



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**“Efecto de la suplementación con selenio sobre biomarcadores de  
estrés oxidativo en plasma y eritrocitos de cabras antes y  
después del parto”**

**T E S I S**

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

**PRESENTAN**

**GUZMÁN BÁEZ ADRIANA**

**PACHECO SÁNCHEZ VALERIA FERNANDA**

**ASESOR: DR. VICTOR MANUEL DÍAZ SÁNCHEZ**

**COASESOR: DRA. PATRICIA RAMÍREZ NOGUERA**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2021.**



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.

## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>RESUMEN</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>9</b>
	<b>Selenio</b> .....	<b>10</b>
	<b>Funciones</b> .....	<b>12</b>
	<b>El Selenio y la Respuesta Inmune</b> .....	<b>14</b>
	<b>Absorción, Metabolismo y Excreción</b> .....	<b>15</b>
	<b>Efecto del selenio sobre la fermentación ruminal</b> .....	<b>16</b>
	<b>Enfermedades Relacionadas con la Deficiencia de Selenio en Pequeños</b>	
	<b>Rumiantes</b> .....	<b>18</b>
	<b>Mastitis</b> .....	<b>18</b>
	<b>Trastornos Reproductivos en el macho</b> .....	<b>18</b>
	<b>Miopatía Degenerativa Nutricional o Enfermedad del Músculo Blanco</b> .....	<b>19</b>
	<b>Suplementación</b> .....	<b>20</b>
	<b>Vías de Administración en Caprinos</b> .....	<b>21</b>
	<b>Bolos intrarruminales de liberación continua</b> .....	<b>21</b>
	<b>Mezclas de sales minerales</b> .....	<b>21</b>
	<b>Administración parenteral</b> .....	<b>21</b>
	<b>El Selenio y el estrés oxidativo</b> .....	<b>22</b>
	<b>Importancia del Selenio durante el parto</b> .....	<b>23</b>
	<b>La Formación de Radicales Libres y las Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) ...</b>	<b>24</b>

Principales Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) .....	25
Peróxido de Hidrógeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	25
Daño Oxidativo .....	26
Antioxidantes no enzimáticos .....	27
Biomarcadores de Estrés Oxidativo.....	28
Catalasa (CAT).....	29
Glutación (GSH) .....	29
<b>3 JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>31</b>
<b>4 HIPÓTESIS.....</b>	<b>31</b>
<b>5 OBJETIVOS.....</b>	<b>32</b>
<b>6 METODOLOGÍA.....</b>	<b>34</b>
Norma de ética y bienestar experimental .....	34
Animales y localización .....	34
Alimentación de los animales .....	34
División de grupos experimentales .....	35
Toma de muestras.....	35
Pruebas de Laboratorio .....	36
Estimación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico TBARS.....	36
Estimación de GSH .....	36
Determinación de Proteínas totales.....	37
Determinación la actividad de la Catalasa .....	37

	Cuantificación de Selenio en Sangre Completa .....	37
7	<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	39
8	<b>RESULTADOS</b> .....	40
	Estimación de GSH .....	40
	Estimación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico TBARS .....	42
	Determinación de la actividad de la Catalasa (CAT) .....	44
	Evaluación de la concentración de Se en sangre completa .....	46
9	<b>DISCUSIÓN</b> .....	48
10	<b>CONCLUSIONES</b> .....	54
11	<b>REFERENCIAS</b> .....	56
12	<b>ANEXOS</b> .....	67

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Principales Selenoproteínas y su función (Modificado de Rodríguez, 2013). .....	13
<b>Tabla 2.</b> Principales oxidantes, prooxidantes y antioxidantes en las células de los mamíferos, tomado de (Koninsberg, 2008). .....	28
<b>Tabla 3.</b> Ración para cabras en producción con 1.5 L de leche, 3.5% de grasa y 3.8% de proteína.....	34
<b>Tabla 4.</b> Análisis de varianza para la concentración de GSH en plasma sanguíneo de los grupos experimentales. ....	40
<b>Tabla 5.</b> Análisis de Varianza para la concentración de TBARS en plasma sanguíneo de los grupos experimentales. ....	42
<b>Tabla 6.</b> Análisis de varianza para la actividad de CAT en eritrocitos de los grupos experimentales. ....	44
<b>Tabla 7.</b> Análisis de varianza de la concentración de Se en cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC). .....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribución de la población caprina en el mundo FAOSTAT 2018.....	9
<b>Figura 2.</b> Efectos fisiológicos del selenio.....	14
<b>Figura 3.</b> Etapas del estrés oxidativo en las células.....	23
<b>Figura 4.</b> Representación esquemática sobre las especies reactivas de oxígeno más comunes generadas en el sistema biológico.....	25
<b>Figura 5.</b> Resumen de la interrelación que existe entre las principales especies reactivas de oxígeno y nitrógeno con los sistemas de defensa antioxidante. ....	27
<b>Figura 6.</b> Diagrama de flujo proceso experimental. ....	33
<b>Figura 7.</b> Concentración de GSH reducido en plasma sanguíneo de cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC) por semana.....	41
<b>Figura 8.</b> Concentración de TBARS en plasma sanguíneo de cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC) por semana.....	43
<b>Figura 9.</b> Promedio de la concentración de CAT en eritrocitos de cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC) por semana.....	45
<b>Figura 10.</b> Promedio de la evaluación de la concentración de Se en cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC).....	46

## ABREVIATURAS

-(OH) Radical Hidroxilo	-(O <sub>3</sub> ) Ozono
-( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> ) Oxígeno Singulete	-(ONOO <sup>-</sup> ) Peroxinitrito
-( <sup>3</sup> O <sub>2</sub> ) Oxígeno triplete	-(Prx) Peroxirredoxina
-(AST) Aspartato aminotransferasa	-(ROOH) Hidroperóxido
-(Cat) Catalasa	-(Se) Selenio
-(I) Yodo	-(Se <sup>2+</sup> ) Seleniuro
-(Cr) Cromo	-(H <sub>2</sub> Se) Seleniuro de hidrógeno
-(Co) Cobalto	-(SeO) Selenio Elemental
-(ERN) Especies reactivas de nitrógeno	-(SeCys) Selenocisteína
-(ERO) Especies reactivas de oxígeno	-(SeMet) Selenometionina
-(GR) Glutación Reductasa	-(SeO <sub>3</sub> ) Selenito
-(GSH) Glutación Reducido	-(SeO <sup>2-</sup> <sub>4</sub> ) Selenato
-(GSH-Px) Glutación peroxidasa	-(SOD) Superóxido Dismutasa
-(GSSG) Glutación disulfuro	-(T <sub>3</sub> ) Triyodotironina
-(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Peróxido de Hidrógeno	-(TBARS) Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
-(HO <sup>-</sup> ) Ion Hidroxilo	-(Trx) Tiorredoxina
-(IgG) Inmunoglobulina G	-(VLDL) Lipoproteínas de muy baja densidad
-(LDL) Lipoproteínas de baja densidad	-(Zn) Zinc
-(LO•) Alcoxilo	-(S) Azufre
-(LOO•) Peroxilo	-(Pb) Plomo
-(MDA) Malondialdehído	-(As) arsénico
-(NO•) Óxido Nítrico	-(Ca) calcio
-(NO <sub>2</sub> •) Dióxido de Nitrógeno	-(Fe+3) Óxido de hierro
-(NADPH) Adenina dinucleótido fosfato reducido	-(Na) Sodio
-(O) Oxígeno	-(AGCC) Ácidos grasos de cadena cor
-(O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) Anión superóxido	



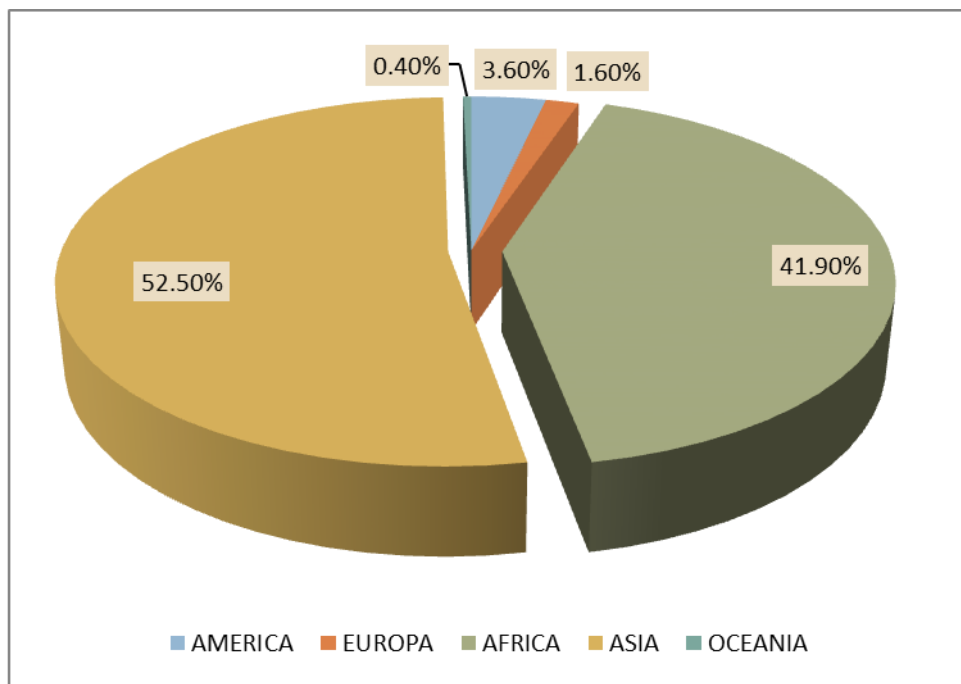
## **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación con selenio (Se) sobre indicadores de estrés oxidativo en plasma y eritrocitos de cabras lecheras antes y después del parto, con la finalidad de conocer el estatus y el comportamiento de este mineral durante el periodo del parto. Los biomarcadores evaluados fueron; la estimación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), la estimación de GSH reducido y la estimación de la actividad de la catalasa; además de la cuantificación de niveles de Se en sangre. Para la realización del presente estudio, se utilizaron 26 cabras hembras adultas, lecheras de raza alpina con diagnóstico positivo de gestación con un promedio de edad de 3.8 años y un peso promedio de 55 kg, las cuales se dividieron de forma aleatoria en 2 grupos experimentales: Grupo Selenio (GSe) al cual se le administró Selenio parenteral a una dosis de 0.25mg/kg con intervalos de 15 días antes y después del parto y un Grupo control (GC) sin tratamiento. Los resultados obtenidos para los diferentes biomarcadores evaluados demuestran que no hubo diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre grupos experimentales, sin embargo, se observaron diferencias por semana de estudio, tal es el caso de la evaluación de TBARS, donde se observó una disminución para GSe en comparación con GC, estos resultados nos indican que hubo cierto grado de protección contra radicales libres que se miden a través de las concentraciones de peroxidación lipídica, a su vez, el comportamiento en la actividad de GSH y CAT fue en aumento a medida que transcurrió el experimento, de lo anterior coincide con lo reportado en la literatura en la que refieren que el parto induce un estado de estrés metabólico y que este puede desencadenar estrés oxidativo, la concentración de Se en sangre ésta se mantuvo dentro de los parámetros normales reportados en la literatura y tuvo un incremento estadísticamente significativo ( $P>0.05$ ) en la diferentes semanas por grupos de estudio.

**Palabras Clave: Selenio, Cabras, Estrés oxidativo**

## INTRODUCCIÓN

Los caprinos fueron de los primeros animales en ser domesticados y desde la antigüedad han constituido unos de los animales más valiosos para el hombre gracias a su importancia económica y social. Con el tiempo, la cabra ha demostrado una gran resistencia y adaptabilidad a diversos ambientes, lo que le ha permitido sobrevivir incluso en condiciones agroecológicas desfavorables, donde otras especies animales han desaparecido. Actualmente, datos de la FAOSTAT (2018) estiman que existe una población mundial de 1,045,915,764 de cabras distribuidas de la siguiente manera (Figura 1):



**Figura 1.** Distribución de la población caprina en el mundo FAOSTAT 2018.

Es importante resaltar algunas de las ventajas comparativas de las cabras frente a otras especies, que le han permitido tener un amplio crecimiento y desarrollo, tales como: rusticidad, capacidad de adaptación a ambientes adversos, gran superficie de área en relación a su peso, su habilidad para conservar agua, son sexualmente precoces con lo que logran producir carne y leche a corta

edad y aprovechan mejor el pastoreo mediante el ramoneo de especies arbustivas no utilizadas por otros rumiantes (Jiménez *et al.*, 2013).

