



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN CON SELENIO Y
VITAMINA E EN LA LACTATEMIA ULTERIOR AL
EJERCICIO MODERADO EN EQUINOS**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

NAZARETH DE LA CRUZ RODRÍGUEZ

ASESORES:

MVZ, MPA, Dra. Aurora Hilda Ramírez Pérez

MVZ, M en C. Dr. Elías Velázquez Cantón



Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

2017



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.

DEDICATORIAS

A mis padres Ramón de la Cruz Carrasco y Ana María Antonia Rodríguez Rodríguez. Por brindarme todo su apoyo y cariño, por lo consejos y enseñanzas, por su ejemplo, por motivarme a ser mejor persona y seguir superándome, por la confianza depositada en mí. Los amo.

A mi tía Ernestina Rodríguez Rodríguez. Por ser como una segunda madre para mí, por brindarme todo su apoyo y confianza durante todo este proceso. Te quiero mucho tía.

A mis hermanos Miriam, Ramón y Abraham. Qué puedo decir que no sepan, sinceramente no encuentro palabras para describir lo mucho que significan para mí. Los quiero y aprecio. Son los mejores hermanos del mundo, gracias por todo.

A mis primos Israel y Chapis, gracias por recibirme con los brazos abiertos y apoyarme durante todos estos años, ustedes son y serán para siempre mis primos preferidos.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, me siento muy orgulloso de ser egresado de esta gran facultad que me brindó muchos conocimientos y enseñanzas.

Al Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica por depositar su confianza en mí en los años como pasante de veterinaria, por brindarme conocimientos y experiencias.

A mis Asesores la MVZ Aurora Hilda Ramírez Pérez y el MVZ Elías Velázquez Cantón por creer en mí y brindarme su apoyo, siempre estaré muy agradecido con ustedes por darme la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo y por brindarme su amistad incondicional.

A los MVZ Humberto Máximo Troncoso Altamirano, Cuauhtémoc Nava Cuellar, Dinorah Vargas Estrada y Mariano Hernández Gil quienes fungieron como parte importante para la finalización de mi trabajo de tesis, muchas gracias.

A mis compañeros de trabajo que durante la realización de este proyecto se convirtieron en grandes amigos, la MVZ Liliana Ramírez Olivares, la MVZ Reyna Cristina A. y al MVZ Nestor Pérez, por el apoyo, los momentos divertidos que pasamos y por la unidad y compañerismo demostrados.

A la MVZ Yolanda Castañeda Nieto, por brindarme su confianza y amistad, por sus enseñanzas y por ayudarme a crecer en conocimientos y como persona, por confiar en mí en todos estos años de trabajar juntos.

A mis amigos que han estado conmigo desde que empecé esta gran aventura en la gran ciudad. Ursus, Marco, Palafox, Luis, aún recuerdo una frase que nos dijeron cuando entramos a la preparatoria que decía “durante este camino hacia la vida profesional encontrarán a muchas personas a las cuales considerarán como amigos, pero a los mejores amigos, hermanos del alma los encontrarán durante estos tres años de preparatoria” y que mejores amigos sino ustedes, arriba el Dream Team.

A todas aquellas personas que conocí durante los años transcurridos en la carrera y que se convirtieron en muy buenos amigos, Ayis, Pam, Gerard, Vero, Gina, Eva, Álvaro, checo. Son los mejores amigos que pude haber encontrado en la carrera y que sin duda seguirán siéndolo por muchísimos años, los quiero colegas.

A todos los buenos amigos que he conocido después de finalizada la carrera, Pau Luna, Zeltzin Ceja, Gaby Loga, Valeria, Jona, Manuel, Ale Cruz, Ale Gallo, por los buenos momentos compartidos, consejos y por su apoyo incondicional.

Contenido

ABREVIATURAS.....	VI
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. REVISIÓN DE LA LITERATURA	3
2.1 Actividad física y producción de lactato	3
2.2. Selenio.....	5
2.2.1. Absorción de Se.....	5
2.2.2. Transporte de Se	6
2.2.3. Excreción de Se	7
2.2.4. Requerimiento dietario de Se	8
2.3. Vitamina E	8
2.3.1. Absorción de vitamina E	9
2.3.2. Transporte de vitamina E hacia los tejidos.....	9
2.3.3. Requerimiento dietario de vitamina E	10
2.4. Radicales libres	10
2.4.1. El papel antioxidante del selenio y de la vitamina E.....	12
2.5. Lactato.....	13
2.5.1. Producción de lactato durante el ejercicio.....	14
2.5.2. Flujo del lactato en la célula muscular	17
2.5.3. Transporte de lactato en los glóbulos rojos	18
2.5.4. Eliminación de lactato	19
3. JUSTIFICACIÓN	21
4. HIPÓTESIS	22
5. OBJETIVO	23
5.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	24

6.1. Lugar de experimentación.....	24
6.2. Animales y alojamiento.....	24
6.3. Alimentación y suplementación.....	24
6.4. Ejercicio	26
6.5. Toma de muestras y pruebas sanguíneas relacionadas con la actividad física	27
6.6. Análisis estadístico.....	28
7. RESULTADOS	30
7.1 Aporte nutrimental de la dieta	30
7.2. Concentraciones sanguíneas de lactato	31
8. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	33
9. LITERATURA CITADA	39

ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AGVs	Ácidos Grasos Volátiles
ASeAE	Dieta basal + 0.3 mg/kg MS de Se + 2 UI/kg PV de Vit E.
ASeBE	Dieta basal + 0.3 mg/kg MS de Se + 1.6 UI/kg PV de Vit E.
ATP	Trifosfato de Adenosina
BS	Base Seca
BSeAE	Dieta basal + 0.1 mg/kg MS de Se + 2 UI/kg PV de Vit E.
BSeBE	Dieta basal + 0.1 mg/kg MS de Se + 1.6 UI/kg PV de Vit E.
Ca²⁺	Calcio
CAT	Catalasa
CO₂	Dióxido de Carbono
d0	Día Cero
ELN	Elementos Libres de Nitrógeno
ERN	Especies Reactivas de Nitrógeno
ERO	Especies Reactivas de Óxigeno
FAD	Dinucleotido de Flavina y Adenina
FADH	Dinucleotido de Flavina y Adenina reducido
FMVZ	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
g	Gramo
GPx	Glutación Peroxidasa
GSH	Glutation

GSSG	Disulfuro de Glutation
H₂O	Monóxido de di Hidrógeno (Agua)
H₂O₂	Peróxido de Hidrógeno
H₂Se	Seleniuro
HDL	Lipoproteína de Alta Densidad
kg	kilogramo
L	Litro
L•	Radical Lipídico
LAC	Lactato
LDL	Lipoproteína de Baja Densidad
LH	Ácido Graso Insaturado
LOOH	Hidroperóxido
MCT	Transportador de Monocarboxilato
mg	Miligramos
mMol	Mili Mol
MS	Materia Seca
N	Nitrógeno
NAD	Dinucleotido de Nicotinamida y Adenina
NADH	Dinucleotido de Nicotinamida y Adenina reducido
NRC	National Research Council
•OH	Radical Hidroxilo
O₂	Oxígeno
O₂⁻	Radical Superóxido
P_i	Fósforo Inorgánico

ppm	Parte por Millón
PV	Peso Vivo
RL	Radical Libre
Se	Selenio
Se-Cis	Seleno-Cisteína
Se-Met	Seleno-Metionina
SeO₃	Selenito
SeO₄	Selenato
SOD	Superóxido Dismutasa
TGI	Tracto Gastrointestinal
UI	Unidades Internacionales
UPMM	Unidad de Policia Metropolitana Montada
Vit E	Vitamina E
VLDL	Lipoproteína de muy Baja Densidad
w	Semana

RESUMEN

DE LA CRUZ RODRIGUEZ NAZARETH. Efecto de la complementación con selenio y vitamina E en la lactatemia ulterior al ejercicio moderado en equinos (bajo la dirección de: MVZ, MPA, Dra Aurora Hilda Ramírez Pérez y MVZ, M en C, Dr Elías Velázquez Cantón)

Este estudio evaluó el efecto de la complementación con Selenio (Se) y vitamina E (E) sobre la lactatemia en caballos que realizan ejercicio moderado. Se utilizaron veinticuatro caballos machos, de sangre caliente (9 ± 4 años; 450 ± 9.77 kg PV), que fueron asignados a un diseño experimental con arreglo factorial (2 niveles de Se \times 2 niveles de E), con mediciones repetidas en el tiempo. Los niveles de complementación fueron: Se bajo, 0.1; Se alto, 0.3 mg Se/kg MS; Vit E. baja, 1.6; Vit E. alta, 2 UI E/kg PV. El estudio duró 11 semanas con cuatro periodos (3 semanas de adaptación; 4 de ejercicio; 2 de descanso y 2 sin complementación, para la readaptación a las condiciones iniciales). Una vez por semana se obtuvo sangre yugular para la cuantificación inmediata de lactato por fotometría de reflectancia. Los resultados fueron analizados (PROC MIXED, SAS 9.1.3) con un modelo mixto para el arreglo ya descrito (efectos fijos: semana, Se, E y sus interacciones; efecto aleatorio, caballo anidado en el tratamiento). La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey-Kramer. La significancia utilizada fue de $P < 0.05$ y las tendencias de $P < 0.10$. La lactatemia fue afectada ($P < 0.001$) por la semana experimental, la diferencia más importante ($P < 0.001$) se estableció en la semana 8 (2.23 mmol/L \pm 0.12 EEM), por la actividad física. El resto del tiempo no hubo ($P > 0.05$) diferencias. Se encontró una tendencia ($P = 0.053$) para la triple interacción entre semana, Se y E. Se concluye que bajo las condiciones experimentales, los niveles de complementación con Se y vitamina E utilizados no afectaron la lactatemia en equinos que realizaron ejercicio moderado.

