0,0239	1,3	67,4	121,9	-54,5



**Gráfica 33. Niveles de selenio de la Unidad Experimental 870 en función del tiempo.**



**ANEXO 9****RESULTADOS DEL PROGRAMA WINNONLIN ANÁLISIS NO COMPARTIMENTAL  
DEL SELENIO EN PAQUETE ERITROCITARIO**

Vaca= 860

**PROGRAMA WINNONLIN  
ANÁLISIS NO COMPARTIMENTAL**

Version 4.1 Build 200307301056

Core Version 16May2003

## Settings

Model: Plasma Data, Extravascular Administration

Number of nonmissing observations: 14

Dose time: 0.00

Dose amount: 1000.00

Weighting for lambda\_z calculation: Uniform weighting

Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation

Lambda\_z method: Find best fit for lambda\_z

## Summary Table

Time day	Conc. ng/mL	Pred. ng/mL	Residual ng/mL	AUC day*ng/mL	AUMC day*day*ng/ML	Weight
0.0000 @	0.0000			0.0000	0.0000	
5.000 *	293.6	216.2	77.39	734.1	3670.	1.000
8.000 *	224.4	200.0	24.43	1511.	8565.	1.000
11.00 *	236.1	184.9	51.20	2202.	1.515e+004	1.000
14.00 *	137.4	171.0	-33.61	2762.	2.194e+004	1.000
17.00 *	100.9	158.2	-57.25	3120.	2.739e+004	1.000
20.00 *	126.4	146.3	-19.87	3461.	3.376e+004	1.000
23.00 *	158.0	135.3	22.73	3887.	4.300e+004	1.000
26.00 *	101.6	125.1	-23.48	4276.	5.241e+004	1.000
33.00 *	79.92	104.2	-24.30	4912.	7.089e+004	1.000
36.00 *	145.7	96.38	49.30	5250.	8.271e+004	1.000
42.00 *	117.0	82.43	34.52	6038.	1.132e+005	1.000
47.00 *	29.03	72.36	-43.33	6403.	1.289e+005	1.000
50.00 *	83.48	66.92	16.56	6572.	1.372e+005	1.000
54.00 *	89.59	60.29	29.30	6918.	1.552e+005	1.000



Vaca= 861

**PROGRAMA WINNONLIN**  
**ANÁLISIS NO COMPARTMENTAL**  
Version 4.1 Build 200307301056  
Core Version 16May2003

Settings

-----  
Model: Plasma Data, Extravascular Administration  
Number of nonmissing observations: 15  
Dose time: 0.00  
Dose amount: 1000.00  
Weighting for lambda\_z calculation: Uniform weighting  
Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation  
Lambda\_z method: Find best fit for lambda\_z

Summary Table

-----

Time day	Conc. ng/mL	Pred. ng/mL	Residual ng/mL	AUC day*ng/mL	AUMC day*day*ng/mL	Weight
0.0000 @	0.0000			0.0000	0.0000	
5.000 *	234.0	158.9	75.10	584.9	2925.	1.000
8.000 *	168.6	148.4	20.18	1189.	6702.	1.000
11.00 *	141.3	138.7	2.629	1654.	1.106e+004	1.000
14.00 *	90.16	129.5	-39.38	2001.	1.528e+004	1.000
17.00 *	92.45	121.0	-28.58	2275.	1.953e+004	1.000
20.00 *	136.0	113.1	22.91	2617.	2.597e+004	1.000
23.00 *	98.97	105.6	-6.666	2970.	3.346e+004	1.000
26.00 *	82.84	98.69	-15.85	3242.	4.011e+004	1.000
29.00 *	92.95	92.20	0.7477	3506.	4.738e+004	1.000
33.00 *	47.02	84.21	-37.19	3786.	5.588e+004	1.000
36.00 *	135.8	78.67	57.14	4060.	6.554e+004	1.000
42.00 *	100.8	68.67	32.10	4770.	9.290e+004	1.000
47.00 *	39.72	61.31	-21.59	5121.	1.082e+005	1.000
50.00 *	58.99	57.28	1.711	5269.	1.154e+005	1.000
54.00 *	64.15	52.31	11.84	5516.	1.282e+005	1.000



Vaca= 867

**PROGRAMA WINNONLIN**  
**ANÁLISIS NO COMPARTMENTAL**  
Version 4.1 Build 200307301056  
Core Version 16May2003

Settings

-----

Model: Plasma Data, Extravascular Administration  
Number of nonmissing observations: 12  
Dose time: 0.00  
Dose amount: 1000.00  
Weighting for lambda\_z calculation: Uniform weighting  
Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation  
Lambda\_z method: Find best fit for lambda\_z

Summary Table

-----

Time day	Conc. ng/mL	Pred. ng/mL	Residual ng/mL	AUC day*ng/mL	AUMC day*day*ng/mL	Weight
0.0000 @	0.0000			0.0000	0.0000	
5.000	147.8		369.4	1847.		
8.000	91.27		727.9	4050.		
11.00	134.8		1067.	7369.		
14.00	136.1		1473.	1.245e+004		
17.00	63.57		1773.	1.693e+004		
20.00	48.63		1941.	2.001e+004		
23.00	78.77		2132.	2.419e+004		
26.00	74.39		2362.	2.980e+004		
29.00	68.68		2576.	3.569e+004		
36.00 *	109.0	97.17	11.81	3198.	5.640e+004	1.000
42.00 *	67.56	80.25	-12.69	3728.	7.668e+004	1.000
54.00 *	57.97	54.74	3.232	4481.	1.125e+005	1.000