En México desde los primeros tiempos de la colonia, las cabras han constituido un importante recurso productivo a poblaciones principalmente en zonas áridas y semiáridas. El inventario caprino de acuerdo con el SIAP (2019) fue de 8, 791,894 de cabezas y se estima una producción total a nivel nacional de 39,937.00 toneladas de ganado en pie; los principales estados productores son: Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Guerrero, Coahuila, Zacatecas, Guanajuato y Michoacán (SIAP, 2019). La población caprina se ubica en el 4º lugar dentro de las especies domésticas de importancia económica en el país (De Lucas *et al.*, 2014).

Es importante mencionar que la producción caprina es el resultado de la interacción de diversos factores como: la reproducción, la genética, la conducta, la sanidad y la nutrición, donde los minerales constituyen parte fundamental de los nutrientes requeridos por los rumiantes, como el cobre (Cu), cobalto (Co), yodo (I), selenio (Se) y zinc (Zn), los cuales son esenciales para muchos procesos vitales y cuando estos faltan, los animales enferman (NRC, 2007; Pugh y Baird, 2012). Estos minerales son esenciales para la utilización y síntesis biológica de nutrientes, participan en el metabolismo animal como cofactores para mantener el equilibrio fisiológico de los animales; la deficiencia repercute en una mala función metabólica y una disminución de la producción que debe ser corregida a través de la suplementación (Hefnawy y Tórtora, 2010).

## **Selenio**

Es un elemento químico que fue descubierto en 1817 por el químico sueco Jons Jacob Berzelius con el número atómico 34 y un peso atómico 78.96, en la tabla periódica se encuentra ubicado en el grupo 16/VI, se asemeja estructuralmente al Azufre y está relacionado con el Telurio. Al igual que el Azufre, se presenta en varias formas alotrópicas diferentes: como polvo rojo-ladrillo,

como masa amorfa vidriosa, de color castaño oscuro llamada Selenio vitroso, como cristales monoclinicos rojos con una densidad relativa de 4.5 y como cristales de color gris metálico llamado selenio gris (Lyons *et al.*, 2007).

De forma natural el Se se encuentra en dos formas químicas, Se orgánico y Se inorgánico, particularmente el Se inorgánico puede ser encontrado en forma de selenito ( $\text{SeO}_3$ ), selenato ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) y seleniuro ( $\text{Se}^{2-}$ ), así como en la forma metálica ( $\text{Se}^0$ ). Es una parte integral de varios compuestos orgánicos que incluyen los aminoácidos como, la selenometionina (SeMet), selenocisteína (SeCys) y existe un estado de oxidación  $\text{Se}^{-2}$  (Lyons *et al.*, 2007).

Este mineral es ingerido por los animales a través de las plantas, las cuales lo toman del suelo en donde crecen, sin embargo, la mayor parte de los suelos alrededor del mundo tienen un bajo contenido del elemento, entre ellos México. Por el origen del suelo volcánico, la mayor parte del territorio mexicano, principalmente la zona del altiplano presenta problemas de carencia de Se, que se traducen en la presencia de cuadros clínicos y subclínicos (Ramírez *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2004), lo que obliga a suplementar este elemento. Sin embargo, no solo la cantidad del elemento en el suelo es importante, también existen diversos factores que pueden afectar la concentración de los minerales en los forrajes, como el tipo de suelo, la presencia de otros elementos competitivos, presencia de contaminantes, las sucesivas fertilizaciones, las especies forrajeras presentes, el clima, la estación del año y la edad de las plantas, son algunos de los factores que pueden modificar y anular la posibilidad de que los animales cubran sus necesidades en microminerales durante el año (Carbajal-Hermosillo *et al.*, 2013). Por lo tanto, el diagnóstico de la deficiencia debe fundamentarse en los niveles del elemento en los suelos, las plantas forrajeras y la condición del animal en sangre y tejidos (Hefnawy y Tórtora, 2010).

El Se cumple su función a través de las selenoproteínas (sistemas: antioxidante, inmunológico, endocrino, reproductivo, tiroideo) (Hefnawy y Tórtora, 2010). Muchas selenoproteínas, como la glutatión peroxidasa (GSH-Px), la selenoproteína W y la tioredoxina reductasa, están implicadas

en la regulación de la señalización oxido-reducción y la defensa antioxidante (López-Gutiérrez, 2012). Por lo tanto, la deficiencia de este elemento puede conducir a la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (ERO) y generar un desbalance entre los radicales oxidantes y los antioxidantes, al cual se le conoce como estrés oxidativo (Williams *et al.*, 2017).

Se ha demostrado que la deficiencia de Se en rumiantes, es causa de diversas enfermedades y signología como: distrofia muscular nutricional, anemia, mastitis, retención placentaria, infertilidad y pérdida de peso (Vignola, 2009). Durante el período de periparto en rumiantes, existe una alta demanda de nutrientes debido al crecimiento del feto y la producción de leche, una ingesta dietética reducida en Se predispone la aparición de enfermedades metabólicas, nutricionales e infecciosas que pueden comprometer la producción y/o la salud de la hembra y su descendencia. En esta situación, Araripe Sucupira y colaboradores (2019), observaron aumentos en la producción de ERO durante el periparto y en la demanda de sustancias antioxidantes endógenas y/o exógenas.

Para poder prevenir la deficiencia de Se y otras alteraciones patológicas, es importante la suplementación de los animales que habitan en regiones carentes del mineral, puede realizarse incorporando el elemento en la dieta (premezclas), el agua, sales minerales, bolos intrarruminales o mediante soluciones inyectables. La elección de la forma de suplementación dependerá de las condiciones productivas y la consecuente facilidad para su utilización (Hefnawy *et al.*, 2007).

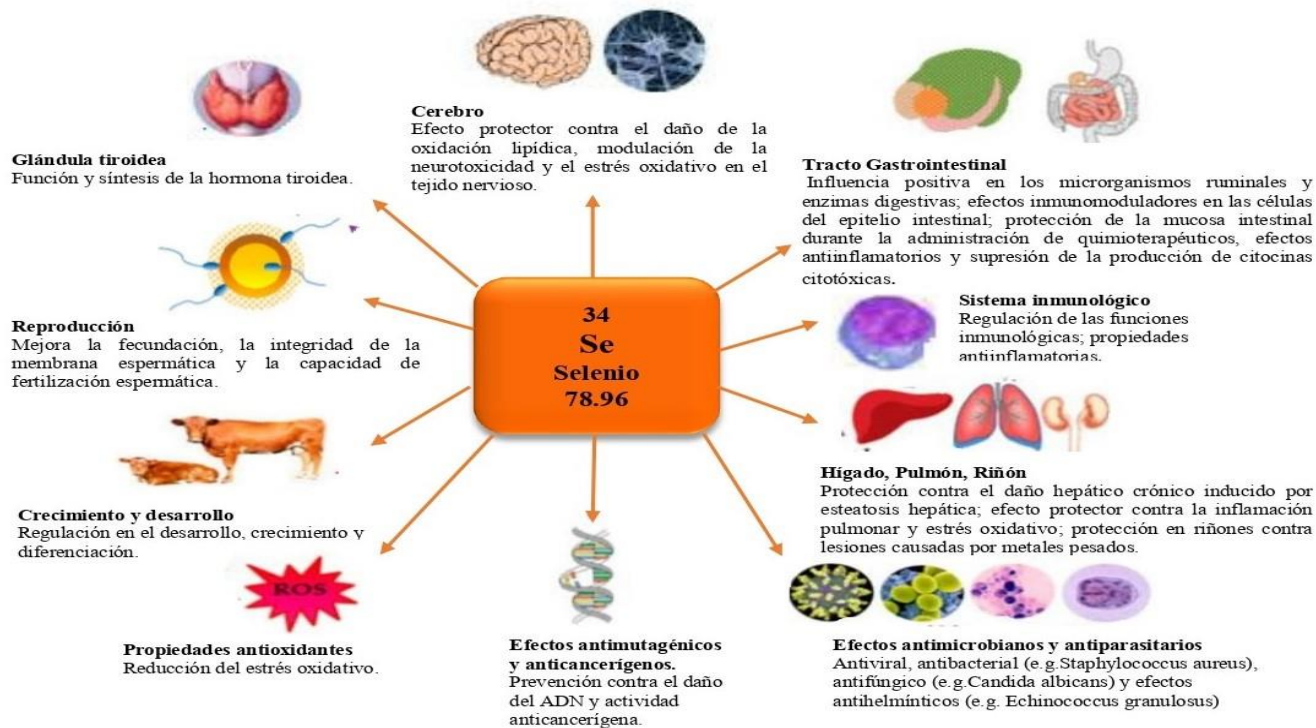
## **Funciones**

El Se es un microelemento requerido para varias funciones vitales del organismo, es el componente estructural de poco más de 30 selenoproteínas, muchas de ellas importantes por su actividad enzimática: la glutatión peroxidasa GSH-Px, reguladora de los procesos oxidativos

celulares; la peroxidasa y la reductasa tiroideas, críticas en la síntesis de las hormonas tiroideas, y las deiodinasas responsables de la activación de T<sub>3</sub> (Tabla 1) (Revilla-Vázquez *et al.*, 2008).

**Tabla 1.** Principales Selenoproteínas y su función (Modificado de Rodríguez, 2013).

<b>SELENOPROTEINAS</b>	<b>FUNCIONES</b>
GSH-Px <sub>1</sub> (citoplasmática) GSH-Px <sub>2</sub> (gastrointestinal) GSH-Px <sub>3</sub> (plasmática) GSH-Px <sub>4</sub> (hidroperoxidasa fosfolípido) GSH-Px <sub>6</sub> (olfato)	Eliminan Hidroperóxidos
GSH-Px <sub>5</sub> GSH-Px <sub>7</sub>	Eliminan Hidroperóxidos
Selenoproteínas de la cápsula mitocondrial del esperma	Protege el desarrollo de las células espermáticas del daño oxidativo
Iodotironina-desioinasa Tipo I (plasma, membrana) Tipo II (retículo endoplásmico) Tipo III (plasma, membrana)	Producción y regulación de la conversión de T <sub>3</sub> a T <sub>4</sub>
Tioredoxina-reductasa 1 (citoplasmático) 2 (mitocondria)	Control redox de grupos tioles
Selenofosfato-sintetasa SPS2	Síntesis del selenofosfato precursor de la selenocisteína
Selenoproteína P	Proteína de transporte y protege las células endoteliales frente al ataque de peroxinitritos
Selenoproteína S	Producción de citoquinas
Selenoproteína W	Antioxidante (Músculo esquelético, corazón y cerebro)
Selenoproteína K	Modula Ca <sup>2+</sup> en la afluencia de la función inmune celular



**Figura 2. Efectos fisiológicos del selenio.** Se observan los efectos fisiológicos del selenio en el organismo, resaltando sus propiedades antioxidantes, antimutagénicas, anticancerígenas, antimicrobianas y antiparasitarias. Además, participa en el metabolismo, crecimiento y desarrollo, protege a los órganos del estrés oxidativo y mejora la fertilidad (Tomado y modificado de Hosnedlova *et al.*, 2017).

## El Selenio y la Respuesta Inmune

En numerosas especies estudiadas la deficiencia de Se aparece asociada a una reducción de la función inmune. En vacas deficientes en este oligoelemento se ha descrito una reducción de la actividad GSH-Px en las células fagocitarias junto con una disminución de la capacidad bactericida de los neutrófilos frente a distintos agentes etiológicos como *Candida albicans*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (López *et al.*, 1997). Se ha demostrado además que, tanto la respuesta inmune celular como la humoral están incrementadas en animales que reciben suplementos con Se, estos han demostrado ser

relevantes para asegurar la resistencia a diversas enfermedades y la eliminación de patógenos (inmunidad no específica), asociado con la integridad de diferentes mecanismos y células participantes en la respuesta inmune. La deficiencia en este elemento afecta los niveles de IgG y la función de las células T (Hefnawy *et al.*, 2010; López *et al.*, 1997). En un estudio realizado por Díaz y colaboradores, (2017) se evaluó la respuesta antigénica frente a *Mannheimia haemolytica* y el estrés oxidativo en cabritos suplementados con selenio, y se observó un incremento de IgG días posteriores a la administración de Se, además de mejorar la respuesta inmunológica contra *M. haemolytica*.

### **Absorción, Metabolismo y Excreción**

La digestibilidad y absorción del Se en los rumiantes es baja, esta oscila alrededor del 29% del total contenido en la dieta, debido al ambiente retículo-ruminal, que genera formas no solubles seleniuros ( $\text{Se}^{2-}$ ). Dentro de los rumiantes, los ovinos y caprinos parecen ser más sensibles al padecimiento por la deficiencia del mineral (Ramírez *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2004). El glutatión (GSH) es el principal componente del metabolismo del selenio. Participa en una serie de reacciones de reducción (Mehdi *et al.*, 2013).