1. INTRODUCCIÓN

Los caballos, como el resto de los équidos que han convivido con el hombre, han cambiado sus hábitos alimenticios. Ellos evolucionaron y se adaptaron al pastoreo y ramoneo pasando de 12 a 20 horas en la selección de forrajes succulentos con alto contenido de humedad, proteínas solubles, lípidos, azúcares y carbohidratos estructurales (Julliand *et al.*, 2008). Hoy en día, aún quedan caballos que se alimentan de forma natural, como lo harían en vida libre. El hombre ha restringido el tiempo de alimentación e introducido alimentos que en vida libre no son habitualmente consumidos por los équidos, particularmente cereales, concentrados proteínicos y forrajes secos. Las consecuencias de estos cambios pueden ser a menudo perjudiciales debido a un desequilibrio de nutrimentos tales como fibra, minerales y vitaminas que generan el uso inadecuado de estos alimentos (Frape, 2010).

La diversidad de condiciones en que viven y son manejados los équidos de trabajo determina cambios y diferencias en las prácticas de manejo y en sus necesidades nutrimentales. Es necesario que los animales reciban dietas adecuadas para que puedan ejercer plenamente sus funciones de trabajo en óptimas condiciones de salud. Los caballos no deberían manejarse como animales en hato, sino de forma individual, y por lo tanto su dieta debiera ser específica, determinada por la raza, edad, clima y tipo de trabajo: ligero, moderado, pesado, intenso (Herrera, 2007). Un manejo inadecuado de nutrimentos (energía, proteína, lípidos, vitaminas y/o minerales) tiene como resultado un pobre desempeño físico en el equino. Así se han reportado problemas severos de músculo esquelético en individuos alimentados de forma incorrecta. Por el contrario, aquellos que recibieron alimentaciones con exceso de nutrimentos presentaron intoxicaciones (Hintz y Kallfelz, 1981).

2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Actividad física y producción de lactato

Dependiendo de la intensidad y duración de la actividad física que realizan los caballos, se generan moléculas como resultado del metabolismo celular; entre ellas se puede mencionar al lactato. Cuando se realiza periódicamente actividad física de larga duración y baja velocidad predomina el trabajo de las fibras musculares de contracción lenta (tipo I) (Boffi *et al.*, 2003) las cuales transforman el piruvato en acetil CoA para que éste se dirija al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (Ciclo de Krebs) y se oxide totalmente a CO₂ y agua. Pero, en condiciones con poca disponibilidad de O₂, el piruvato se reduce a lactato; este tipo de metabolismo involucra a las fibras musculares de contracción rápida (Tipo IIA y IIB) (Mathews *et al.*, 2002). La concentración de lactato en sangre es menor de 0.7 mmol/L (Henderson, 2013) y el aumento de ella después de la actividad física es el resultado de un incremento de la glucólisis anaeróbica muscular, producto de la falta de oxigenación tisular persistente durante la realización de la actividad física intensa o prolongada (Guerrero *et al.*, 2009). La acumulación de lactato en las células musculares inicia una cascada de eventos que predispone a una condición denominada fatiga, por lo que el lactato desprotonado debe ser rápidamente transportado al espacio extracelular mediante los transportadores de monocarboxilato (Pösö, 2002).

Además de fatiga también se presentan problemas asociados al agotamiento de las reservas de glucógeno, deshidratación, pérdida de electrolitos y problemas de estrés oxidativo (Marlin y Nankervis, 2002).

En este último caso, durante la realización de ejercicio agudo o crónico, de moderado a intenso y para la producción de la energía necesaria, se generan en el metabolismo de

carbohidratos, lípidos y proteínas las especies reactivas de oxígeno (ERO), de nitrógeno (ERN) y los radicales libres (RL) los cuales son capaces de causar daño al ADN, proteínas, lípidos y carbohidratos que conforman a los organelos y membranas celulares (Surai, 2006).

En contraparte a las moléculas oxidantes, y debido a que los radicales de oxígeno son generados continuamente en el metabolismo celular; todos los organismos poseen defensas antioxidantes, las cuales pueden clasificarse según su origen en antioxidantes exógenos, por ejemplo, vitaminas y carotenos, y antioxidantes endógenos, que pueden ser enzimas, como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx), y antioxidantes no enzimáticos, principalmente la vitamina E (Venereo, 2002). La función antioxidante de estas moléculas depende de la especie reactiva sobre la que actúan, dónde y cómo se genera esa especie reactiva, así como del daño que produce. Los antioxidantes pueden actuar en los diferentes procesos de la secuencia oxidativa y tener más de un mecanismo de acción (Halliwell y Chirico, 1993).

El aporte energético durante el ejercicio no deriva de una vía metabólica única, sino que se integran los metabolismos aeróbico, anaeróbico y el de los sustratos energéticos metabolizados. Aunado a esto, la realización de actividad física de moderada a intensa en altitudes elevadas requiere mayor esfuerzo, porque la disponibilidad de O₂ disminuye lo que podría conllevar a una mayor producción de lactato en animales no entrenados, lo que incrementaría sus necesidades de antioxidantes (Wickler y Anderson, 2000).

Diferentes minerales y vitaminas han demostrado su papel antioxidante, entre ellos se pueden mencionar al selenio (Se) y la vitamina E (vit E).

2.2. Selenio

El selenio (Se) es un micro nutrimento mineral esencial para la biosíntesis y el mantenimiento de una serie de proteínas y enzimas como la tiorredoxina reductasa (sistema inmune), iodotironina 5 deiodinasa (metabolismo de tiroides) y la glutatión peroxidasa (sistema antioxidante; Frape, 2004).

El selenio se encuentra en los alimentos y forrajes como seleno-metionina (Se-Met), junto con cantidades menores de seleno-cisteína (Se-Cis). Las concentraciones en los vegetales de estas formas orgánicas muestran variaciones amplias, dependientes de la especie, la parte de la planta analizada, la estación de muestreo y el contenido de Se de los suelos donde se cultivan (Underwood y Suttle, 2001).

Por otra parte, las formas inorgánicas son aquellas que no se encuentran unidas con moléculas que contienen carbono (Taylor-Pickard y Tucker, 2005). Siendo el selenato (SeO_4) y el selenito (SeO_3) las formas oxidadas más comunes (Mc Dowell, 1989) y sus sales de sodio son las utilizadas en los suplementos minerales.

2.2.1. Absorción de Se

El sitio más importante de absorción del Se es el intestino delgado (Church *et al.*, 2010), siendo el duodeno el principal y en menor medida el yeyuno, íleon (Mertz, 1986) ciego y colon (Mc Dowell, 1989).

Entre las fuentes orgánicas e inorgánicas de Se, hay diferencias en la absorción. Las formas orgánicas son absorbidas por un mecanismo de transporte activo de aminoácidos usando la misma vía de sus análogos azufrados y tienen una mayor tasa de absorción (Mc Dowell,

2003); por ejemplo, el selenio orgánico en la forma de Se-Met es metabolizado de la misma manera que la metionina (Surai, 2006).

En contraste, el Se inorgánico es absorbido como un mineral y poco es retenido en las reservas tisulares (Mc Dowell, 2003). En rumiantes y no rumiantes, el SeO_4 comparte mecanismos de absorción con el molibdato y el sulfato, lo que puede generar antagonismos con estos aniones (Underwood y Suttle, 2001). El SeO_3 es absorbido por difusión pasiva en el intestino delgado (Surai, 2006).

2.2.2. Transporte de Se

El Se absorbido es rápidamente tomado por los glóbulos rojos y después liberado al plasma donde se une a proteínas y es transportado hasta entrar a los tejidos donde es almacenado principalmente como Se-Met y Se-Cis (Church *et al.*, 2010). La mayoría del Se en el plasma está asociado con selenoproteínas como la selenoproteína P (Mertz, 1986) y a albúmina (Mc Dowell, 2003).

El selenio se encuentra en todas las células y tejidos del cuerpo en concentraciones que varían dependiendo del tejido, la cantidad y forma química del Se dietario (Mertz, 1986). Por lo general, la concentración de Se es menor que 1 ppm; así, la cantidad total de Se en el cuerpo es relativamente baja en comparación con otros minerales (Church *et al.*, 2010). El tejido con mayores concentraciones es el renal que puede contener 15 – 20 veces más que el músculo (Underwood y Suttle, 2002). Estos dos tejidos y el hígado presentan las concentraciones más altas (Church, Pond y Pond, 2010). El Se también se encuentra en huesos, sangre y en mucho menor cantidad en el tejido adiposo (Mertz, 1986).

El selenio absorbido se incorpora a proteínas de aminoácidos azufrados reemplazando a la molécula de azufre y como una de las principales formas funcionales de Se, la glutatión peroxidasa. La habilidad de los animales de convertir Se inorgánico a seleno - aminoácidos como ocurre en plantas ha sido cuestionada. Se ha sugerido que los no rumiantes no pueden sintetizar Se – Met *de novo* a partir de sales inorgánicas (Mertz, 1986).

La transformación metabólica del selenio depende de la forma química como fue administrada al organismo (Mertz, 1986). Las formas inorgánicas de selenio tales como SeO_3 y SeO_4 pueden ser reducidos a seleniuro (H_2Se) en los glóbulos rojos (SeO_3) o en los hepatocitos (SeO_4) por parte del glutatión (GSH; Suzuki, 2005).

En el caso del selenio orgánico, la Se-Met es convertida mediante la vía de la trans-selenación a Se-Cis quien a su vez se transforma a seleniuro por parte de una β -liasa. (Schrauzer, 2000). El seleniuro es el compuesto intermediario para la formación de diversas selenoproteínas. En dado caso de que el seleniuro no sea utilizado, puede ser metilado para formar dimetilseleniuro o trimetilseleniuro para su posterior excreción (Mehdi, 2013).