Vaca= 870

**PROGRAMA WINNONLIN**  
**ANÁLISIS NO COMPARTMENTAL**  
Version 4.1 Build 200307301056  
Core Version 16May2003

Settings

-----

Model: Plasma Data, Extravascular Administration  
Number of nonmissing observations: 11  
Dose time: 0.00  
Dose amount: 1000.00  
Weighting for lambda\_z calculation: Uniform weighting  
Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation  
Lambda\_z method: Find best fit for lambda\_z

Summary Table

-----

Time day	Conc. ng/mL	Pred. ng/mL	Residual ng/mL	AUC day*ng/mL	AUMC day*day*ng/mL	Weight
0.0000	3.170		0.0000	0.0000		
5.000 *	123.4	63.12	60.24	316.3	1542.	1.000
8.000 *	97.36	58.84	38.52	647.4	3636.	1.000
11.00 *	116.6	54.84	61.73	968.3	6727.	1.000
14.00 *	33.37	51.12	-17.75	1193.	9351.	1.000
17.00 *	26.41	47.65	-21.24	1283.	1.073e+004	1.000
20.00 *	13.10	44.42	-31.32	1342.	1.179e+004	1.000
23.00 *	34.27	41.40	-7.131	1413.	1.337e+004	1.000
26.00 *	17.71	38.59	-20.88	1491.	1.524e+004	1.000
36.00 *	62.78	30.53	32.25	1894.	2.884e+004	1.000
42.00 *	46.30	26.53	19.77	2221.	4.146e+004	1.000



---

Vaca= 142

**PROGRAMA WINNONLIN**  
**ANÁLISIS NO COMPARTMENTAL**  
Version 4.1 Build 200307301056  
Core Version 16May2003

Settings

-----  
Model: Plasma Data, Extravascular Administration  
Number of nonmissing observations: 13  
Dose time: 0.00  
Dose amount: 1000.00  
Weighting for lambda\_z calculation: Uniform weighting  
Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation  
Lambda\_z method: Find best fit for lambda\_z

Summary Table

-----

Time day	Conc. ng/mL	Pred. ng/mL	Residual ng/mL	AUC day*ng/mL	AUMC day*day*ng/mL	Weight
0.0000	0.2700		0.0000	0.0000		
5.000 *	171.3	167.4	3.902	429.0	2141.	1.000
8.000 *	87.33	120.3	-32.93	816.9	4474.	1.000
11.00 *	72.70	86.38	-13.68	1057.	6722.	1.000
14.00 *	30.59	62.05	-31.46	1212.	8564.	1.000
17.00 *	45.03	44.57	0.4555	1325.	1.035e+004	1.000
20.00 *	64.06	32.02	32.04	1489.	1.342e+004	1.000
23.00 *	54.51	23.00	31.51	1667.	1.723e+004	1.000
26.00 *	6.460	16.52	-10.06	1758.	1.936e+004	1.000
36.00 *	25.09	5.485	19.61	1916.	2.472e+004	1.000
42.00 *	11.26	2.830	8.430	2025.	2.884e+004	1.000
50.00 *	0.01000	1.171	-1.161	2070.	3.074e+004	1.000
54.00 *	8.400	0.7536	7.646	2087.	3.165e+004	1.000



## ANEXO 10

## CONCENTRACIONES DE SELENIO EN SANGRE Y PLASMA

País	Muestra	Concentración de Selenio	Referencia
Nueva Zelanda	Sangre Total	X=310±31 nmol Se/L Rango 97 – 810 nmol Se/L	Knowles, Gace, Wurms, Lee (1999)
República Checa	Sangre Total	X=78.25 µg/L Rango 1.33 – 212.40	Pavlata, Pechova, Illek (2000)
República Checa	Sangre Total	69.21±11.22 µg/L 68.42±10.7 µg/L	Pavlata, Pechova, Illek (2001)
Finlandia	Sangre Total	X=191 µg/L Rango 93 – 305	Jukola, Hakkarainen, Saloniemi (1996a)
Ohio, EUA	Plasma	60 – 65 µg/L	Ivancic, Weiss (2001)
Ohio, EUA	Plasma	0.05 µg/mL	Weiss, Todhunter, Hogan (1990)
Washington, EUA	Sangre Total Plasma	Sangre: 0.146 µg/mL Plasma: 0.057 µg/mL Sangre: 0.106 µg/mL Plasma: 0.031 µg/mL	Abdelrahman, Kincaid (1995)
Washington, EUA	Suero	Adecuado: 115.3 ng/mL Excesivo: 287.2 ng/mL	Awadech, Abderahaman, Kinkaid (1996)
Finlandia	Sangre Total	183 – 244 µg/L	Jukola, Hakkarainen (1996)
EUA	Sangre Total	92.6 ng/mL	Waldrom, Ward, Overton (2004)

Nota:

1 nmol de Se = 0.079 µg Se

Si se considera una densidad de 1 g/mL entonces µg/L = ppb = ng/g

(µg/mL)(1000 mL/1L) = µg/L = ppb = ng/g