En el caso del selenito ( $\text{SeO}_3$ ), estas reacciones lo convierten en seleniuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{Se}$ ). El  $\text{H}_2\text{Se}$  asegura el suministro de selenio activo para la síntesis de selenoproteínas. La absorción se produce principalmente en el duodeno y el ciego, principalmente por transporte activo a través de una bomba de sodio. Los mecanismos de absorción intestinal del selenio no son bien conocidos y son variables según la forma química del elemento. El  $\text{SeO}_3$  se absorbe por simple difusión, mientras que el selenato ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) lo hace por un cotransporte con los iones de sodio. Mientras que las formas orgánicas (SeCys y SeMet) siguen los mecanismos de captación de los aminoácidos, se absorben en el intestino delgado por el sistema dependiente del Na. (Gresakova *et al.*, 2013; T. Zane, 2017; Mehdi *et al.*, 2013). Dentro del organismo animal, el mayor contenido



de Se se encuentra principalmente en riñón e hígado (T. Zane *et al*, 2017). Algunos elementos disminuyen la tasa de absorción del selenio. Es el caso del azufre (S), el plomo (Pb), el arsénico (As), el calcio (Ca) y el óxido de hierro (Fe+3). El  $\text{SeO}_3$  es captado rápida y selectivamente por los eritrocitos. Es reducido por el GSH y la glutatión reductasa (GR) y transportado en el plasma en forma de  $\text{Se}^{2-}$  que se une selectivamente a la albúmina. Posteriormente, se transporta al hígado y a la sangre en forma de selenoproteína P. El Se también se une a las  $\alpha$  y  $\beta$  globulinas ya que tienen una gran afinidad, y a las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad). Entre el 1% y el 2% del selenio del plasma se une a la GSH-Px (Mehdi *et al.*, 2013).

El selenio se elimina del cuerpo por medio de la exhalación, orina y heces, dependiendo de la vía de administración y la dosis administrada. Se ha observado que la excreción biliar de Se corresponde a un porcentaje del 28% de la ingestión total consumida. A pesar de que las pérdidas de Se por orina suelen corresponder a una cantidad mínima, a comparación de las pérdidas por heces en rumiantes, donde pueden constituir de un 40-50% de la ingestión total del Se (Underwood, 2003).

### **Efecto del selenio sobre la fermentación ruminal**

El selenio puede influir en la fermentación microbiana del rumen. Datos reportados por Hosnedlova y colaboradores en 2017, muestran que la administración de SeMet aumentó la producción *in vitro* de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) por la microflora ruminal. Por el contrario, los efectos del selenito y el selenio elemental en las cantidades crecientes de estos ácidos no fueron significativos. La velocidad de fermentación fue más rápida en presencia de SeMet en comparación con el selenio elemental y selenito, la meseta de fermentación de SeMet se alcanzó en 30 h, mientras que para otros dos minerales no se alcanzó hasta al menos 36 h.

Según Galbraith y col. 2016, una gran cantidad de aminoácidos, que son liberados por proteólisis microbiana en el rumen, se reutilizan para la síntesis de proteínas microbianas. La SeMet no se absorbe *in situ* en un grado apreciable en el rumen, las bacterias reducen el  $\text{SeO}_4^{2-}$  a través de selenito  $\text{SeO}_3$  a  $\text{SeO}$ , que también puede incorporarse a las proteínas como parte de los aminoácidos de SeCys o SeMet. Esto ocurre como resultado de la reducción de  $\text{SeO}_3$  con GR para producir selenodiglutatión, que posteriormente se reduce a glutatioselenol (GS-SeH), que se reduce aún más a  $\text{H}_2\text{Se}$ , proporcionando los intermedios reactivos necesarios para la incorporación de selenio en aminoácidos o una mayor reducción al  $\text{SeO}$ . Cuando se administra una dieta alta en selenio al ganado de carne, la cantidad de microorganismos reductores de selenio aumenta (Hidiroglou *et al.*, 1973). Otro trabajo realizado por Edwards y colaboradores en 2011, midieron la concentración de Se y GSH-Px en sangre de ovinos durante 60 meses, utilizando dos suplementos “Rumetrace” que son bolos intraruminales de Se y “Permatrace” pellets que contenían 0.5g de  $\text{SeO}$ , los resultados obtenidos demuestran que la biodisponibilidad depende del tipo de suplemento utilizado. Rumetrace proporcionó una liberación relativamente consistente y sostenida de Se durante un periodo de 5 años, mientras que Permatrace tuvo una duración mucho más corta de suplementación (42 meses). El contraste de la respuesta fisiológica a la suplementación de Se implica que hubo una diferente eficiencia y longevidad del perfil de liberación de Se de los dos tipos diferentes de suplemento.

## **Enfermedades Relacionadas con la Deficiencia de Selenio en Pequeños Rumiantes**

### **Mastitis**

La consecuencia más importante de la reducción de la actividad inmune en animales con bajos niveles de Se la constituye el aumento en la incidencia de patologías mamarias. Las células de la glándula mamaria están sometidas a una intensa actividad metabólica. La disminución en la actividad de la GSH-Px representa el factor etiológico más importante en este tipo de procesos, resultado de la influencia de esta enzima sobre la actividad de los leucocitos polimorfonucleares, considerados de primera importancia en la fagocitosis y muerte intracelular de los patógenos mamarios. Existe una correlación negativa entre los niveles bajos de Se y la incidencia de mastitis subclínica diagnosticada mediante recuento celular somático (SCC) al microscopio. Experimentalmente se comprobó que la suplementación con Se puede aumentar la producción de leche y disminuir la incidencia de patologías mamarias (López, 1997; Zhang *et al.*, 2018). La administración de selenio a vaquillas y vacas antes del parto redujo la prevalencia de infecciones intramamarias y un alto recuento de células somáticas (SCC) durante la lactancia (Ceballos *et al.*, 2009; Ceballos, 2010). La aplicación de Se junto con Zn, Mn y Cu tuvo un impacto positivo en la reducción de las puntuaciones de células somáticas (SCS) y la incidencia de mastitis (Machado *et al.*, 2013). En las cabras que se administraron selenio y vitamina E, se observaron recuentos de células somáticas significativamente más bajos en comparación con el grupo control (Tufarelli *et al.*, 2011).

### **Trastornos Reproductivos en el macho**

Se han realizado diversos estudios sobre el efecto de la suplementación con Se en la calidad del semen y el rendimiento reproductivo en el ganado bovino y se conoce que, tanto el testículo como el epidídimo requieren de Se para poder sintetizar una variedad de selenoproteínas (**véase Tabla 1**), que desempeñan un papel importante en la espermatogénesis y la maduración espermática

post-testicular. Por lo tanto, está claro que la deficiencia de Se en el testículo puede comprometer su papel antioxidante.

Lukusa y Lehloenya (2017) demostraron que la suplementación con Se aumentó las concentraciones de testosterona en el plasma sanguíneo de cabras Saanen, además la glutatión peroxidasa GSH-Px aumentó con la suplementación con Se, lo cual se vio reflejado en el tamaño testicular y volumen de eyaculado, dado que hubo una protección de la GSH-Px contra las especies reactivas de oxígeno. Los resultados también revelaron un aumento en las concentraciones plasmáticas de LH en el grupo suplementado con Se.

### **Miopatía Degenerativa Nutricional o Enfermedad del Músculo Blanco**

Es un trastorno ocasionado por la deficiencia de Se que afecta a cabritos principalmente de 3 días a 6 meses de edad, causa elevada mortalidad por lesiones degenerativas, principalmente en el miocardio. Durante la deficiencia del mineral, la falta de protección contra el daño celular conduce al daño de la membrana y la necrosis. Las células con la tasa más alta de metabolismo oxidativo son las más susceptibles al daño, particularmente en la musculatura esquelética, cardíaca y respiratoria (Díaz Aparicio *et al.*, 2015).

Los signos clínicos en músculo esquelético son; postración, dificultad para levantarse, marcha forzada y muerte súbita. En la presentación cardíaca hay muerte súbita entre los 2 y 6 meses de edad, los principales signos son; taquicardia, taquipnea y debilidad. Las lesiones a la necropsia, son: áreas pálidas o blanquecinas en el miocardio, ascitis, hidrotórax con edema pulmonar o congestión, hígado friable, en el músculo esquelético se observan rayas pálidas blanquecinas, particularmente en las extremidades posteriores y el área lumbar (Mattews, 2016).

El diagnóstico se basa en la signología clínica y las lesiones a la necropsia, además se han reportado datos basados en el diagnóstico de laboratorio en los cuales indican que hay niveles bajos de Se en sangre, además, están marcadamente elevados los niveles de aspartato amino

transferasa AST, niveles bajos de GSH-Px y niveles por debajo de 500 nmol/kg de Se en hígado (Mattews, 2016). Ramírez y colaboradores en 2001 encontraron que la distrofia muscular nutricional causada por la deficiencia de Se era la principal causa de muerte en cabritos entre 28 y 90 días de edad, lo que representa grandes pérdidas económicas.

## **Suplementación**

La correcta suplementación de Se en caprinos ha sido relevante para las unidades de producción, ya que juega un papel importante en el estado físico y funcional, teniendo repercusiones en la reproducción, inmunidad, crecimiento y la miopatía nutricional en los rumiantes, así mismo interviene con los mecanismos de los procesos antioxidantes. Es por ello que la dosis adecuada de Se a suplementar provee a los animales bajo grado de deficiencias y de toxicidad (Hosnedlova *et al.*, 2017; Mc Comb *et al.*, 2010).

La deficiencia de Se ocurre cuando el suelo y forrajes son pobres o contiene altos niveles de otros minerales que compiten con el mineral. Concentraciones de <0.5 mg/kg en el suelo o <0.1 ng/kg en plantas se consideran insuficientes (Ramírez *et al.*, 2001; 2004).

Las recomendaciones actuales basadas en la NRC 2007, para una correcta suplementación de Se en caprinos es de 0.1 a 0.3 ppm en materia seca, considerando las concentraciones presentes en forrajes, los sistemas de alimentación, edad, sexo y si se encuentra en gestación. Aunque la suplementación de Se es importante para la salud animal, se deben implementar productos con alto margen de seguridad y realizar una correcta dosificación, ya que se presentan signos de toxicidad cuando se alcanzan niveles de 4 ppm de Se (McComb *et al.*, 2010; Valadez, 2005).

Las deficiencias fisiológicas y de salud en los animales contribuyen a implementar técnicas o métodos de suplementación para el correcto aporte de Se. Está permitida la utilización de tres fuentes para la suplementación de este elemento; de manera orgánica la selenometionina y la selenocisteína, y de manera inorgánica selenito de sodio y selenato de sodio, teniendo su

biodisponibilidad a través de fertilizantes en los suelos, en la dieta, parenteral y bolos intrarruminales (Valadez, 2005; López *et al.*, 2012; Ramírez, E. 2007). Actualmente, la mayoría de los preparados comerciales de Se son elaborados con selenito de sodio (Carbajal *et al.*, 2013).

## **Vías de Administración en Caprinos**

### **Bolos intrarruminales de liberación continúa**

Su función es mantenerse en retículo-rumen por densidad considerando las características anatómicas de los rumiantes, donde el Se es liberado de manera controlada y lenta al torrente sanguíneo, manteniendo la biodisponibilidad de los minerales de manera directa (Valadez, 2005; Ramírez E., 2007).

### **Mezclas de sales minerales**

Son agregadas en la ración diaria de los animales, se sugiere la cantidad de 0.1 a 0.5 ppm (Ramírez E., 2007).

### **Administración parenteral**

Este método es mayormente utilizado para restaurar las concentraciones del Se, con el objetivo de corregir deficiencias severas o agudas en el rebaño, aplicándose en hembras durante la gestación, ya que su demanda es mayor para el correcto desarrollo del cabrito evitando complicaciones al parto y al crecimiento, algunas veces resultan bajos los niveles de selenio en el tratamiento parenteral, es por ello que se requiere repetir nuevamente la dosis a intervalos de semanas (Ramírez E., 2007; Carbajal, 2013). En México se recomienda una dosis de 0.25 mg/kg de peso vivo de Se en animales aparentemente sanos y a una dosis de 0.5 mg/kg en animales con signología de distrofia muscular nutricional, a partir de 3mg/kg, de peso corporal pueden ocurrir cuadros de toxicidad aguda (Ramírez E., 2007; Carbajal, 2013).

## El Selenio y el estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un estado de la célula en la cual se encuentra alterada la homeostasis de óxido-reducción (redox) intracelular, es decir el balance entre prooxidantes y antioxidantes. Este desbalance se produce a causa de una excesiva producción de especies reactivas de oxígeno ERO y/o por deficiencia en los mecanismos antioxidantes, conduciendo a un daño celular (Ríos, 2003; Liberman, 2013). Es un campo activo de investigación en medicina de rumiantes y se ha implicado en numerosos procesos de enfermedades que incluyen sepsis, mastitis, acidosis, cetosis, enteritis, neumonías, enfermedades respiratorias y articulares (Talukder *et al.*, 2015).