2.2.3. Excreción de Se

El selenio se elimina del organismo por tres vías: exhalación, excreción urinaria o excreción fecal. La proporción de cada vía está en función de la forma de administración, los niveles tisulares, el consumo, las interacciones de la dieta y la especie de que se trate (Mc Dowell, 2003).

Las pérdidas fecales representan en su mayor parte el elemento sin absorber, pero también hay una pérdida de origen biliar, pancreático e intestinal (Church *et al.*, 2010). La secreción biliar de selenio puede corresponder a un 28 % de la ingestión total; a pesar de que la

mayor parte se reabsorbe, el resto contribuye significativamente a las pérdidas endógenas fecales, que son las principales responsables de balances negativos en situación de baja ingestión de Se.

La vía urinaria es la más importante en animales no rumiantes. La cantidad de Se excretada en la orina está relacionada con el consumo en la dieta (Mc Dowell, 2003). A pesar de que la pérdida de Se por orina suele corresponder a una cantidad pequeña en relación a la pérdida fecal, éstas pueden constituir ente 40 y 50 % de la ingestión total de Se (Underwood y Suttle, 2001). La vía respiratoria es la mayor ruta de excreción de Se cuando se han consumido niveles tóxicos (Mc Dowell, 2003).

2.2.4. Requerimiento dietario de Se

El National Research Council recomienda una dosis segura de 0.1 mg/kg MS para la prevención de deficiencia en caballos que realizan actividad física ligera, pudiéndose administrar hasta 0.3 mg/kg de MS en caballos que realizan actividad física intensa (NRC, 2007). La deficiencia de Se produce una miopatía nutricional conocida como enfermedad del músculo blanco que involucra al músculo esquelético y cardiaco, afectando principalmente a potros además de enfermedad motoneural (Frape, 2004).

2.3. Vitamina E

Un grupo de compuestos con actividad similar conocidos como tocoferoles y tocotrienoles tienen actividad de vit. E de la cuales hay ocho formas en la naturaleza: cuatro tocoferoles (α , β , γ y δ) y cuatro tocotrienoles (α , β , γ y δ) (Mc Dowell, 1989), siendo el α -tocoferol la forma más activa de todas (Pilliner, 1999). Los compuestos son de naturaleza liposoluble,

lo que les permite incorporarse en las membranas celulares regenerando a los ácidos grasos insaturados oxidados (Mc Dowell, 1989).

La vitamina E es únicamente sintetizada por las plantas, teniendo niveles de 10 – 210 mg/kg MS en los forrajes frescos aunque ocurren pérdidas sustanciales con su estado fenológico, y con algunos procesos para su conservación (henificado) debido a que la estabilidad de todas las formas naturales de tocoferoles es pobre (Saastamoinen y Harris, 2008).

2.3.1. Absorción de vitamina E

La absorción de la vitamina E se da en el intestino delgado por difusión pasiva previa solubilización micelar por parte de las sales biliares y del jugo pancreático. Si la forma de vitamina E esta esterificada debe ser hidrolizada por una enzima estereasa siendo los tocoferoles y tocotrienoles en forma de alcoholes libres las principales formas absorbidas (Combs, 2008).

2.3.2. Transporte de vitamina E hacia los tejidos

Después de absorbida, la vitamina E entra a la circulación linfática, ligada a los quilomicrones difundiendo rápidamente hacia las proteínas plasmáticas. A diferencia de la vitamina A y D, la vit E parece no tener una proteína transportadora específica y es rápidamente difundida al plasma pudiendo ser transportada por lipoproteínas (VLDL, LDL y HDL), principalmente por LDL y HDL después de pasar por el hígado para poder distribuirse a los demás tejidos (Combs, 2008) encontrándose grandes cantidades de esta

vitamina en hígado, corazón, corteza adrenal, músculos y principalmente en el tejido adiposo (Saastamoinen y Harris, 2008).

2.3.3. Requerimiento dietario de vitamina E

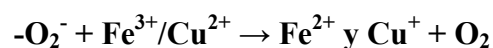
El NRC (2007) establece un requerimiento de 1.6 y 2.0 UI/kg PV cuando los caballos se someten a trabajo moderado o intenso, respectivamente. Algunos estudios (Siciliano *et al*, 1997) indican que la integridad muscular no se ve afectada en caballos que realizan ejercicio moderado con una complementación menor a 1.6 UI/kg PV (1.0 UI/kg PV).

2.4. Radicales libres

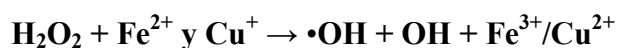
Los radicales libres (RL) son átomos o moléculas que contienen uno o más electrones desapareados y son formados como consecuencia del metabolismo normal de la célula (Huerta *et al.*, 2005).

El radical superóxido (O_2^-) es el principal RL producido en los sistemas biológicos durante el transporte de electrones en la mitocondria ya que este mecanismo consume más del 85% de todo el oxígeno usado por la célula y debido a que su eficiencia no es del 100%, cerca del 1 al 3% de los electrones escapan y la reducción univalente de la molécula de oxígeno resulta en la formación del O_2^- (Surai, 2006).

El O_2^- puede actuar como agente reductor u oxidante y es el precursor de especies reactivas de oxígeno y de otros radicales donando un electrón y reduciendo diversos metales como Fe^{3+} y Cu^{2+} .



Reaccionando después con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) para la producción del radical hidroxilo (•OH) mediante la reacción de Fenton (Vélez, 2012).

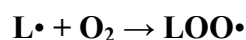


El radical hidroxilo (•OH) es la especie reactiva más dañina y puede reaccionar con cualquier molécula biológica que esté en contacto con ella aunque en la mayoría de los casos el daño producido se restringe únicamente al sitio de formación.

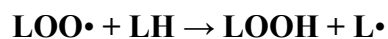
El efecto más importante de los radicales libres en el metabolismo celular es su participación en la peroxidación lipídica. El primer paso de este proceso es llamado la fase de iniciación donde un radical lipídico (L•) es producido a partir de la interacción del •OH con el hidrógeno de un ácido graso insaturado (LH; Surai, 2006).



El L• reacciona con oxígeno produciendo un radical peroxilo, el cual empieza la siguiente fase de peroxidación lipídica, llamada la fase de propagación.



El radical peroxilo puede atacar cualquier material peroxidizable disponible produciendo hidroperóxido (LOOH) y un nuevo L•



La peroxidación lipídica es una cadena de reacciones, la cuales causan daño a la membrana celular. En las membranas, el material peroxidizable son los ácidos grasos poliinsaturados. En general, es aceptado que la susceptibilidad de los ácidos grasos poliinsaturados a la peroxidación es proporcional a la cantidad de doble enlaces en las moléculas siendo el ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6, n-3) y el ácido araquidónico (AA, C20:4, n-6) los

mayores sustratos de la peroxidación de la membrana celular. Ambos ácidos grasos son responsables para el mantenimiento de las propiedades fisiológicas de la membrana incluyendo la permeabilidad (Halliwell y Chirico, 1993).

2.4.1. El papel antioxidante del selenio y de la vitamina E

Como antioxidante, el Se está relacionado principalmente con la enzima glutatión peroxidasa (GPx), que es parte del sistema antioxidante primario que protege a la célula del daño oxidativo causado por las especies reactivas al oxígeno (ERO) y de los RL (Underwood y Suttle, 2001). Éstos son altamente inestables y reactivos, capaces de causar daño al ADN, proteínas, lípidos y carbohidratos. Las especies reactivas más dañinas incluyen al O_2^- , al OH^\bullet y al H_2O_2 . La función de la GPx es reducir a los hidroperóxidos lípidos a alcohol, y detoxificar a los H_2O_2 formados durante la dismutación del O_2^- por parte de la superóxido dismutasa (SOD). En la detoxificación del H_2O_2 reacciona una molécula de H_2O_2 con dos glutationes (GSH) formando una molécula de disulfuro de glutatión (GSSG) que es inocuo para el organismo y dos moléculas de agua (H_2O) evitando de este modo el daño a las células (Surai, 2006).

La vitamina E junto con el glutatión constituyen el mayor sistema antioxidante de defensa no enzimático. La actividad antioxidante de la vitamina E radica en la donación de un átomo de hidrógeno desde su grupo fenólico hacia un L^\bullet formando un peróxido lipídico y un radical tocoferol estables. El subsecuente peróxido lipídico será degradado por la enzima GPx (NRC, 2007). El radical tocoferol estable puede ser regenerado gracias al ácido ascórbico (vitamina C) presente en la fase acuosa de la células (Saastamoinen y Harris, 2008). La deficiencia de vitamina E produce la enfermedad del músculo blanco en potros.

En caballos adultos, la deficiencia está asociada al síndrome conocido como envaramiento (tying-up), enfermedad neurodegenerativa y a mieloencefalopatías (Mc Dowell, 1989). Las formas sintéticas de vitamina E son ampliamente disponibles y es aceptado en el estándar internacional que 1.0 mg de vitamina E equivale a 1 unidad internacional (Mc Dowell, 1989).

2.5. Lactato

El lactato o ácido láctico (ambos términos son sinónimos cuando se encuentran en soluciones acuosas, como la sangre) (Boffi *et al.*, 2003) es una molécula orgánica de tres átomos de carbono formada a partir de la glucólisis anaerobia (Laguna y Piña, 2002), es de bajo peso molecular, considerado un ácido relativamente fuerte (pK_a de 3.86) y se encuentra casi en su totalidad disociado (Hartmann, 2011).