El proceso de estrés oxidativo puede dividirse en tres etapas o niveles: adaptación, agudo y crónico, tomando en consideración el daño estructural y funcional de la célula ejercido como consecuencia de la reactividad de las diferentes ERO, así como del tiempo de exposición. (Hicks, 2007).

**Adaptación:** Es la respuesta de la célula para equilibrar la sobreproducción de especies reactivas que han rebasado a los sistemas antioxidantes, presentando una protección parcial o total contra el daño, cuando no es posible esta adaptación, el daño se presenta de manera irreversible (Hicks, 2007).

**Agudo:** Debido a una expresión menor del estrés oxidativo, se presentan cambios sutiles de manera estructural y funcional, mediado por las ERO; anión súper oxido  $O^{2*-}$  y el peróxido de hidrogeno  $H_2O_2$  (Hicks, 2007).

**Crónico:** Es mediado por el radical hidroxilo  $HO\bullet$ , se manifiesta por presentar modificaciones de las biomoléculas, induciendo la liberación consecuente de una segunda generación de productos de oxidación, moléculas muy reactivas que amplifican el daño en células y tejidos, por lo que el daño celular es irreversible (Hicks, 2007).



**Figura 3.** Etapas del estrés oxidativo en las células, (Tomado y modificado de Hicks, 2007).

### **Importancia del Selenio durante el parto**

Durante el parto en rumiantes, existe una alta demanda de nutrientes debido al crecimiento del feto y la producción inicial de leche. Cuando estos hechos se asocian a una ingesta dietética reducida y/o una adaptación metabólica deficiente a la nueva condición fisiológica, predispondrán a la aparición de enfermedades metabólicas, nutricionales e infecciosas que comprometen la producción y/o la salud de la hembra y su descendencia. En esta situación, aumenta la producción de ERO, por lo tanto, la demanda de sustancias antioxidantes endógenas y exógenas crecerá. En este contexto, si tales sustancias antioxidantes se vuelven insuficientes, se desencadena un proceso de estrés oxidativo (Araripe *et al.*, 2019).



Las observaciones realizadas por Carbajal (2013), sugieren que las hembras en gestación presentan una reducción de sus niveles plasmáticos de Se a medida que progresa la gestación. En un estudio realizado por Jovanović y col. (2015), indican que la suplementación previa al parto con Se en vacas lecheras alimentadas con dietas bajas en el mineral, puede reducir la incidencia de retención placentaria, después del parto espontáneo o inducido. Las vacas con membranas fetales retenidas tuvieron menor actividad de GSH-Px en los tejidos maternos y placentarios en comparación con las vacas sin placenta retenida.

Se ha descrito que el ciclo reproductivo (gestación y lactancia) juegan un papel importante en el equilibrio antioxidante de los animales. Durante esta etapa las cabras se encuentran en un estrés constante y esto puede dar lugar a una mayor producción de radicales libres, lo que lleva al daño celular (Al-Hassan, 2018).

Un estudio reveló que una gestación tardía era causa de estrés crónico en el sistema antioxidante de las ovejas, el cual se vio reflejado con el aumento de los niveles de malondialdehído (MDA) que se puede medir a través de las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Al-Hassan, 2018).

## **La Formación de Radicales Libres y las Especies Reactivas de Oxígeno (ERO)**

Los radicales libres son moléculas que contienen un electrón no apareado, esta característica los hace sumamente reactivos y capaces de dañar a otras moléculas transformándolas a su vez en moléculas muy reactivas, una reacción en cadena que causa daño oxidativo, desde células hasta tejidos. Sin embargo, estas especies reactivas también se pueden formar como productos del metabolismo de los radicales libres, véase Figura 4, lo que les confiere la característica de ser compuestos muy dañinos para las células (Martínez, 2003).



**Figura 4.** Representación esquemática sobre las especies reactivas de oxígeno más comunes generadas en el sistema biológico. (Maurya, P. K., & Chandra, P, 2017).

## Principales Especies Reactivas de Oxígeno (ERO)

Se consideran ERO al oxígeno atómico (O) y al ozono ( $O_3$ ), que se genera con la unión del O al  $O_2$ , al oxígeno singulete ( $^1O_2$ ), que se produce con la excitación de uno de los electrones desapareados del O, y al anión superóxido ( $O_2^-$ ), al peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y al radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ) que son especies parcialmente reducidas. También el oxígeno forma compuestos con el nitrógeno y éstos pueden ser más reactivos que el O en su estado basal de energía. Estas especies son el monóxido de nitrógeno u óxido nítrico ( $NO\cdot$ ), el dióxido de nitrógeno ( $NO_2$ ) y el peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), y se reconocen como especies reactivas del nitrógeno (ERN) (Koninsberg, 2008).

## Peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ )

El  $H_2O_2$  no es un radical libre en sí mismo, ya que ninguno de sus electrones se encuentra desapareado, pero se le considera una ERO, ya que es un precursor potencial de radicales libres, en especial de radical hidroxilo, que es de los radicales más dañinos para las células. A diferencia de los radicales libres que no pueden atravesar las membranas biológicas por que reaccionan con los lípidos que las forman, el  $H_2O_2$  si puede hacerlo y es ahí donde radica una de sus propiedades más importantes, ya que puede generarse en un compartimiento celular y difundir

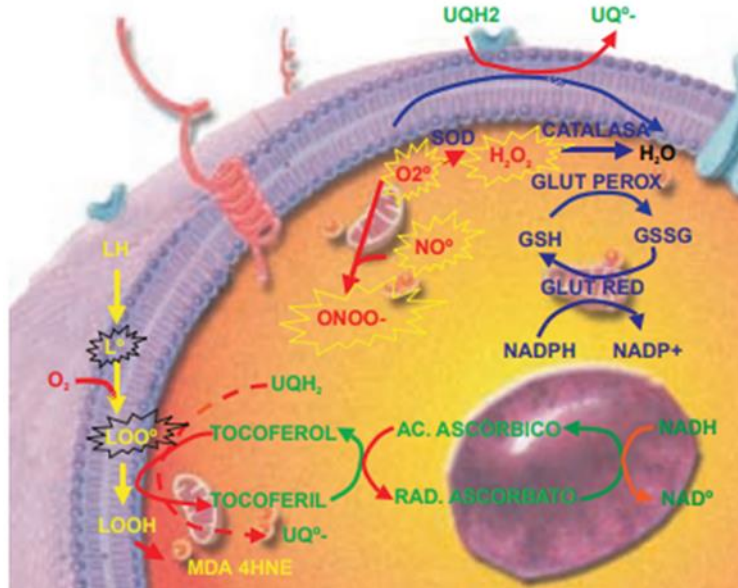
hacia otro dependiendo de las concentraciones, así como de las enzimas antioxidantes que puedan metabolizar (Álvarez *et al.*, 2012).

## **Daño Oxidativo**

Un estado de estrés oxidativo, induce en la célula efectos tóxicos por oxidación de lípidos, proteínas, carbohidratos y nucleótidos, lo cual produce acumulación de agregados intracelulares, disfunción mitocondrial, citotoxicidad y apoptosis (Martínez, 2003).

La oxidación de los lípidos es lo que hace que los productos pierdan algunas de sus propiedades, a este proceso se le conoce como lipoperoxidación, y se inicia cuando el ácido graso insaturado de un fosfolípido, que forma parte de la membrana, es atacado por un radical libre. El proceso de lipoperoxidación es un evento que también se lleva a cabo en cadena y se va amplificando. En la mayoría de los casos los productos que se generan modifican a la membrana y causan alteraciones importantes como cambios en la fluidez y permeabilidad de la misma. Cuando se pierde la fluidez, se altera la estructura de las proteínas transmembranales. La peroxidación de los lípidos es una de las principales razones del daño celular, que puede conducir a la pérdida de sus funciones y con ello ser responsable de una gran cantidad de patologías (Koninsberg, 2008; Álvarez *et al.*, 2012).

El daño provocado a nivel del ADN por los radicales libres puede generar mutaciones somáticas, que llevan a la síntesis de proteínas defectuosas, y a la generación de transformaciones malignas. En proteínas y carbohidratos, los radicales libres pueden inducir fragmentación con la pérdida de la función de estas moléculas. Los aminoácidos aromáticos, la cisteína, los enlaces disulfuro y los enlaces peptídicos son fragmentados por los radicales libres alterándose su estructura y su función (González-Torres, 2000).



**Figura 5.** Resumen de la interrelación que existe entre las principales especies reactivas de oxígeno y nitrógeno con los sistemas de defensa antioxidante. El esquema muestra en rojo las ERO: superóxido ( $O_2^\bullet$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). En anaranjado las ERN: óxido nítrico ( $NO^\bullet$ ), y peroxinitrito ( $ONOO^-$ ). En amarillo productos metabólicos de las anteriores como lípidos oxidados (LH,  $L^\bullet$  y  $LOO^\bullet$ ), así como los productos finales de su oxidación como: malondialdehído, (MDA) y 4-hidroxi-nonenal (4HNE). En azul se muestran los sistemas de defensa antioxidante enzimáticos tales como: superóxido dismutasa (SOD), catalasa, glutatión peroxidasa y los sistemas antioxidantes no enzimáticos; en verde ubiquitina ( $UQH_2$ ), tocoferol, ácido ascórbico y dinucleótido de nicotín adenina (NADP) (Rivas, 2001).

## Antioxidantes no enzimáticos

Entre los principales antioxidantes no enzimáticos, los más abundantes son el glutatión y la tiorredoxina. El glutatión es un dipéptido que contiene cisteína que aumenta las actividades de la GSH-Px y también mantiene las proteínas celulares en estado reducido. El reciclaje de glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH) requiere NADPH en presencia de enzima glutatión reductasa (GR) y por lo tanto, esta conversión es costosa para las células.

**Tabla 2.** Principales oxidantes, prooxidantes y antioxidantes en las células de los mamíferos, tomado de (Koninsberg, 2008).

Oxidantes	Antioxidantes
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peroxinitrito</li> <li>• Radical hidroxilo</li> <li>• Radical peroxilo</li> <li>• Radical alcoxilo</li> <li>• Hidroperoxidos orgánicos</li> <li>• Oxígeno singulete</li> </ul>	Enzimáticos
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Superóxido dismutasas (Mn-SOD y Cu, Zn-SOD)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>• Catalasa</li> </ul> </li> <li>• Glutación peroxidasas (Se-dependiente y Se-independiente)</li> </ul>
Prooxidantes	No enzimáticos
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Radical superóxido</li> <li>• Peróxido de hidrogeno                             <ul style="list-style-type: none"> <li>• Óxido nítrico</li> </ul> </li> <li>• Ubisemiquinona</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glutación reducido                             <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\alpha</math>-tocoferol</li> <li>• Ácido ascórbico</li> </ul> </li> </ul>

### Biomarcadores de Estrés Oxidativo

La cuantificación de biomarcadores de estrés oxidativo resulta una herramienta bastante útil, en la evaluación del daño causado por el estrés oxidativo. Entre estos destacan (Martínez, 2003):

a) La concentración de nitritos.

b) La concentración de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) que refleja el nivel de peroxidación lipídica.

c) La concentración de enzimas antioxidantes glutación peroxidasa GSH-Px, catalasa y superóxido dismutasa (SOD).

## **Catalasa (CAT)**

La catalasa es una enzima importante que actúa para disociar el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en oxígeno molecular ( $O_2$ ) y agua ( $H_2O$ ). La catalasa tiene un peso molecular igual a 250 kDa y consta de cuatro grupos de hemoproteínas. Está presente en las plantas y las células animales, como los eritrocitos, las células renales y las células hepáticas. La catalasa también es producida por un amplio espectro de organismos procariotas y eucariotas. La CAT contiene un grupo hemo en su sitio activo y en células eucariotas se encuentra principalmente confinada en los peroxisomas. Los peroxisomas encierran una serie de enzimas oxidasas que catalizan reacciones metabólicas del catabolismo de las purinas, la  $\alpha$ - y  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos, entre otras. Es una enzima intracelular que se ha descubierto en la mayoría de los anaerobios facultativos y todas las bacterias aeróbicas, pero no está presente en los anaerobios obligados. La catalasa es el segundo antioxidante enzimático más abundante (después de la SOD), que atenúa los niveles de ERO que acompañan ubicuamente los diversos trastornos patológicos. (Haenlein y Anke, 2011; McKenzie *et al.*, 1998; Koninsberg, 2008; Hadwan, 2018).

## **Glutación (GSH)**

El glutación (L-glutamil-cisteínil-glicina; GSH) es un componente celular esencial que es responsable del mantenimiento de los grupos sulfhidrilos (-SH) en la forma reducida funcional y, en el caso del eritrocito, de los grupos -SH de hemoglobina, se utiliza para proteger los grupos tiólicos de las proteínas intracelulares, desintoxicar los xenobióticos, contrarrestar los fenómenos oxidantes y eliminar el  $H_2O_2$  y otros peróxidos orgánicos (Demir, 2019; De la Haba, 1991).

La glutación reductasa (GR) se encuentra en el NADPH dependiente de la familia de la oxidorreductasa. La enzima cataliza la reducción del disulfuro de glutación a la forma sulfhidril de glutación. La GR tiene varias funciones importantes de la célula, como la biosíntesis de proteínas y ADN, la desintoxicación de especies reactivas de oxígeno y de radicales libres. La GSH tiene

múltiples funciones en la regulación de la homeostasis celular. Las funciones antioxidantes de la GSH se expresan ya sea por la interacción directa con los EROS o por la donación de electrones a otros sistemas redox, como la glutatión peroxidasa (GSH-Px) y la glutaredoxina (GRX). En adición a la antioxidación y la donación de electrones, la GSH también es necesaria para mantener la homeostasis en los animales, así como la desintoxicación, formando conjugados con tóxicos y suprimiendo la apoptosis (Chatterjee, 2013; Demir, 2019).

## **JUSTIFICACIÓN**

Diversos estudios reconocen la deficiencia de selenio en gran parte del territorio mexicano y su repercusión en la producción animal, principalmente en rumiantes, provocando signología y enfermedades como: músculo blanco, infertilidad, retención placentaria, mastitis y una disminución en la respuesta inmune. Por lo que, se considera importante conocer el efecto de la suplementación con selenio en cabras lecheras antes y después de la gestación y su efecto sobre algunos biomarcadores de estrés oxidativo, considerando que el selenio, a través de proteínas con función antioxidante, regula la formación de radicales libres que se producen durante el metabolismo mejorando el balance oxidativo en el organismo animal.

## **HIPÓTESIS**

“Sí se suplementa con selenio a cabras lecheras antes y después del parto, mejorará la actividad antioxidante, lo cual se verá reflejado en los biomarcadores de estrés oxidativo estudiados (GSH, TBARS y CAT) medidos en plasma y eritrocitos”



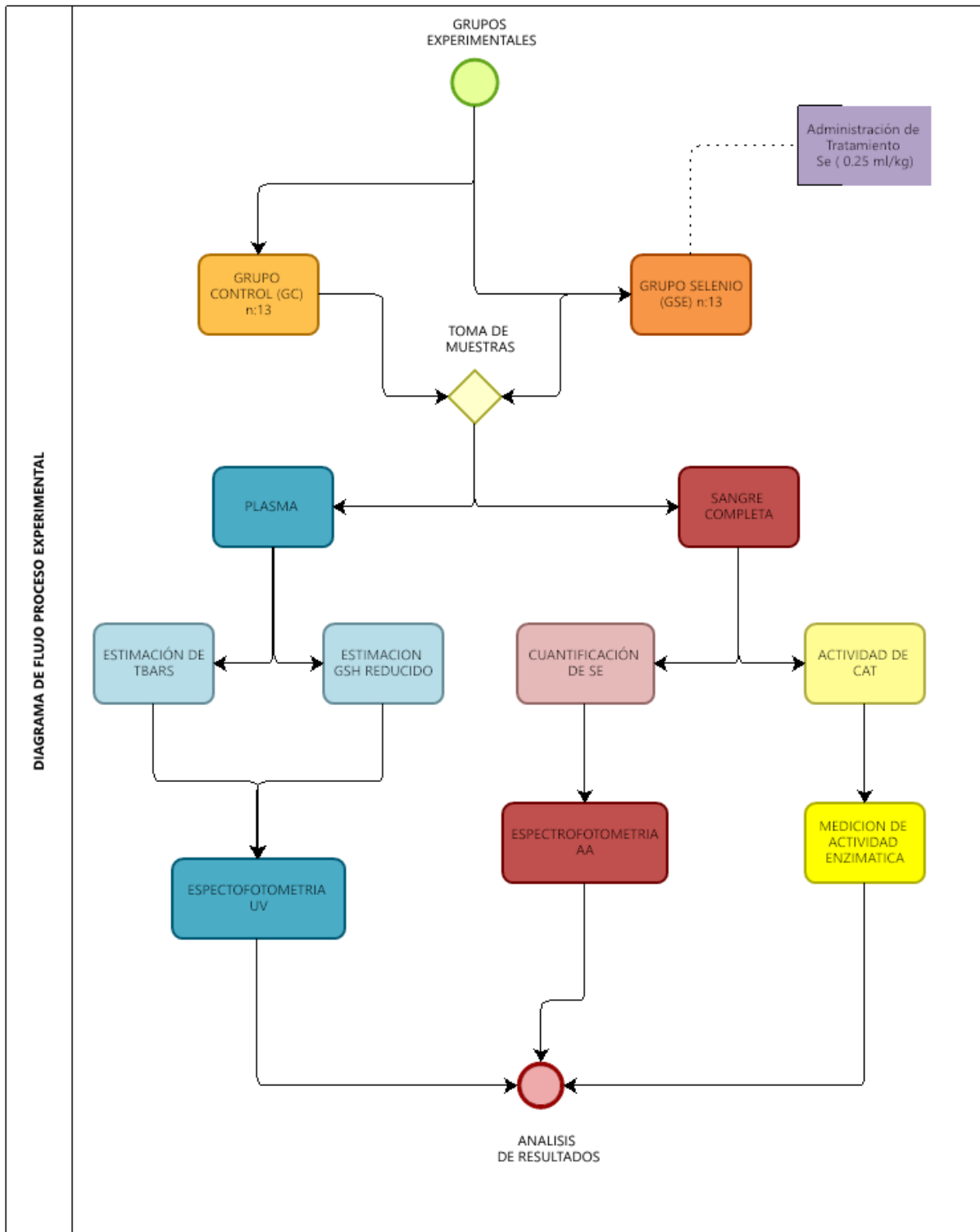
## **OBJETIVOS**

### Objetivo General:

Evaluar el efecto de la suplementación con selenio sobre los biomarcadores de estrés oxidativo en plasma y eritrocitos de cabras lecheras antes y después del parto.

### Objetivos Particulares:

1. Estimar la cantidad de TBARS en plasma de cabras antes y después del parto con objetivo de estimar el estado de peroxidación lipídica.
2. Cuantificar la concentración de GSH reducido en plasma como indicador asociado al estado redox en cabras lecheras antes y después del parto.
3. Estimar la actividad de la enzima catalasa en eritrocitos de cabras como indicador asociado al estado redox antes y después del parto.
4. Cuantificar los niveles de Se en sangre completa de cabras antes y después del parto.



**Figura 6.** Diagrama de flujo proceso experimental.

## METODOLOGÍA

### Norma de ética y bienestar experimental

Los animales fueron manejados bajo las normas del Comité Interno para el Cuidado y uso de los Animales de Experimentación (CICUAE) aprobado por la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México (FESC-UNAM), con clave de registro CICUAE C18\_09.

### Animales y localización

Se utilizaron 26 cabras hembras adultas lecheras raza alpina con 50 kg en promedio de peso y 3.8 años de edad, con una condición corporal de 2.5 en promedio, el experimento se desarrolló en la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios superiores Cuautitlán (FESC) Ubicada en la Carretera, Cuautitlán-Teoloyucan Km 2.5, San Sebastián Xhala, 54714 Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

### Alimentación de los animales

Los animales fueron suministrados con una dieta específica para cabras en gestación en el módulo de producción caprina de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Tuvieron acceso al agua *ad libitum*.

**Tabla 3.** Ración para cabras en producción con 1.5 L de leche, 3.5% de grasa y 3.8% de proteína.

<b>Ingredientes</b>	<b>Inclusión (%MS)</b>	<b>Inclusión(g.MS)</b>	<b>PC %</b>	<b>Inclusión (kg.BH)</b>	<b>%TCO</b>
<b>Alfalfa henificada</b>	18	288	14	320	10.2
<b>Concentrado</b>	38	608	18	690	22

<b>Ensilado de maíz</b>	44	704	8	2130	67.8
-------------------------	----	-----	---	------	------

### **División de grupos experimentales**

Los animales fueron divididos en dos grupos, cada uno con 13 animales: grupo experimental (GSe) al cual se les administró Selenio parenteral a una dosis de 0.25mg/kg con intervalos de 15 días antes y después del parto y un grupo control (GC). Permanecieron alojadas en corrales cuyas dimensiones son 5m x 9m (45m<sup>2</sup>); a cada una se les realizó un diagnóstico de gestación para determinar las hembras positivas además de la toma de un pesaje inicial, para lo cual se utilizó una báscula electrónica digital con precisión mínima de 100 g y una máxima de 300 kg (*Tabla 4*). Posterior a esto se hizo seguimiento del peso durante 4 meses y se realizó un análisis de comparación entre grupo selenio (GSe) con 55 kg peso promedio y grupo control (GC) con 54.9 kg.

### **Toma de muestras**

Las muestras de sangre completa se tomaron por medio de una punción en la vena yugular externa utilizando agujas estériles BD Vacutainer® calibre 20Gx38 mm y tubos al vacío de 6 mL con Heparina BD Vacutainer®.

Las muestras se recolectaron en la mañana, fueron identificadas con el número de arete de la cabra, fecha y número de corral, y almacenadas a 4°C. Una vez recolectadas las muestras se llevaron al Laboratorio No. 9 de Toxicología y Genética de la FESC de la UNAM, donde se centrifugaron a 15,000 rpm a 4°C durante 15 min, procedió a tomar de cada tubo una alícuota de 100 µL de plasma y una de eritrocitos con una micropipeta para capacidad de toma de 100 a 200 µL y se depositaron en tubos eppendorf con capacidad de 1.5 mL para las pruebas de TBARS y GSH, Catalasa y Cuantificación de Selenio.

## **Pruebas de Laboratorio**

### **Estimación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico TBARS**

Esta técnica estima el daño a tejidos y células mediante la determinación de los principales productos de la lipoperoxidación, el método mide los productos de descomposición de los hidroperóxidos lipídicos, tales como el malondialdehído (MDA) y otros aldehídos que son capaces de reaccionar con el ácido tiobarbitúrico (Koninsberg, 2008).

Para la realización de esta prueba cuantitativa se tomó como referencia el método descrito por (Zuñiga, 2008). Para lo cual tomamos una alícuota con 100  $\mu$ L de plasma, el cual fue procesado con 100  $\mu$ L de ácido perclórico durante 20 min en hielo para agregar TBA al 0.67% y se procedió a estimar espectrofotométricamente la cantidad de MDA que es la principal especie reactiva al ácido tiobarbitúrico producto de la lipoperoxidación. Las lecturas se realizaron a 595 nm de longitud de onda.

### **Estimación de GSH**

Se implementó una técnica para evaluar el contenido de GSH reducido en plasma de cabra utilizando el reactivo de Ellman (Peter, 1985). La estimación se realizó tomando una alícuota de 100  $\mu$ L con plasma o eritrocitos a la cual se añadió 100  $\mu$ L de buffer de lisis (PMSG, Isopropanol, EDTA disódica y Tritón 0.1%) se centrifugaron a 12,000 rpm 4°C por 5 minutos, se tomaron 100  $\mu$ L de sobrenadante obtenido y se le adicionaron 5  $\mu$ L ácido sulfosalicílico, las muestras fueron incubadas 20 min en hielo, se centrifugaron nuevamente durante 10 minutos y se tomaron 50  $\mu$ L del sobrenadante al cual se le añadieron 150  $\mu$ L de buffer de reacción (DTNB y EDTA) se incubó durante 10 min a 37°C a baño maría, posteriormente se colocaron 200  $\mu$ L de cada muestra en una microplaca de 96 pozos para finalmente ser leído en un espectrofotómetro UV/Visible a 595 nm de longitud de onda.

### **Determinación de Proteínas totales**

La estimación se realizó por medio del método de (Bradford, 1976). Tomando una alícuota de 5  $\mu\text{L}$  con plasma o eritrocitos, la cual se centrifugó a 12,000 rpm a  $4^{\circ}\text{C}$  durante 5 min, se agregaron 995  $\mu\text{L}$  de PBS y fueron conservadas en refrigeración. Se agitaron en vórtex y se colocaron 10  $\mu\text{L}$  de solución A en cada pozo de una microplaca de ELISA, se agregaron 30  $\mu\text{L}$  de PBS y 160  $\mu\text{L}$  de solución de Bradford diluido 1:30. Se colocó el pozo blanco, 40  $\mu\text{L}$  de PBS y 160  $\mu\text{L}$  de solución de Bradford. El tiempo de espera fue de 10 min y finalmente se hizo la lectura en un espectrofotómetro UV/Visible a 595 nm de longitud de onda.