Existen dos tipos de estereoisómeros de lactato, los cuales son el D (+) y L (-) lactato. El D-lactato es producto del metabolismo de glucosa y carbohidratos realizado por algunos géneros bacterianos. Las bacterias que producen D-lactato se pueden encontrar en el tracto digestivo del equino, puede ser absorbido, llegar al hígado y de ahí a circulación periférica sin que haya ningún cambio ya que el organismo no lo puede metabolizar. En cambio el L-lactato es el que se origina del metabolismo de carbohidratos en las células de mamíferos, (Chernitzky, 2014). La producción de L-lactato ocurre principalmente en el músculo esquelético y tracto gastrointestinal (TGI) y en menor medida en el cerebro, tegumento, eritrocitos, leucocitos y plaquetas (Henderson, 2003).

2.5.1. Producción de lactato durante el ejercicio

Las células musculares requieren energía en forma de ATP para llevar a cabo la contracción muscular necesaria para las actividades deportivas y de trabajo a las que se sometan. El ATP es producido durante el metabolismo de diferentes sustratos energéticos, algunos de los cuales son utilizados casi inmediatamente tras la ingesta, mientras que otros son almacenados en el hígado, músculo y tejido adiposo para ser utilizados en otro momento (Boffi *et al.*, 2003).

La glucosa es el combustible de primera instancia para la fibra muscular. Este hidrato de carbono es introducido a la célula y puede ser almacenado como glucógeno, o ser degradado mediante la glucólisis, una vía que produce ATP de manera rápida (Pratt y Cornely, 2012).

La glucólisis es una ruta de diez pasos que tiene como rendimiento neto, dos moles de ATP, dos moles de piruvato y dos moles de agentes reductores en forma de NADH+H, por cada mol de glucosa metabolizada (Mathews *et al.*, 2002).

En situaciones de reposo y de trabajo ligero, las demandas de ATP pueden ser cubiertas mediante la oxidación de la glucosa proveniente de la circulación o del glucógeno (Pösö, 2002), en la que el piruvato producido en la glucólisis, se convierte en acetil CoA y se dirige al ciclo de Krebs y los productos reducidos (NADH+H y FADH₂) producen ATP en la cadena respiratoria mitocondrial (Guevara *et al.*, 2010). Pero, en las células aerobias que están realizando una glucólisis muy elevada durante el trabajo moderado e intenso, el NADH+H generado no puede reoxidarse en las mitocondrias en tasas equivalentes. En estos casos o/y en células anaerobias, el NADH+H debe oxidarse para impulsar la reducción del piruvato que tiene como producto final característico, el lactato (Laguna y

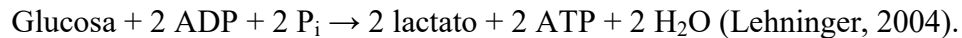
Piña, 2002). Permitiendo que la glucólisis prosiga en ausencia de oxígeno al regenerar suficiente NAD^+ (Murray *et al.*, 1999).

La conversión de piruvato a lactato es necesaria para la producción de energía cuando se presentan condiciones con baja disponibilidad de O_2 (50 – 70 % $\text{VO}_{2\text{max}}$) (Katz y Sahlin, 1988). Se pueden llegar a alcanzar niveles de lactato en sangre de hasta 25 mmol/L (Guerrero *et al.*, 2009). Esta condición se puede presentar cuando se realiza actividad física extenuante, por ejemplo una carrera de corta distancia con alta velocidad (Boffi *et al.*, 2003). En el caso de ejercicio aerobio, algunos estudios indican que hasta un 50% de la glucosa metabolizada se convierte en ácido láctico en el tejido muscular completamente oxigenado, (Mathews *et al.*, 2002). En este tipo de ejercicio la producción de ácido láctico es alta al inicio de la actividad física pero su producción disminuye al momento de utilizar diferentes sustratos para la generación de ATP presentándose valores de ácido láctico en sangre de 2 a 4 mmol/L al finalizar la actividad física (Spröhnle, 2007). Esto se debe a que cuando se gasta del 20 al 30% del glucógeno muscular se empiezan a utilizar los ácidos grasos para la producción de ATP (Trigo, 2011). El Cuadro 1 presenta los tiempos estimados en que se agotan las reservas musculares de diferentes sustratos energéticos.

Cuadro 1. Tiempos estimados de agotamiento de reservas musculares en un caballo de 500 kg a una intensidad de ejercicio moderado (60% del consumo máximo de oxígeno; tomado de Trigo, 2011)

Sustrato	Reserva (kcal)	Duración del ejercicio
Adenosín trifosfato	9.07	3.3 seg
Creatina fosfato	44.90	16.3 seg
Glucógeno	17,985.09	109 min
Triglicéridos	152,861.37	15.4 hora

La reacción neta para la formación de ácido láctico (glucosa – lactato) es:



El lactato es rápidamente dissociado; los iones hidrógeno formados disminuyen el pH de la célula muscular. El decremento en el pH es conocido como acidosis, seguido de un decremento en la capacidad aeróbica del músculo. La célula muscular puede trabajar óptimamente a un pH de 7 y su decremento puede dañar la actividad de ciertas enzimas del músculo como la fosfofructoquinasa (pH de 6) y perjudicar la función de transportar Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico hacia el citoplasma y viceversa. Por tal motivo debe de ser sacado de la célula y ser metabolizado (Marlin y Nankervis, 2002).

La enzima encargada de la reacción de oxido-reducción para la conversión de piruvato a lactato es la lactato deshidrogenasa (Lehninger, 2004), que es una proteína tetramérica con diferentes subunidades: M (Músculo estriado e hígado) y H (Músculo cardiaco) (Laguna y Piña, 2002). Si bien, la lactato deshidrogenasa está presente en todas las células musculares, la actividad de esta enzima es mayor en las fibras musculares de tipo II (Pösö, 2002) con mayor cantidad de retículo sarcoplásmico que facilita la liberación rápida de iones Ca^{2+} ; además de poseer una menor cantidad de mitocondrias e irrigación, ya que el metabolismo aerobio es menos importante (Cunningham y Klein, 2009). Dentro de la fibras musculares tipo II, la tipo IIB tiene una mayor velocidad en la producción de lactato tres veces mayor a la fibra muscular tipo IIA, aunque su actividad está limitada por un tiempo menor debido a que tiene una menor capacidad oxidativa que la tipo IIA, la cual tiene un número considerable de capilares y mitocondrias que hacen utilización del metabolismo glucolítico y oxidativo (Hinchcliff *et al.*, 2008).

2.5.2. Flujo del lactato en la célula muscular

Durante la actividad física el lactato producido es removido de la célula muscular por los transportadores de monocarboxilato (MCT), que son proteínas de membrana encargadas de transportar aniones de monocarboxilato tales como lactato, piruvato y cuerpos cetónicos (acetoacetato y β -hidroxibutirato; Halestrap, 2012).

Los transportadores de monocarboxilato se encuentran en numerosos tejidos de mamíferos, se conocen 14 isoformas; entre ellas los MCT 1 y MCT 4 que tienen una gran función en el transporte de lactato dentro y fuera de la célula muscular (Pösö *et al.*, 2008).

El flujo del lactato está regulado por el gradiente de concentración de protones y monocarboxilatos a través de la membrana (Halestrap y Wilson, 2012). Solamente el L-lactato puede ser difundido a través del sarcolema, y para que sea transportado debe de estar dissociado (Bonoen, 2000). Los MCT transportan el L-lactato junto con un protón siendo este transporte independiente de ATP (Mykkänen *et al.*, 2010). El MCT 1 está relacionado con las fibras oxidativas estando mayormente vinculado a la entrada de lactato a la célula muscular para que éste sea oxidado. Encontrándose principalmente en células musculares tipo I a nivel de sarcolema, mitocondria y túbulos T (Martín *et al.*, 2007); también se encuentran en corazón, eritrocitos y en vesículas citoplasmáticas (Bruce-Gladden, 2000). Mientras que el MCT4 se ha encontrado básicamente en las células con alta tasa glucolítica como las fibras musculares tipo II participando en la salida de lactato al torrente sanguíneo (Pösö *et al.*, 2008).

Las funciones de estos MCT apoyan la presencia de la lanzadera de lactato intracelular y extracelular en el músculo, que requiere que el lactato actúe tanto en vías oxidativas como en glucolíticas (Martín *et al.*, 2007).

El balance de MCT en el músculo depende del tipo de ejercicio que se realice (Halestrap y Wilson, 2012). Algunos estudios han mostrado que el transporte de lactato y la cantidad de MCT pueden ser alterados por el entrenamiento, encontrándose que en aquellos caballos que realizan ejercicio aeróbico, los MCT 1 se encuentran en mayor proporción que en aquellos que realizan ejercicio aerobio quienes tienen una mayor cantidad de MCT 4 (Mykkanen, 2011).

2.5.3. Transporte de lactato en los glóbulos rojos

En caballos ejercitados, el lactato es transportado desde el plasma hacia los glóbulos rojos. El flujo de lactato hacia los glóbulos rojos tiende a disminuir la concentración de lactato en plasma favoreciendo el flujo del lactato proveniente de los músculos que está determinado por las concentraciones de gradientes entre plasma y músculo (Pösö *et al.*, 2008).

El plasma contiene aproximadamente el 70 % del lactato sanguíneo, y los glóbulos rojos solo el 30 %. Esto es así en casi todas las condiciones, excepto después de la realización de ejercicio, en donde la tasa de entrada de lactato en glóbulos rojos es proporcionalmente más rápida. (Juel *et al.*, 1990).

En caballos ejercitados, más del 50 % del lactato en sangre se encuentra en los glóbulos rojos; tomando en consideración que durante el ejercicio estos representan el 60% de la sangre. Para el ingreso de lactato los glóbulos rojos utilizan el MCT 1 y la proteína CD147, una molécula auxiliar a los MCT (Mykkänen *et al.*, 2010).