### **Determinación la actividad de la Catalasa**

La determinación de catalasa en muestras de eritrocitos se realizó de acuerdo al método propuesto por Iwase T (2013). Tomando una alícuota de eritrocitos con el volumen específico de cada muestra y el volumen correspondiente de PBS, obteniendo un volumen total de 200  $\mu\text{L}$ , que se mantuvo en frío dentro de un tubo eppendorf y mezclando suavemente. De la dilución anterior se tomaron 100  $\mu\text{L}$  de cada muestra y se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de Tritón x-100 al 1% en unos tubos de ensayo de 7x75 mm (Pyrex) previamente colocados a baño maría a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$ , se agitó suavemente y se incubó a baño maría durante 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se adicionaron 100 $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% y se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  por 3 min en baño seco. Para determinar la actividad enzimática se colocaron los tubos junto a una regla de tal forma que la espuma sea medible desde la base del tubo. La espuma es estable entre 3-5 min.

### **Cuantificación de Selenio en Sangre Completa**

El estado del selenio se puede evaluar en función de su contenido en sangre, orina, tejidos, excreciones como leche, entre otros. El contenido de selenio generalmente se detecta mediante la generación de espectrometría de absorción (HG-AAS) (Hosnedlova, 2017).

Para la cuantificación de Selenio en sangre completa se optimizó el procedimiento de digestión ácida (Gleason 2004) y se empleó el procedimiento de digestión ácida en horno de microondas:

Se descongelaron muestras de (sangre completa), con una micropipeta de capacidad 100-1000 $\mu$ l., se tomaron 1000 $\mu$ l de sangre completa los cuales se colocaron en un vaso de teflón, posteriormente se agregaron 5ml de agua desionizada (Mili Q) y se adicionó 2.5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado, después 1ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%, se dejó reposar 30 min. Transcurrido el tiempo se taparon los vasos, se montaron los vasos en las chaquetas que están colocadas en el carrusel para Horno de Microondas, se colocó el carrusel con los vasos en el horno y se dejaron 25 min, pasado el tiempo se procedió a sacar el carrusel del horno, enfriar y quitar presión de los tubos, se vació el contenido de los tubos en matraces de 25 ml los cuales se aforaron con HCl 7M se agitó manualmente.

Para la medición se utilizó el espectrofotómetro de absorción atómica con el sistema de atomización de generador de hidruros.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los tratamientos fueron asignados mediante un diseño de un factor (tratamiento) completamente al azar con dos niveles (GSe y GC). Las variables dependientes fueron Niveles de TBARS, GSH reducido, actividad de CAT y cuantificación de niveles de Se en sangre. Las variables independientes fueron; administración de selenio y tiempo de muestreo. Se realizó una comparación de medias a través de una prueba de Tukey, utilizando una diferencia estadística de 0.05 para observar el efecto de los tratamientos. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Statgraphics Centurion versión 16.11.1. La hipótesis se planteó de la siguiente forma:

Ho: No hay diferencias significativas entre los grupos de estudio

Ha: Si hay diferencias significativas entre los grupos de estudio



## RESULTADOS

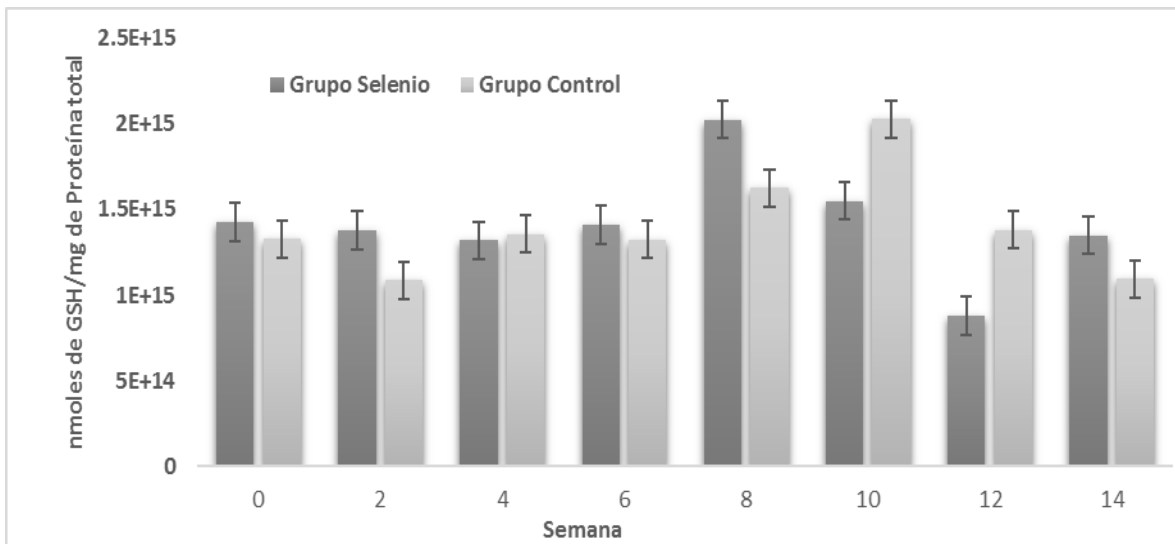
### Estimación de GSH

Se realizó un análisis de varianza para observar diferencias significativas entre los niveles de GSH en los grupos de estudio, considerando un valor  $P < 0.05$ , los cuales se observan en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Análisis de varianza para la concentración de GSH en plasma sanguíneo de los grupos experimentales.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Semana	1.229E31	7	1.755E30	4.33	0.0002
Grupo	1.042E28	1	1.041E28	0.03	0.873
RESIDUOS	8.066E31	199	4.053E29		
TOTAL (CORREGIDO)	9.296E31	207			

En la tabla 4 se muestra un análisis de varianza tipo III para la concentración de GSH reducido en plasma sanguíneo donde se observa que el Valor-P fue de 0.873 para la variable grupo, sin diferencia significativa ( $P > 0.05$ ), mientras que para la variable semana fue de 0.0002 por lo que hay una diferencia significativa para esta variable ( $P < 0.05$ ). En la figura 7 se muestran los promedios de las concentraciones de GSH y sus errores estándar, los cuales se graficaron por grupo y por semanas de estudio.



**Figura 7.** Concentración de GSH reducido en plasma sanguíneo de cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC) por semana.

La concentración promedio para todo el estudio fue de  $1.13361E+16$  nm de GSH/mg de proteína total para Grupo Selenio, mientras que para Grupo Control fue de  $1.12229E+16$  nm de GSH/mg de proteína total, sin diferencia significativa entre ellos ( $P > 0.05$ ). Se observan diferencias entre grupos por semana (2, 8, 10 y 14) ( $P < 0.05$ ), donde las concentraciones de GSH para cada uno de los grupos en estas semanas fueron: Grupo Selenio  $1.37684E+15$ ,  $2.02699E+15$ ,  $1.55184E+15$  y  $1.35031E+15$  mientras que para el Grupo Control  $1.085E+15$ ,  $1.62485E+15$ ,  $2.02968E+15$  y  $1.09332E+15$  respectivamente.

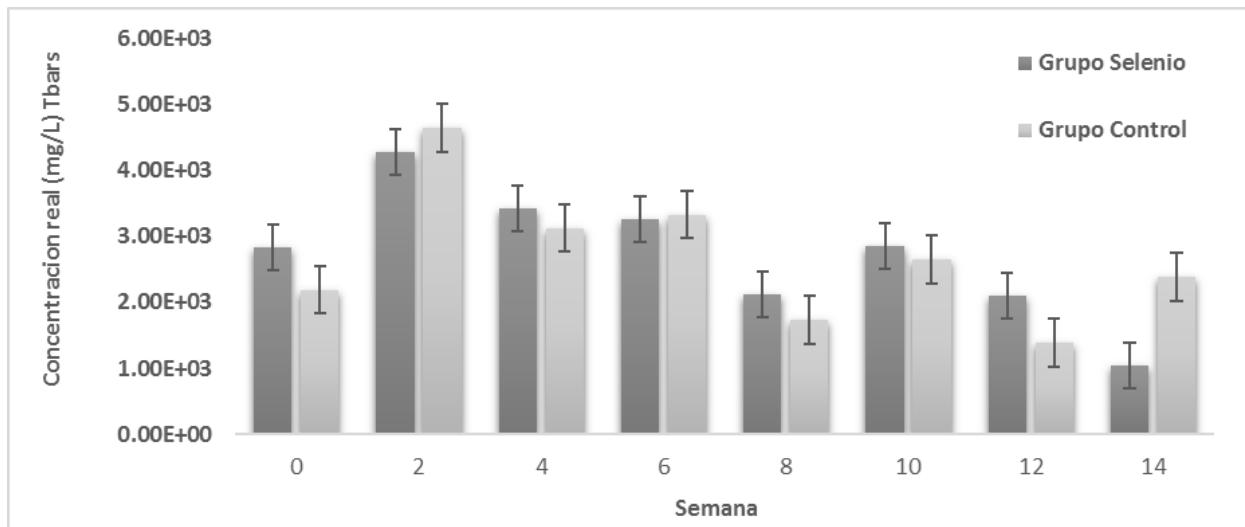
## Estimación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico TBARS

Se realizó un análisis de varianza para observar diferencias significativas para los niveles de TBARS en plasma de los grupos de estudio, considerando un valor  $P < 0.05$  estándar, los cuales se graficaron por grupo y por semanas de estudio.

**Tabla 5.** Análisis de Varianza para la concentración de TBARS en plasma sanguíneo de los grupos experimentales.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón -F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Semana	1.827E8	7	2.610E7	11.210	0.000
Grupo	2.787E6	1	2.787E6	1.200	0.275
RESIDUOS	4.632E8	199	2.327E6		
TOTAL (CORREGIDO)	6.486E8	207			

En la tabla 5 se muestra un análisis de varianza tipo III para la concentración de TBARS en plasma sanguíneo, donde se observa que el Valor-P para la variable Grupo fue de 0.275, sin diferencia estadística para esta variable ( $P > 0.05$ ), mientras que para la variable Semana fue de 0.000 ( $P < 0.05$ ). En la Figura 8 se muestran los promedios de las concentraciones de TBARS y sus errores estándar, los cuales se graficaron por grupo y por semanas de estudio.



**Figura 8.** Concentración de TBARS en plasma sanguíneo de cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC) por semana

El grupo selenio promedio para todo el estudio una concentración de  $2.19E+04$  mg/L, mientras que el grupo control promedio  $2.15E+04$  mg/L, sin diferencia estadística significativa entre ellos ( $P>0.05$ ). Sin embargo, se observan diferencias por semana entre grupos (0, 12 y 14), donde se observa una diferencia entre el Grupo selenio ( $2.84E+03$ ,  $2.10E+03$  y  $1.04E+03$ ) y el Grupo Control ( $2.19E+03$ ,  $2.65E+03$  y  $2.38E+03$ ) ( $P<0.05$ ).

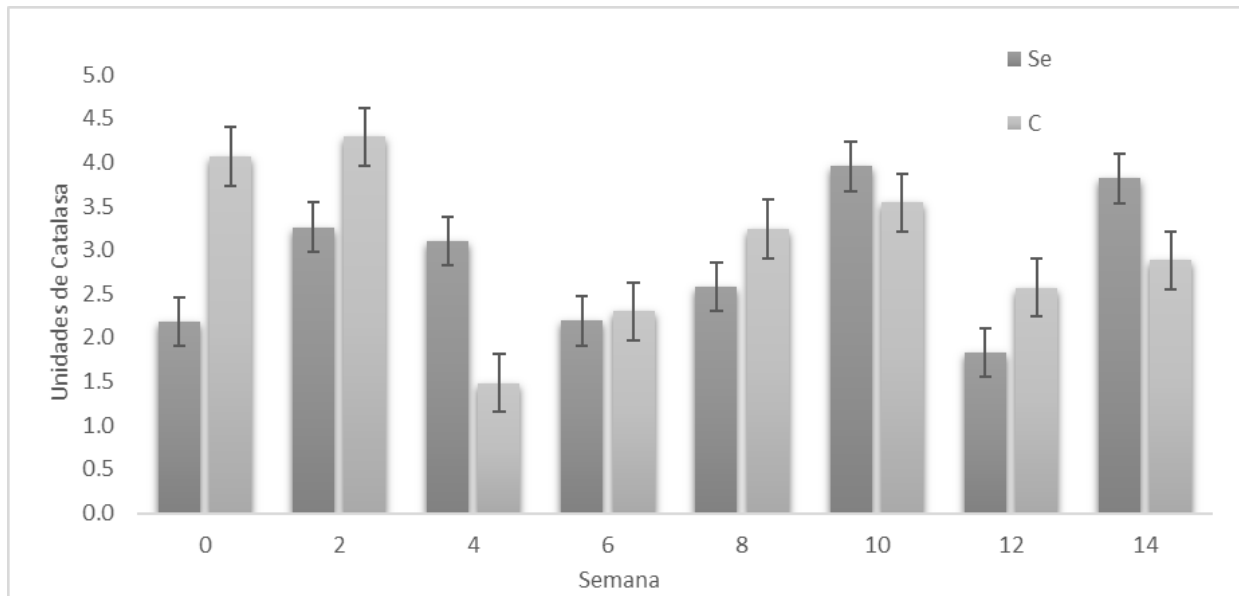
## Determinación de la actividad de la Catalasa (CAT)

Se realizó un análisis de varianza para observar las diferencias estadísticas para medir la actividad de CAT entre los grupos de estudio, considerando un valor  $P < 0.05$ .