El transporte de lactato hacia los glóbulos rojos es una manera pasiva de favorecer el gradiente de concentración de este ión, aunque se encuentra en altas concentraciones dentro de la célula muscular pero, la oxidación del lactato por parte de las fibras musculares tipo I,

hígado y riñón es mucho más eficiente, evitando la disminución del pH de la célula muscular encargada de su producción (Pösö, 2002).

2.5.4. Eliminación de lactato

El lactato al salir de la célula muscular viaja en el torrente sanguíneo a los tejidos muy aerobios como el hígado, corazón y en menor medida a la corteza renal, donde puede ser metabolizado (Pratt y Cornely, 2012).

El lactato es un producto intermediario, cuyo único destino es la reconversión en piruvato para su posterior conversión en glucosa (Mathews *et al.*, 2002). En las células del parénquima del hígado y el túbulo contorneado proximal del riñón, el MCT 1 puede ser usado para transportar L-lactato dentro de las células para la gluconeogénesis, por lo que es un sustrato importante, especialmente después del ejercicio (Halestrap y Wilson, 2012). El lactato pasa por diez reacciones citosólicas para la producción de glucosa. La glucosa proveniente del lactato puede salir del hepatocito a la circulación como fuente de material oxidable para otros tejidos o quedarse dentro del hígado en forma de glucógeno. La gluconeogénesis requiere de energía, en resumen, se necesitan dos moléculas de lactato para formar una de glucosa. En la gluconeogénesis se gastan 4 moléculas de ATP y dos de GTP al convertir dos lactatos en glucosa (Laguna y, Piña, 2002).

Por otra parte, los sitios de oxidación de lactato pueden incluir inmediatamente células adyacentes a los músculos que los producen, así como sitios anatómicos remotos incluyendo el corazón y otros músculos esqueléticos con capacidades aeróbicas mayores (Brooks, 1998).

El lactato pasa el espacio intermitocondrial mediante el MCT1 donde es convertido a piruvato mediante una isoforma de lactato deshidrogenasa, este piruvato atraviesa hacia la matriz mitocondrial donde es oxidado mediante el ciclo de Krebs (Jacobs *et al.*, 2013).

3. JUSTIFICACIÓN

La realización de ejercicio físico moderado en zonas de altitud elevada, con menor disponibilidad de oxígeno, como lo es la Ciudad de México (2240 msnm) genera un mayor esfuerzo y mayor estrés oxidativo en caballos no habituados a la actividad. Condiciones que podrían conducir a la fatiga muscular y elevación del lactato sanguíneo, aun cuando el nivel de actividad sea moderado. Por lo que es importante estudiar bajo estas condiciones, el comportamiento de la lactatemia y el efecto que sobre ella tienen diferentes dosis de antioxidantes (selenio y vitamina E) proporcionados con la dieta.

4. HIPÓTESIS

Las concentraciones sanguíneas de lactato, después de la realización de 30 min de ejercicio moderado serán menores en equinos complementados con niveles altos de Se (0.3 mg/kg de MS) y vitamina E (2 UI/kg de PV) respecto a equinos complementados con niveles menores de Se (0.1 mg/kg de MS) y vitamina E (1.6 UI/kg de PV).

5. OBJETIVO

Evaluar en equinos, el efecto de dos niveles de complementación con selenio y dos de vitamina E en la lactatemia ulterior a la realización de ejercicio moderado.

5.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar las concentraciones sanguíneas de lactato en equinos sometidos a ejercicio moderado y su el efecto de la complementación con 2 niveles de selenio (0.1 o 0.3 mg/kg de MS) y dos niveles de vitamina E (1.6 o 2.0 UI/kg de PV)

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Lugar de experimentación

Este estudio se realizó en la Unidad de la Policía Montada Metropolitana (UPM Montada) del Gobierno de la Ciudad de México; ubicada en Cabeza de Juárez, Delegación Iztapalapa, la cual se encuentra a una altura de 2240 m sobre el nivel del mar, el lugar presenta una precipitación media anual de 615.6 mm y una temperatura media anual de 17.7°C (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2014).

6.2. Animales y alojamiento

Para la realización de este estudio se utilizaron 24 caballos machos de sangre caliente con un peso promedio de 450 ± 9.77 kg PV y una edad de 9 años (± 4).

Los animales se alojaron aleatoria e individualmente en caballerizas de 4×4 m. Además, fueron asignados a uno de los cuatro grupos experimentales, en un arreglo factorial 2×2 (2 niveles de suplementación con Se \times 2 niveles de suplementación con vitamina E) con mediciones repetidas.

6.3. Alimentación y suplementación

Los caballos recibieron su ración en sus caballerizas, la que estuvo constituida por: 6 kg de heno de avena, 2 kg de heno de alfalfa y 2 kg de concentrado comercial (Súper Campeón®) y fue proporcionada bajo el esquema presentado en el cuadro 2, desde el inicio hasta el término del proyecto (77 días). El agua se ofreció a libre acceso.

Cuadro 2. Ingredientes y esquema de distribución diaria de la ración para caballos de trabajo (450 kg PV)

Alimento	Hora			
	5:30	7:30	14:00	16:00
Heno de avena (kg)		3		3
Heno de alfalfa (kg)			2	
Concentrado* (kg)	1		1	

* Producto comercial

Los henos de avena y alfalfa provinieron de un solo lote. El alimento concentrado provino de 3 lotes. Cuando se prepararon los lotes de alimentación se tomaron muestras de los ingredientes de la dieta, para su evaluación química en el laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica (FMVZ-UNAM). La única diferencia entre los grupos experimentales fue la suplementación oral que recibieron (cuadro 3); el selenio (Se) fue proporcionado como seleno levadura y la vitamina E como acetato de tocoferil.

Cuadro 3. Cantidades de selenio y vitamina E, suplementadas a caballos de trabajo (450 kg PV)

		Vitamina E	
		Bajo 1.6 UI/kg PV	Alto 2.0 UI/kg PV
Selenio	Bajo 0.1 mg/kg MS	(BSeBE)	(BSeAE)
	Alto 0.3 mg/kg MS	(ASeBe)	(ASeAE)

Así, los cuatro grupos experimentales con 6 caballos cada uno fueron:

Grupo 1 “BSeBE” = dieta basal + 0.1 mg/kg MS de Se + 1.6 UI/kg PV de Vit E.

Grupo 2 “ASeBE” = dieta basal + 0.3 mg/kg MS de Se + 1.6 UI/kg PV de Vit E.

Grupo 3 “BSeAE” = dieta basal + 0.1 mg/kg MS de Se + 2 UI/kg PV de Vit E.

Grupo 4 “ASeAE” = dieta basal + 0.3 mg/kg MS de Se + 2 UI/kg PV de Vit E.

Los suplementos fueron proporcionados vía oral mezclándolos con el alimento concentrado ofrecido por la mañana (5:30am). Cabe señalar que la complementación fue suspendida durante las últimas 2 semanas de experimentación para permitir a los animales un reacondicionamiento a su manejo inicial.

6.4. Ejercicio

Considerando que algunos caballos no tenían entrenamiento cotidiano de cuerda, se dio un periodo de acondicionamiento al manejo experimental cuya duración fue de 2 semanas y después se dejaron descansar durante un mes antes del inicio de la actividad física del experimento. Cabe recalcar que todos los caballos seleccionados tuvieron diversos periodos de aprendizaje desde la impronta de los potros hasta el aprendizaje de manejos básicos como manipulación de cabeza, cuerpo, miembros anteriores y posteriores además de un periodo de arrendamiento con el manejo de cuerda.

Como ya se mencionó, este estudio tuvo una duración de 77 días, correspondiendo a 28 días, cuando se realizó aunque no diariamente, la actividad física. Los días en que los caballos no se ejercitaron se destinaron a otros manejos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Manejo experimental de caballos (450 kg) en las semanas de experimentación

Semana experimental	Actividad
1 – 4	Acostumbramiento e inicio de complementación. Adaptación a la ración y a las condiciones experimentales. No realizaron actividad física (descanso)
5 – 8	Ejercicio moderado (30 min)
9 – 11	Regreso a condiciones cotidianas de manejo de la UPM Montada

El ejercicio físico se realizó en una pista de salto, durante 4 semanas y tuvo una duración de 30 minutos al día (5 min. de calentamiento, 19 min. Semi-galope, 1 minuto a galope y 5 min de enfriamiento) durante 3 días a la semana.

Las frecuencias cardíaca y respiratoria se registraron antes del ejercicio y 5 minutos después del mismo. Para la frecuencia cardíaca se auscultó la zona entre el tercer y quinto espacio intercostal del lado izquierdo, por un minuto. La frecuencia respiratoria se tomó mediante la observación de los movimientos toraco-abdominales por un minuto.

6.5. Toma de muestras y pruebas sanguíneas relacionadas con la actividad física

Antes del inicio de la complementación con Se y/o Vit E (día cero, d0), se tomaron muestras sanguíneas de la yugular, para la cuantificación de lactato y después de este muestreo cada semana, se continuaron hasta finalizar el experimento. Las muestras tomadas en las semanas de ejercicio se realizaron en el último día de actividad física, al término de la misma. Para la toma de la muestra de sangre se utilizaron agujas del número 21 y tubos vacutainer sin anticoagulante de 3mL. Inmediatamente después de la colección de la

muestra se tomó una gota de sangre para cuantificar el lactato por la técnica de fotometría de reflectancia ¹ (Figura 1). Se manejó un esquema de premios, después de sangrar a los animales.



Figura 1. Sistema Accutrend[®] para monitoreo de lactato sanguíneo.

6.6. Análisis estadístico

Los resultados de la lactatemia fueron analizados utilizando el PROC MIXED (SAS 9.1.3) para el arreglo antes descrito. El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + Ck(ij) + \gamma_t + (\alpha\gamma)_{it} + (\beta\gamma)_{jt} + (\alpha\beta\gamma)_{itj} + \varepsilon_{ijkl}$$

¹ Accutrend[®] Plus, Roche Diagnostics, Mannheim Alemania.

Donde:

$\mu =$ Media

$\alpha_i =$ Efecto del nivel de selenio ($i = 1, 2$),

$\beta_j =$ Efecto del nivel de vitamina E ($j = 1, 2$),

$(\alpha\beta)_{ij} =$ Efecto de la interacción α_i y β_j ,

$C_{k(ij)} =$ Efecto aleatorio del caballo, anidado en el tratamiento α_i y β_j ($k = 1$ a 24),

$Y_t =$ Efecto de la semana experimental ($w = 0$ a 11),

$(\alpha Y)_{it} =$ Efecto de la interacción α_i y Y_t ,

$(\beta Y)_{jt} =$ Efecto de la interacción β_j y Y_t ,

$(\alpha\beta Y)_{ijt} =$ Efecto de la triple interacción α_i , β_j y Y_t ,

$\varepsilon_{ijkt} = \sim N(0, \sigma^2_\epsilon)$

Se realizó el análisis de Tukey-Kramer para la comparación entre medias. El nivel de significancia utilizado fue de $P < 0.05$ y las tendencias consideradas a $P < 0.10$.

7. RESULTADOS

7.1 Aporte nutrimental de la dieta

La composición química de la dieta se presenta en los cuadros 5 y 6. En general, la dieta basal satisfizo las necesidades de los caballos; pero, no lo referente a Se y vitamina E, cuyo aporte por la dieta basal se mantuvo pobre durante todo el trabajo experimental. Por ello, los resultados observados en este estudio pueden atribuirse a la suplementación proporcionada. La cantidad de vitamina E proporcionada por la dieta basal al día era de 0.29 UI/kg de PV, estando muy por debajo de la recomendación mínima del NRC que es de 1.6 UI/kg PV. La cantidad de selenio en la dieta basal también fue deficiente, ya que la cantidad en la dieta no fue detectada en el análisis de laboratorio realizado; el NRC establece un requerimiento mínimo de selenio de 0.1 mg/kg de MS

Cuadro 5. Composición química del alimento concentrado en base seca (g/kg MS), proporcionada a caballos, sometidos a ejercicio moderado y suplementados con dos niveles de Selenio (0.1 y 0.3 mg/kg de MS) y dos niveles de vitamina E (1.6 y 2.0 UI/kg PV)

Item	Cantidad en BS
Proteína cruda ($N \times 6.25$, g/kg MS)	136.3
Extracto Etéreo	22.7
Cenizas	90.9
Fibra cruda	113.6
Elementos Libres de Nitrógeno	636.3

En lo referente al concentrado, cabe señalar la cantidad importante de elementos libres de nitrógeno, principio donde se calcula el contenido de carbohidratos no estructurales, principalmente solubles.

Cuadro 6. Composición química de la dieta proporcionada a caballos, sometidos a ejercicio moderado y suplementados con dos niveles de Selenio (0.1 y 0.3 mg/kg MS) y dos niveles de vitamina E (1.6 y 2.0 UI/kg PV)

<i>Item</i>	Cantidad en BS
Proteína cruda (N × 6.25, g/kg MS)	103.88
Fibra Detergente Neutro (g/kg MS)	389.70
Fibra Detergente Ácido (g/kg MS)	342.43
Calcio (g/kg MS)	5.15
Fósforo (g/kg MS)	3.58
Selenio (g/kg MS)	ND
Vitamina E (IU/kg MS)	14.40
Energía Bruta (Mcal/kg MS)	5.42

7.2. Concentraciones sanguíneas de lactato

Los resultados del análisis estadístico se presentan en el cuadro 7. De las variables incluidas en el modelo, sólo la semana experimental afectó ($P < 0.05$) las concentraciones sanguíneas de lactato (figura 2); el resto de las variables: Se, E, y su interacción; así como sus interacciones de Se y E con la semana no tuvieron efecto ($P > 0.05$). Se observó una tendencia ($P = 0.053$) para la triple interacción ($Se \times E \times w$).

Cuadro 7. Análisis estadístico para la concentración sanguínea de lactato en caballos, sometidos a ejercicio moderado y suplementados con dos niveles de Selenio (0.1 y 0.3 mg/kg de MS) y dos niveles de vitamina E (1.6 y 2.0 UI/kg PV).

Efecto	G.L. Num.	G.L. Den.	Valor de F	Valor de P
Selenio (Se)	1	20.1	0.61	0.4438
Vitamina E (E)	1	20.1	0.15	0.7030
Semana (w)	11	187.0	9.89	< 0.0001
Se × E	1	20.1	0.99	0.3323
Se × w	11	187.0	0.84	0.5968
E × w	11	187.0	0.63	0.8027
Se × E × w	11	187.0	1.82	0.0528

Como ya se mencionó, las concentraciones sanguíneas de lactato fueron afectadas por la semana experimental, lo que permite ver el efecto del periodo de la actividad física

realizada (semana 5 a 8). En la figura 1, se aprecia que durante las primeras cuatro semanas, incluido el d0 (muestreo antes del inicio de la complementación con Se y/o Vit E), el lactato sanguíneo no mostró cambios ($P > 0.05$, 1.03 ± 0.03 mMol/L). Las diferencias más importantes se establecieron entre la semana 8 (2.23 ± 0.12 mMol/L) y los valores basales (d0, 0.85 ± 0.12 mMol/L). En las últimas tres semanas experimentales no se estableció diferencia alguna en las concentraciones sanguíneas de lactato (1.35 ± 0.12 mMol/L). Sin embargo, se observó un incremento de 1.8 veces respecto al valor basal.

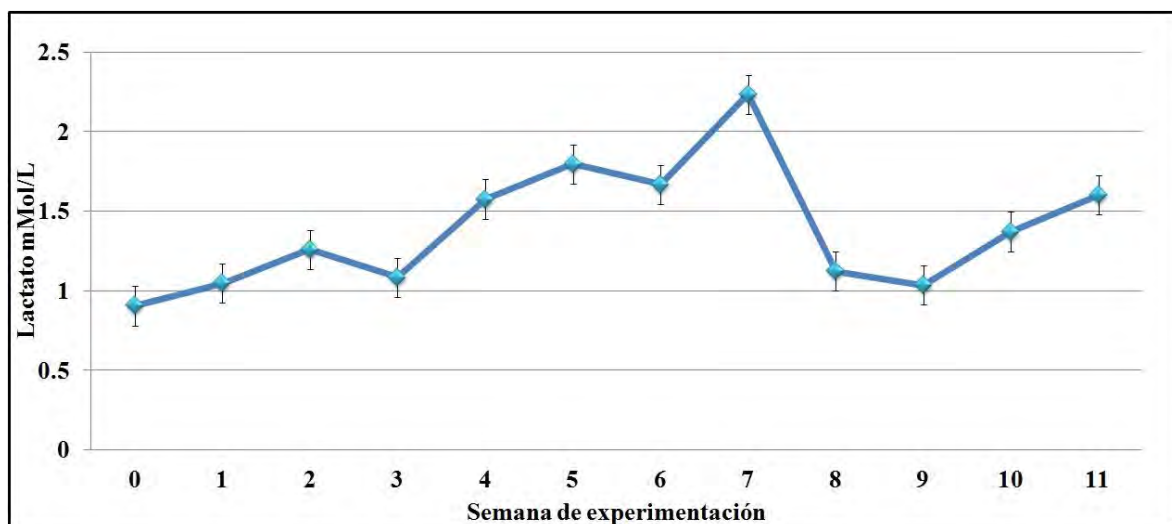


Figura 2. Concentración sanguínea de lactato, en caballos, sometidos a ejercicio moderado y suplementados con dos niveles de Selenio (0.1 y 0.3 mg/kg de MS) y dos niveles de vitamina E (1.6 y 2.0 UI/kg PV). La actividad física se realizó durante las semanas 5 a 8. Las barras perpendiculares corresponden al error estándar de la media.

8. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Por mucho tiempo, la medición de diversas variables bioquímicas sanguíneas ha sido sugerida para permitir el asesoramiento de la capacidad competitiva de los caballos de deporte (Linder *et al.*, 2000). La medición de lactato en sangre es una de las variables más usadas para evaluar el estado físico de los caballos (Trilk *et al.*, 2002) siendo la velocidad y la duración del ejercicio los dos factores que más afectan la concentración de lactato en sangre (Marlin y Nankervis, 2002). La concentración de lactato en la sangre depende de su producción y metabolismo del mismo (Ferrante *et al.*, 1994). Además, del tipo y de la integridad de las fibras musculares que participen durante el desarrollo de la actividad física. En este último punto, se ha recomendado el empleo de antioxidantes en la ración para disminuir los posibles daños causados por las especies de oxígeno (ERO) y nitrógeno reactivos (ERN) que se generan durante la actividad física.

Los niveles de suplementación proporcionados de selenio (0.1 y 0.3 mg Se/kg MS) y de vitamina E (1.6 y 2 UI Vit E/kg PV) no afectaron las concentraciones sanguíneas de lactato de los caballos utilizados en el estudio ni bajo condiciones de inactividad, ni de actividad física.

Sin embargo, el efecto de la actividad física sí se manifestó a través del tiempo, ya que la mayor concentración de lactato en sangre fue observada hacia el final de las semanas programadas con actividad física. De la semana 0 a la 4 las concentraciones de lactato se mantuvieron próximas a las concentraciones reportadas por otros autores para caballos en reposo (Cuadro 7).