**Tabla 6.** Análisis de varianza para la actividad de CAT en eritrocitos de los grupos experimentales.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Semana	103576.	7	14796.5	3.09	0.004
Grupo	477.642	1	477.642	0.10	0.752
RESIDUOS	9286.	194	4786.55		
TOTAL (CORREGIDO)	1.033E6	202			

En la tabla 6 se muestra el análisis de varianza tipo III para la actividad de CAT en eritrocitos donde se observa que el Valor-P para Grupo fue de 0.752 sin diferencia significativa para esta variable ( $P > 0.05$ ), mientras que para la Semana el valor-P fue de 0.004 con diferencia significativa para esta variable ( $P < 0.05$ ). En la Figura 9 se muestran los promedios de actividad de CAT y sus errores estándar, los cuales se graficaron por grupo y por semanas de estudio.

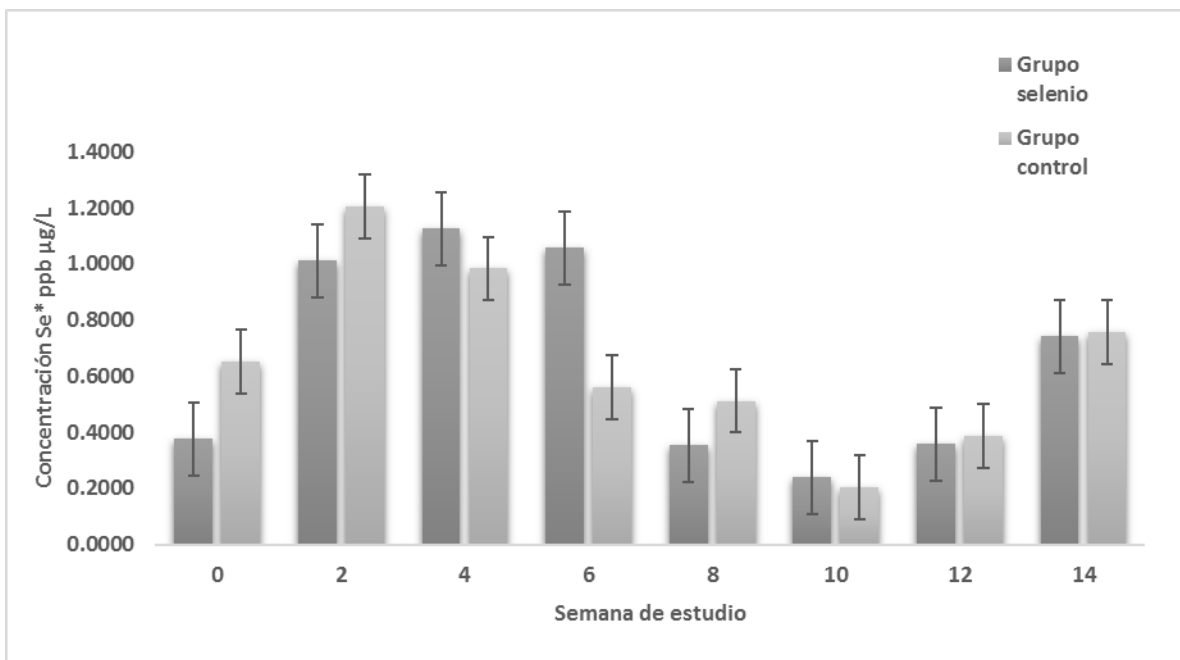


**Figura 9.** Promedio de la concentración de CAT en eritrocitos de cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC) por semana

El grupo selenio promedió para todo el estudio una actividad de 2.8638 mientras que el grupo control promedió 3.04720, sin diferencia estadística significativa entre ellos ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, se observan diferencias por semana entre grupos (0, 2, 4, 8, 12 y 14), donde se observa una diferencia entre el Grupo selenio (2.1818, 3.2583, 3.1000, 2.57691, 2.8308 y 3.8154) y el Grupo Control (4.06667, 4.29231, 1.48462, 3.23846, 2.56923, y 2.88462) ( $P < 0.05$ ).

## Evaluación de la concentración de Se en sangre completa

El grupo selenio promedio para todo el estudio una concentración de 5.2667ppb mientras que el grupo control promedio 5.2633ppb, sin diferencia estadística significativa entre ellos ( $P>0.05$ ). Sin embargo, se observan diferencias por semana entre grupos (0 y 6), donde se observa una diferencia entre el Grupo selenio (0.3768 y 1.0588) y el Grupo Control (0.6529 y 0.5609) ( $P<0.05$ ). En la Figura 10 se muestran los promedios de las concentraciones de selenio y sus errores estándar, los cuales se graficaron por grupo y por semanas de estudio.



**Figura 10** . Promedio de la evaluación de la concentración de Se en cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC).

**Tabla 7.** Análisis de varianza de la concentración de Se en cabras suplementadas con Se (GSe) y no suplementadas con Se (GC).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Semana	1.910E7	7	2.728E6	56.39	0.000
Grupo	9.675	1	9.675	0.00	0.989
RESIDUOS	9.628E6	199	48379.9		
TOTAL (CORREGIDO)	2.872E7	207			

En la tabla 7 se muestra el análisis de varianza obtenido de la concentración de Se en sangre completa donde se observa que el Valor-P para la variable Grupo fue 0.989 sin diferencia para esta variable ( $P > 0.05$ ), mientras que para la variable Semana fue de 0.000 ( $P < 0.05$ ).



## DISCUSIÓN

Las diversas investigaciones realizadas en cabras, y en general los rumiantes, coinciden en que estos se encuentran en una variedad de situaciones que comprometen su salud debido a alteraciones en el estado oxido-reducción, como consecuencia al incremento en la producción de radicales libres que no pueden ser controlados por el sistema antioxidante. Un ejemplo de ello es durante el periodo del periparto, el cual induce un estado de estrés metabólico, mismo que es contrarrestado por el sistema antioxidante para mantener la homeostasis. Sin embargo, cuando la producción de radicales libres se exagera o la capacidad antioxidante es deficiente, los animales pueden experimentar estrés oxidativo. La acumulación de radicales libres resulta en el daño oxidativo a nivel molecular y en consecuencia provoca diversas patologías que alteran las funciones fisiológicas y afectan fenotipos económicamente importantes (Sun *et al.*, 2019).

La utilización de minerales como el Se para suplemento alimenticio, representa una estrategia factible para mejorar productivamente y prevenir el desencadenamiento de enfermedades en las cabras debido a su capacidad antioxidante. Por lo tanto, se planteó la hipótesis de que sí se suplementa con selenio a cabras lecheras antes y después del parto, mejorará la actividad antioxidante, lo cual se verá reflejado en los biomarcadores de estrés oxidativo (GSH, TBARS y CAT) en plasma y eritrocitos, en comparación con los animales no suplementados.

Se realizó la estimación de GSH reducido en plasma para evaluar la actividad antioxidante del péptido, los resultados obtenidos para nuestros grupos de estudio GSe y GC mostraron que las concentraciones de GSH, se mantuvieron constantes durante el experimento, hacia la semana 8 es donde se observa un incremento significativo  $p (>0.05)$  respecto al grupo control mientras que hacia la semana 12 hubo un decremento en la actividad de este marcador, esto indica que los animales estaban en un nivel máximo de estrés después del parto respecto a semanas anteriores. Mismos resultados fueron reportados por Manat y Chaudhary (2017), que evaluaron el estrés oxidativo en el posparto de cabras surti, en el cual hubo un aumento significativo en los niveles

de lipoperoxidación al término de la gestación y una disminución del GSH y SOD. Es interesante observar que en la semana 8 las concentraciones de TBARS disminuyeron comparativamente con el aumento significativo en las concentraciones de GSH reducido. Chatterjee (2013) y Demir (2019), mencionan que la GSH es necesaria para mantener la homeostasis en los animales, así como la desintoxicación, formando conjugados con tóxicos y suprimiendo la apoptosis, esto nos sugiere que hubo cierto grado de protección contra radicales libres que se miden a través de las concentraciones de peroxidación lipídica en las pruebas de TBARS, al mismo tiempo tanto GSH como TBARS tuvieron un comportamiento similar en la semana 14 del experimento. Investigaciones realizadas por Abd El-Ghany y col. (2010), mencionan que las concentraciones fetales de Se en ovejas primíparas, disminuyen ligeramente en el último tercio de la gestación. Sin embargo, en ovejas y cabras, aumentó significativamente la concentración en líquido alantoideo, lo cual se asocia con el desarrollo fetal, estos datos sugieren que hay un aumento en la demanda o el uso al final de la gestación. Esto explicaría el decremento que hubo hacia la semana 12 del experimento. Otra investigación realizada por Lee Y. y col. (1981), midieron la actividad de la GSH y CAT en hígado y eritrocitos de ratas, con deficiencia de Se y vitamina E, demostrando que el GSH se mantuvo constante en eritrocitos e hígado en los animales con alta ingesta de hierro pero deficiente en Se, así mismo no se encontraron diferencias en la actividad de la enzima catalasa en eritrocitos; esto quiere decir que las enzimas antioxidantes deben incrementar su actividad ante niveles elevados de lipoperoxidación y que hay enzimas más sensibles al cambio que otras.

Se evaluó el grado de peroxidación lipídica mediante la prueba de especies reactivas al ácido tiobarbiturico (TBARS). Los lípidos son uno de los sustratos más susceptibles al daño de los radicales libres, los biomarcadores de la peroxidación lipídica se consideran los mejores indicadores del estrés oxidativo por lo que se esperaba que la suplementación con Se disminuyera de forma significativa las concentraciones de TBARS y con ello el grado de

lipoperoxidación. En lo que respecta a nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre los grupos experimentales, sin embargo, hubo diferencias por semana de estudio, en la semana 2 del experimento hubo un incremento en la concentración de TBARS en el grupo GSe misma que disminuyó considerablemente en la semana 14 del mismo grupo, mientras que las concentraciones en el grupo GC se mantuvieron constantes a lo largo del proceso experimental. Flores y Márquez (2014), mencionan que para la estimación del daño oxidativo a lípidos a través de la medición de TBARS es de importancia resaltar que existen dienos conjugados que se originan por reordenamiento de dobles enlaces de los peróxidos formados por la acción de radicales libres al comienzo de la oxidación de los ácidos grasos insaturados, constituyentes de estructuras celulares. A medida que la reacción de oxidación avanza, la capacidad de las muestras de absorber los rayos UV disminuye, por el paso de estos conjugados a productos terminales de la lipoperoxidación, lo que causa lecturas menores a la hora de cuantificar las muestras, lo anterior podría justificar el comportamiento inespecífico de ambos grupos experimentales que a pesar de no presentar diferencias estadísticamente significativas, mostraron cambios en las concentraciones y que a medida que trascurrían las semanas de estudio éstas fueron disminuyendo. Los resultados registrados en este trabajo concuerdan con lo establecido por Jensen y colaboradores 1983, donde mencionan que la producción de TBARS no se modifica en respuesta a una suplementación con selenio. Dado que las variaciones semanales de la concentración sérica de TBARS fueron de comportamiento similar entre grupos, durante el periodo de estudio, no se evidenció una asociación entre esta variable y la suplementación con selenio. Ello estaría reflejando la existencia de mecanismos de control de la lipoperoxidación que son independientes de la GSH-Px y del estatus de selenio.

Se midió la actividad antioxidante de la enzima catalasa para conocer la influencia que tuvo la suplementación de Se sobre el balance oxidativo en los animales evaluados, los resultados encontrados no revelan diferencias estadísticas significativas entre grupos de estudio, sin

embargo, se hallaron diferencias por semanas de estudio principalmente en las semana 10 y 14 en el cual se observa un aumento significativo en la actividad de CAT, respecto a la semana 0, en la semana 4 se observa un decremento significativo del GC, respecto al GSe. Según Gebicka y Krych-Madej (2019), la mayoría de las reacciones de la catalasa con especies formadas bajo estrés oxidativo son muy rápidas. El estado óxido reducción celular, es un estado químico complejo y finamente modulado por reacciones enzimáticas y no enzimáticas que modulan diferentes eventos celulares y que se activan rápidamente con el objeto de mantener la homeostásis en los individuos.