Cuadro 7. Concentraciones sanguíneas de lactato en caballos en reposo (A partir de Trigo, 2011)

Lactato mmol/L	Autor
0.84 ± 0.09	Schott <i>et al.</i> , 1997
0.61 ± 0.06	Schott <i>et al.</i> , 1997
0.90 ± 0.10	Martínez <i>et al.</i> , 2000
1.00 ± 0.70	Barton <i>et al.</i> , 2003
1.00 ± 0.30	Barton <i>et al.</i> , 2003
0.90 ± 0.40	Barton <i>et al.</i> , 2003
0.75 ± 0.03	Hess <i>et al.</i> , 2006
0.61 ± 0.41	Muñoz <i>et al.</i> , 2010
0.61 ± 0.41	Muñoz <i>et al.</i> , 2010
0.61 ± 0.41	Muñoz <i>et al.</i> , 2010

El incremento en la concentración de lactato durante la semana 5 a 8 se debió a la actividad física moderada a la que fueron sometidos los caballos; sin embargo, las concentraciones observadas no fueron tan elevadas, manteniéndose en el rango para caballos que realizan ejercicio de tipo aeróbico (2.03 ± 0.33) (Piccione *et al.*, 2010). De hecho, se establece una diferencia importante entre las concentraciones de lactato al día 0 y al día 56, explicada por la actividad física. El incremento en el lactato sanguíneo tradicionalmente se ha asociado a una deficiente oxigenación y un aumento en el metabolismo anaeróbico (Tennent-Brown *et al.*, 2010). Por otra parte, se acepta que el ejercicio ligero durante la recuperación incrementa la desaparición de lactato en sangre en caballos; en esta etapa, el tejido muscular cambia de ser un productor de lactato a uno que lo consume debido a que el lactato es un buen sustrato disponible, durante el ejercicio ligero el consumo de O_2 es dos veces mayor que en reposo. Este pequeño incremento en la oxigenación del músculo permite una mayor utilización de lactato como sustrato haciendo más rápida su desaparición (Pösö, 2002).

Debido a que la medición de lactato se realizó únicamente al término de la actividad física, no fue posible observar los cambios de la concentración de lactato durante los diferentes cambios de velocidad a la que fueron sometidos los caballos. Diversos autores han demostrado las fluctuaciones de la concentración de lactato en sangre cuando la velocidad a la que se someten es modificada aunque también puede haber fluctuaciones en la concentración de lactato debido al tiempo que se realice determinada actividad a una intensidad constante (Linder *et al.*, 1992).

Los resultados de este estudio no mostraron que alguna de las combinaciones de suplementación utilizadas haya conferido un mayor efecto protector a los caballos. En el estudio de Garcés, (1997), en el cual realizó un estudio en caballos Pura Sangre Inglés para carreras, con un peso promedio de 500 kg, se demostró que la complementación oral con 2400 UI/día de Vit E durante un período de 14 días, permite una recuperación más rápida de los valores basales de la concentración de lactato sanguíneo debido a una mayor eficiencia de los mecanismos encargados de metabolizar el lactato, gracias a la acción cito protectora de esta vitamina. La cantidad de vitamina E proporcionada por Garcés (4.8 UI/kg PV) es mayor a las utilizadas en el presente experimento. Diferentes trabajos mencionan que un aporte de vitamina E, mayor al sugerido por el NRC (2007) en la dieta confiere un efecto protector importante a las células del organismo. Esto debe continuar investigándose. En trabajos realizados con ratas que realizan actividad física se ha demostrado un efecto protector de la vitamina E (tocoferol) sobre el tejido hepático (medida por la peroxidación lipídica) independientemente de la suplementación con selenio, mientras que la respuesta del músculo estriado esquelético no se vió afectada por la suplementación durante 5 semanas en una dosis 5 veces mayor del requerimiento (Goldfarb *et al.*, 1994). Sen (2001) menciona que la deficiencia de vitamina E y Se favorece de forma

importante la lipoperoxidación en el organismo; sin embargo, “*la deficiencia de Se tiene poco efecto cuando el tocoferol está presente*”. Brady *et al.* (1978) observaron que en caballos la suplementación diaria con 0.15 ppm de selenio (selenito de sodio) por cuatro semanas tuvo un efecto mínimo sobre la lipoperoxidación inducida por el ejercicio.

En general, la actividad física realizada fue moderada, lo que implicó un metabolismo básicamente aerobio y que no hubo un daño muscular como lo muestran las concentraciones sanguíneas. Condiciones que pueden explicar la ausencia del efecto de los tratamientos. En cuanto a los resultados controversiales reportados para la vitamina E, es necesario realizar mayor investigación en cuanto a fuentes, cantidades y antagonismos con otros nutrimentos.

Como se mencionó, se observó un ligero aumento en la concentración de lactato en la semana 11 respecto a los valores basales (d0) que puede explicarse por un incremento en la cantidad proporcionada de alimento concentrado de 2 a 4 kg que correspondía al manejo cotidiano de la UPM. De esta forma, los caballos recibieron una cantidad mayor de carbohidratos no estructurales, lo que favorece la producción microbiana de lactato (Allen y Holm, 2008). El cuadro 8 presenta algunos microorganismos productores de lactato en el equino (Al-Jassim y Andrews, 2009). Importantes cantidades de almidón ingerido no son digeridas en su totalidad por las enzimas pancreáticas del caballo (la cantidad de amilasa producida es solo del 8 al 10% respecto a lo observado en un cerdo; Jackson, 1988), lo que provoca que lleguen al intestino grueso donde son fermentados por bacterias presentes en ciego y colon en ácidos grasos volátiles (AGVs) y D y L-Lactato. Esto concuerda con un estudio realizado por Al-Jassim *et al.* (2005) donde llegó a la conclusión de que la complementación con variables cantidades de oligofructosa (7.5 a 12.5 g/kg PV) en una

única dosis administrada, resultó en un desarrollo de laminitis con incremento de los niveles de D y L-lactato en sangre alcanzando el pico (2.815 mmol/L) a las 24 horas de la primera administración.

Cuadro 8. Micro organismos presentes en sistema digestivo del caballo e isómero de lactato producido en condiciones normales y al inducir laminitis (Tomado de Al-Jassim, Andrews, 2009)

Micro organismo (Gram)	Lactato producido	Región del sistema digestivo
<i>Lactobacillus mucosae</i> (+)	D y L	Estómago y Ciego*
<i>Lactobacillus salivarius</i> (+)	D y L	Estómago, colon* y recto*
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> (+)	D y L	Estómago y recto*
<i>Mitsuokella jalaludinii</i> (-)	D y L	Ciego* y recto*
<i>Veillonella atypical</i> (-)	D y L	Recto

* Bacterias presentes en secciones del aparato digestivo cuando los caballos son inducidos a laminitis

Así, el incremento en las concentraciones de lactato sanguíneo puede explicarse en parte por el aumento de lactato generado en el intestino, que puede ser cuantificado al pasar al torrente sanguíneo. Esto es acorde con la cantidad de los elementos libres de nitrógeno (ELN) del concentrado y la cantidad proporcionada a cada animal (5.09 g ELN/kg PV/día).

Así, bajo las condiciones experimentales de este estudio se concluye:

- La complementación con 0.1 y 0.3 mg/kg de MS y 1.6 y 2.0 UI/kg de PV no modifican las concentraciones sanguíneas de lactato en caballos que realizan trabajo moderado.
- Una administración de 5.09 g/kg PV/día de almidones, puede reflejarse en un aumento en las concentraciones sanguíneas de lactato.

Por lo anterior, se recomienda continuar realizando investigación sobre la suplementación con antioxidantes para mejorar el estado de salud de los caballos y su desempeño físico.

9. LITERATURA CITADA

1. Al-Jassim RAM, Andrews FM. 2009. The bacterial community of the horse gastrointestinal tract and its relation to fermentative acidosis, laminitis, colic and stomach ulcers. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 25(2):199-215.
2. Al-Jassim RAM, Scott PT, Trebbin AL, Trott D, Pollitt CC. 2005. The genetic diversity of lactic acid producing bacteria in the equine gastrointestinal tract. *FEMS Microbiology Letters*, 248(1):75-81.
3. Allen SE, Holm JL. 2008. Lactate: physiology and clinical utility. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 18(2):123-132.
4. Boffi FMFM, Arthur RM, Adams GVC, Steven D, Adams GP. 2003. Fisiología del ejercicio en equinos. *Memorias del 8 Congreso de la Asociación Mundial de Veterinaria Equina y del 2 Congreso Nacional del Turf; octubre 15-17*. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica.
5. Bonoen AREND. 2000. Lactate transporters (MCT protein) in heart and skeletal muscles. *Medicine and Science in Sports and Exercise*; 32(4): 778-789.
6. Brady PS, Ku PK, Ullrey DE. 1978. Lack of effect of selenium supplementation on the response of the equine erythrocyte glutathione system and plasma enzymes to exercise. *Journal of Animal Science*, 47(2):492-496.
7. Brooks GA. 1998. Mammalian fuel utilization during sustained exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 120(1):89-107.

8. Gladden LB. 2000. Muscle as a consumer of lactate. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(4): 764-771.
9. Chernitzky D. 2014. *Determinación de lactato en líquido peritoneal y plasmático como herramienta para el diagnóstico y pronóstico en caballos con síndrome abdominal agudo quirúrgico y su correlación histopatológica* [tesis de licenciatura]. CDMX, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
10. Church DC, Pond WG, Pond K. 2006. *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales*. 2da ed. USA: Limusa Wiley.
11. Combs GF. 2008. *The Vitamins Fundamental Aspects in Nutrition and Health*. 3rd ed. USA: Elsevier.
12. Cunningham JG, Klein BG. 2009. *Fisiología Veterinaria*. 4ta ed. México: Elsevier.
13. Ferrante PL, Taylor LE, Kronfeld DS, Meacham TN. 1994. Blood lactate concentration during exercise in horses fed a high-fat diet and administered sodium bicarbonate. *The Journal of Nutrition*, 124:2738–2739.
14. Frape D. 2010. *Equine nutrition and feeding*. 4th rev. ed. Blackwell publishing.
15. Garcés MVA. 1997. *Efecto de la vitamina E sobre la homeostasis lactatémica post-ejercicio en equinos F.S.C.* [tesis de licenciatura]. Chile: Universidad de Concepción.
16. Geor R, Coenen M, Harris P. 2013. *Equine Applied and Clinical Nutrition: Health, Welfare and Performance*. UK: Saunders Elsevier.
17. Gladden LB. 1996. Lactate transport and exchange during exercise. En: Rowell LB, Shepherd JT (eds). *Handbook of Physiology, Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*. Nueva York, USA: Oxford University Press.

18. Goldfarb AH, McIntosh MK, Boyer BT, Fatouros J. 1994. Vitamin E effects on indexes of lipid peroxidation in muscle from DHEA-treated and exercise rats. *Journal of Applied Physiology*, 76(4):1630-1635.
19. Guerrero NPA, Portocarrero AL, Mutis BCA, Ramírez TJ. 2009. Determinación de frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, lactato deshidrogenasa, creatinquinasa y ácido láctico en caballos durante competencia de salto en la Sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria*. 17:37-52. DOI: [10.19052/mv.1184](https://doi.org/10.19052/mv.1184)
20. Guevara RP, Díaz GR, Galán OA, Guillén CE, Malumbres S, Marín SJL. 2010. Lactato: utilidad clínica y recomendaciones para su medición. *Sociedad Española de Bioquímica y Patología Molecular*, 183(11), 8-16..
21. Halestrap AP, Wilson MC. 2012. The monocarboxylate transporter family – role and regulation. *IUBMB life*, 64(2):109-119.
22. Halestrap AP. 2012. The monocarboxylate transporter family – structure and functional characterization. *IUBMB life*, 64(1):1-9.
23. Halliwell B, Chirico S. 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57:715-725.
24. Hartmann U. 2011. Importance of the lactate parameter for performance diagnosis and for the regulation of training in top competition athletics in recreational sports. En: *Applied Equine Nutrition and Training*. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.
25. Henderson ISF. 2013. Diagnostic and prognostic use of L-lactate measurement in equine practice. *Equine Veterinary Education*, 25(9):468-475.

26. Herrera A. 2007. *Requerimientos nutricionales y valor nutritivo de los alimentos en équidos de trabajo, estudio recapitulativo* [tesis de licenciatura]. CDMX, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
27. Hinchcliff KW, Geor RJ, Kaneps AJ. 2008. *Equine Exercise physiology: The science of exercise in the athletic horse*. USA: Elsevier.
28. Hintz HF, Kallfelz FA. 1981. Some nutritional problems of horses. *Equine Veterinary Journal*, 13(3):183–186.
29. Huerta JM, Ortega CME, Cobos PM, Herrera HJG, Diaz CA, Guinzberg PR. 2005. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *INCI*, 30(12):728–734.
30. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (base de datos). Anuario Estadístico y geográfico del distrito federal 2014. México. INEGI. 2014. Disponible en la página: <http://smn.cna.gob.mx>.
31. Jackson SG. 1998. The digestive tract of the horse—practical considerations. *Advances in equine nutrition*. UK: Nottingham University Press.
32. Jacobs RA, Meinild AK, Nordsborg NB, Lundby C. 2013. Lactate oxidation in human skeletal muscle mitochondria. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 304(7):686-694.
33. Juel C, Bangsbo J, Graham T, Saltin B. 1990. Lactate and potassium fluxes from human skeletal muscle during and after intense, dynamic, knee extensor exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*, 140(2):147-159.
34. Julliard V, De Fombelle A, Varloud M. 2006. Starch digestion in horses: The impact of feed processing. *Livestock Science*, 100(1):44-52.

35. Julliand V, Philippeau C, Goachet AG, Ralston S. 2008. Physiology of intake and digestion in equine animals. *Nutrition of the Exercising Horse EAAP Scientific Series*, 125:53-69.
36. Katz A, Sahlin K. 1988. Regulation of lactic acid production during exercise. *Journal of Applied Physiology*, 65(2):509-518.
37. Kitaoka Y, Masuda H, Mukai K, Hiraga A, Takemasa T, Hatta H. 2011. Effect of training and detraining on monocarboxylate transporter MCT 1 and MCT 4 in Thoroughbred horses. *Experimental physiology*, 96(3):348-355.
38. Laguna J, Piña E. 2002. *Bioquímica de Laguna*. 5ta ed. México: Manual Moderno.
39. Lehninger AL. 2004. *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular*. España: Ediciones Omega.
40. Linder A, Von Wittke P, Schmalde M, Kusserow J, Sommer H. 1992. Maximal lactate concentrations in horses after exercise of different duration and intensity. *Journal of Equine Veterinary Science*, 12(1):36-39.
41. Linder A. 2000. Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of sport horses in practice. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 151(7):611-618.
42. Marlin D, Nankervis K. 2002. *Equine Exercise Physiology*. USA: Blackwell Publishing.
43. Martín MA, González MC, Llop F. 2007. Presente y futuro del ácido láctico. *Archivos de Medicina del Deporte: Revista de la Federación Española de Medicina del Deporte y de la Confederación Iberoamericana de Medicina del Deporte*, 120:270-284.
44. Mathews CK, Van Holde KE, Ahern KG. 2002. *Bioquímica*. 3ra ed. España: Pearson educación.
45. Mc Dowell LR. 1999. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. USA: Elsevier.

46. Mc Dowell LR. 2003. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. USA: Elsevier.
47. McDowell LR. 1989. *Vitamins in animal nutrition comparative aspects to human nutrition*. UK: Academic Press.
48. Mehdi Y, Hornick JL, Istasse L, Dufrasne I. 2013. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules*, 18(3):3292-3311.
49. Mertz W. 1986. *Trace Elements in Human and Animal*. USA: Academic Press Inc.
50. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 1999. *Bioquímica de Harper*. 14ava ed. México: Manual Moderno; 1999.
51. Mykkanen A. 2011. *Expression of lactate transporters MCT 1, MCT 2, MCT 4 and the ancillary protein CD147 in horse muscle and red blood cells* [tesis doctoral]. Helsinki, Finland: University of Helsinki.
52. Mykkänen AK, Pösö AR, McGowan CM, McKane SA. 2010. Expression of lactate transporters MCT1, MCT2 and CD147 in the red blood cells of three horse breeds: Finnhorse, Standardbred and Thoroughbred. *Equine Veterinary Journal*, 42(s38):161–166.
53. National Research Council. 2007. *Nutrient Requirements of Horses*. 6th rev. ed. Washington, D.C.: The National Academy Press.
54. Pfeiffer BP, Carrillo DR, Retamal MR. 2008. Determinación de parámetros fisiológicos, hematológicos y bioquímicos sanguíneos en equinos de polo. *Memorias del XXX Congreso Anual de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Equinos*; agosto 25-30. Puebla, Pebla, México. AMMVEE.
55. Piccione G, Messina V, Casella S, Giannetto C, Caola G. 2010. Blood lactate levels during exercise in athletic horses. *Comparative Clinical Pathology*, 19(6):535-339.
56. Pilliner S. 1999. *Horse Nutrition and Feeding*. 2 ed. USA: Blackwell Science.

57. Pösö AR, Koho NM, Mykkänen AK, Reeben M, Väihkönen LK. 2008. Muscle - lactate and its transport across membranes in horses: a review. *Nutrition of the Exercising Horse*, 125:43-47.
58. Pösö AR. 2002. Monocarboxylate transporters and lactate metabolism in equine athletes: A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43:63-74.
59. Pratt CW, Cornely K. 2012. *Bioquímica*. México: Manual Moderno.
60. Saastamoinen MT, Harris PA. 2008. Vitamin requirements and supplementation in athletic horses. *Nutrition of the Exercising Horse EAAP Scientific Series*, 125:233-252.
61. Schrauzer GN. 2000. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *The Journal of nutrition*, 130(7): 1653-1656.
62. Siciliano PD, Parker AL, Lawrence LM. 1997. Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. *Journal of Animal Science*, 75(6):1553–1560.
63. Spröhnle VPC. 2007. *Evaluación en treadmill de parámetros fisiológicos (FC, FR y T°) y ácido láctico en equinos mestizos que participarán en competencias de enduro* [tesis de licenciatura]. Chile: Universidad de Concepción.
64. Surai PF. 2006. *Selenium in nutrition and health*. UK, Nottingham: Nottingham University Press..
65. Taylor-Pickard JA, Tucker LA. 2005. *Re-defining Mineral Nutrition*. U.K, Nottingham: Nottingham University Press.
66. Trigo P. 2011. *Fisiopatología del ejercicio en el caballo de resistencia*. Argentina: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.

67. Trilk JL, Lindner AJ, Greene HM, Alberghina D, Wickler SJ. 2002. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. *Equine Veterinary Journal*, 34(S34):122-125.
68. Underwood EJ, Suttle NF. 2001. *The mineral nutrition of livestock*. 3 ed. UK: CABI Publishing.
69. Vélez M. 2012. Estrés oxidativo y ejercicio. *Memorias del 1er Curso de Fisiología y Medicina Deportiva Veterinaria*; marzo 15–16. CDMX, México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Universidad Nacional Autónoma de México.
70. Venereo JR. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2):126-133.
71. Wickler SJ, Anderson TP. 2000. Hematological changes and athletic performance in horses in response to high altitude (3,800m). *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 279(4):1176-1181.