Por lo que, quizá algunos de los parámetros estimados en este trabajo no fueron significativamente diferentes en comparación con el control dada la complejidad de la modulación celular en los animales experimentales aunado a la variabilidad individual que se puede presentar en este tipo de estudios. La catalasa procesa enzimáticamente el  $H_2O_2$  y el peroxinitrito sin perder la actividad enzimática (excepto en altas concentraciones de estos sustratos). En un estudio realizado por Ghneim H.K. y Al-Sheikh (2011), se evaluó el efecto de la suplementación con selenio sobre la actividad de CAT en cultivos celulares de fibroblastos humanos, no encontraron diferencia significativa de este biomarcador sobre la actividad del Se, mismos que están en concordancia con nuestros hallazgos en la actividad de CAT. Uno de los mecanismos naturales de protección del cuerpo es la enzima catalasa, que acelera la descomposición del peróxido de hidrógeno constantemente formado en los productos finales, mientras oxida los alcoholes y nitritos de bajo peso molecular, involucrados en el proceso de respiración celular y no requiere energía para su activación. La actividad de la catalasa en sangre y tejidos es un marcador de trastornos metabólicos (Boriskin P., Deviatkin, 2019). Lo anterior plantea que el efecto de la suplementación con selenio podría modificar la actividad de la enzima de manera indirecta. Nosotros no encontramos diferencias entre grupos, esto hace suponer que los animales no estaban severamente deficientes en sus concentraciones de Se y, por lo tanto, el balance

oxidativo entre radicales oxidantes y antioxidantes se pudo haber mantenido en equilibrio, prueba de ellos es la investigación realizada por Torres M. y col. (2004), en cuyos que fueron expuestos a diferentes factores medio ambientales (hipoxia) donde demostraron que el incremento de las enzimas no se relaciona entre ellas , ya que ellos corroboran que no encontraron correlación entre los niveles de MDA y actividad de CAT, las enzimas antioxidantes deben incrementar su actividad ante la presencia de niveles elevados de radicales pero parecería ser que unas enzimas incrementan su actividad en mayor proporción que otras, indicando que hay unas enzimas más sensibles al cambio que otras como fue el caso de CAT.

Por último se cuantificaron las concentraciones de Se en sangre completa de acuerdo a la metodología descrita por Gleason (2004), en el cual para este estudio no hubo diferencias significativas en el análisis de varianza; sin embargo, en la evaluación de los promedios se pudo notar un incremento en las concentraciones se Selenio hacia la semana 2 del experimento es interesante enfatizar que a medida que transcurrían las semanas estas concentraciones fueron en decremento. Abd Elghany (2007), indica que durante la gestación existe una gran movilización de Se de la madre hacia la cría, este cambio metabólico justifica el decremento experimentado dado por la movilización de minerales incluido el Se, hacia la semana 6 en ambos grupos experimentales, mismos que se encontraban hacia el término de la gestación. De acuerdo con Van Saun y col. (1990), las concentraciones de Se en suero o plasma reflejan con mayor precisión el nivel actual de suplementación, ya que son más sensibles a los cambios a corto plazo en su administración en comparación de la sangre completa, lo que refleja más de su suplementación anterior porque el selenio (en GSH-Px) se incorpora a los eritrocitos durante su formación (eritropoyesis). El Se en sangre completa responde lentamente a los cambios en la suplementación (con la suplementación aumenta más lentamente, sin que la suplementación disminuya más lentamente que los niveles de selenio en suero o plasma), aunque según Burk y col. (2009), el contenido de Se en la sangre es un indicador apropiado del estado del mineral en

rumiantes, esto explicaría porque nuestros grupos de estudio no experimentaron cambios significativos en las diferentes semanas de estudio, valdría la pena realizar un estudio a largo plazo para observar estos cambios. Humann y col. (2013), investigaron la variación de las concentraciones séricas de selenio en ovejas, en el estudio demostraron que la diferencia entre grupos no fue significativa y la suplementación no garantiza un estado adecuado del mineral ya que existen diferentes factores medio ambientales que intervienen para mantener un equilibrio adecuado del mismo.

## CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en los grupos experimentales se concluye que:

1. La suplementación con selenio no logró aumentar de forma significativa la cantidad de la GSH y TBARS. Tampoco la actividad de CAT, sin embargo, se pudieron observar diferencias estadísticas por semanas de estudio.
2. Los resultados obtenidos de la estimación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), revelaron que ésta no se modifica en respuesta a una suplementación con selenio. Lo cual estaría reflejando la existencia de mecanismos de control de la lipoperoxidación que son independientes del selenio.
3. En lo que respecta a la evaluación de la concentración de glutatión reducido no se observaron diferencias estadísticas significativas entre grupos de estudio, sin embargo, hubo un incremento significativo por semana de estudio, donde se pudo notar un aumento en la concentración de GSH hacia la semana 8 del proceso experimental, asociado al término de la gestación.
4. Se logró estimar la actividad de catalasa en eritrocitos aunque no se mostraron diferencias significativas entre los grupos experimentales.
5. En el caso de la estimación de las concentraciones de Selenio en sangre completa se observó que en las semanas 0 y 6 del estudio se presentó mayor diferencia significativa, se puede dar como explicación que los valores de Se en ambos grupos fueron normales y el tratamiento empleado con selenito de sodio no influyeron de manera significativa, ya que el selenio en sangre completa indica los niveles a largo plazo de un individuo, por lo tanto se sugiere considerar el estado nutricional, hábitad y edad, mismo que puede

ocasionar errores en la lectura de la misma, lo cual justificaría el comportamiento poco variable en los grupos de estudio.



## REFERENCIAS

1. Al-Hassan, J. Mohamed, (2018). Antioxidant biomarkers in the milk of early postpartum Aardi goats during winter, *Small Ruminant Research*, Volume 162, Pages 8-11, ISSN 0921-4488, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.03.011>.
2. Álvarez Parrilla, E., De la Rosa, L. A., & González Aguilar, G. A. (2012). *Antioxidantes en alimentos y salud*. México: Clave Editorial.
3. Araripe Sucupira Maria Claudia, Marques Nascimento Priscilla, Silva Lima Alessandra, De Oliveira S Gomes Márcia, Melville P Della Libera Alice María, Mazza Rodrigues Paulo Henrique, Ivanete Susin, (2019). Parenteral use of ADE vitamins in prepartum and its influences in the metabolic, oxidative, and immunological profiles of sheep during the transition period. *Small Ruminant Research*. Volume 170, Pages 120-124, ISSN 0921-4488, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.11.020>. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092144881831006X>).
4. Boriskin, P., Deviatkin, A., Nikitin, A., Pavlova, O., & Toropovskiy, A. (2019). Relationship of catalase activity distribution in serum and tissues of small experimental animals. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 403(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/403/1/012113>
5. Bradford MA. (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
6. Burk RF, Hill KE (2009). Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. *Biochim Biophys Acta*. Nov; 1790(11):1441-7. doi: 10.1016/j.bbagen.2009.03.026. Epub 2009 Apr 1. PMID: 19345254; PMCID: PMC2763998.

7. Carbajal-Hermosillo Miguel Antonio, VA Quintero Guillermo, Díaz Gutiérrez Carlos. (2013). Use of Selenium in Sheep. *Abanico Veterinario*, 4204, 44-54.
8. Ceballos, A., Kruze, J., Barkema, H. W., Dohoo, I. R., Sanchez, J., Uribe, D., Wichtel, J. J., & Wittwer, F. (2009). Barium selenate supplementation and its effect on intramammary infection in pasture-based dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(4), 1468–1477. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2410>.
9. Ceballos-Marquez, A., Barkema, H. W., Stryhn, H., Wichtel, J. J., Neumann, J., Mella, A., Kruze, J., Espindola, M. S., & Wittwer, F. (2010). The effect of selenium supplementation before calving on early-lactation udder health in pastured dairy heifers. *Journal of dairy science*, 93(10), 4602–4612. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3086>.
10. Chatterjee, A. (2013). Reduced glutathione: A radioprotector or a modulator of DNA-repair activity? *Nutrients*, 5(2), 525–542. <https://doi.org/10.3390/nu5020525>
11. de la Haba, M. R., Moreno, A., & Morera, L. (1991). Erythrocyte GSH, hemoglobin and potassium concentrations during the postnatal period in Granadina goats. *Small Ruminant Research*, 4(2), 189–196. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(91\)90064-w](https://doi.org/10.1016/0921-4488(91)90064-w)
12. De Lucas Tron José, Pérez Razo Miguel A, Salvador Flores Omar (2014). La producción caprina en México: desarrollo y distribución de las cabras en México. *Revista del borrego y la cabra* 88, 1-8.
13. Demir, Y. (2019). Purification of Glutathione Reductase from Human Erythrocytes: Inhibition Profile of Some Anti-Epileptic Drugs. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(4), 2140–2147. <https://doi.org/10.21597/jist.525154>

14. Díaz Aparicio Efrén, Tortora Pérez Jorge Luis, Palomares Reséndiz Erika Gabriela, Gutiérrez Hernández José Luis (2015). Enfermedades de las cabras. México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias.
15. Díaz Sánchez Víctor M, Rodríguez Patiño Gabriela, Ramírez-Noguera Patricia, J. Ramírez-Bribiesca Efrén, Morales Álvarez José F, Revilla Vázquez Alma, López Arellano Raquel (2017). Dose of selenium in goat kids and its effect on the antigenic response to *Mannheimia haemolytica* and oxidative stress. *Small Ruminant Research* Volume 153, 171 - 174. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.06.005>.
16. Edwards, L. J., Overend, D. J., & Ellis, K. J. (2011). Selenium supplementation: Confirmation of an effective 5-year delivery system for sheep. *Small Ruminant Research*, 95(2–3), 184–187. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.09.008>.
17. Flores, C., Márquez, Y., Vilanova, L., Matheus, N., & López Ortega, A. (2014). La administración de selenio disminuye la lipoperoxidación en semen de toros brahman. *Revista Veterinaria*, 25(2), 95–99. <https://doi.org/10.30972/vet.252501>
18. Galbraith, M. L., Vorachek, W. R., Estill, C. T., Whanger, P. D., Bobe, G., Davis, T. Z., & Hall, J. A. (2016). Rumen Microorganisms Decrease Bioavailability of Inorganic Selenium Supplements. *Biological trace element research*, 171(2), 338–343. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0560-8>.
19. Gebicka Lidia, Krych-Madej Justyna (2019). The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 197. pp <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110699>.
20. Ghneim, H. K., & Al-Sheikh, Y. A. (2011). Effect of Selenium supplementation on glutathione peroxidase and catalase activities in senescent cultured human fibroblasts.

*Annals of Nutrition and Metabolism*, 59(2–4), 127–138.  
<https://doi.org/10.1159/000334069>

21. Gleason Huerta María Eugenia (2004). Métodos de separación para el análisis químico y desarrollo tecnológico: Desarrollo y optimización de los métodos de digestión ácida en horno de microondas para la cuantificación de selenio en muestras biológicas. FES CUAUTITLAN UNAM.
22. González Torres María Cristina, Betancourt Rule Miguel, Ortiz Muñiz Rocío. (2000). Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica* [en línea], 25 (Enero-Marzo). Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57611797001>> ISSN 0185-5751
23. Gresakova, L., Cobanova, K., & Faix, S. (2013). Selenium retention in lambs fed diets supplemented with selenium from inorganic or organic sources. *Small Ruminant Research*, 111(1–3), 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.10.009>.
24. Hadwan, M.H. (2018). Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues. *BMC Biochem* 19, 7 doi:10.1186/s12858-018-0097-5
25. Haenlein, G.F.W., Anke, M. (2011). Mineral and trace element research in goats: A review. *Small Rumin. Res.* 95, 2–19. doi:10.1016/j.smallrumres.2010.11.007.
26. Hefnawy, A. E. G, López Arellano R, Revilla Vázquez A, Ramírez Bribiesca E, Tórtora-Pérez JL (2007). The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, Volume73, 174-180, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.01.020>.
27. Hefnawy, A. E. G., & Tórtora-Pérez, J. L. (2010). The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Ruminant Research*, 89(2–3), 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.042>

28. Hicks Gómez, J. J. (2007). Bioquímica. Segunda edición. Ed, Mc Graw-Hill Interamericana, México, pp 704-706.
29. Hidiroglou, M.; Jenkins, K.J. (1973) Fate of Se-75-selenomethionine in gastrointestinal-tract of sheep. *Can. J. Anim. Sci.*, 53, 527–536.
30. Hosnedlova, B., Kepinska, M., Skalickova, S., Fernandez, C., Ruttkay-Nedecky, B., Malevu, T. D., Sochor, J., Baron, M., Melcova, M., Zidkova, J., & Kizek, R. (2017). A Summary of New Findings on the Biological Effects of Selenium in Selected Animal Species--A Critical Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), 2209. <https://doi.org/10.3390/ijms18102209>.
31. Humann-Ziehank, E., Tegtmeyer, PC, Seelig, B. (2013). Variación de las concentraciones de selenio en suero en rebaños de ovejas alemanas e implicaciones para la consultoría de gestión de la salud del rebaño. *Acta Vet Scand* 55, 82. doi: 10.1186 / 1751-0147-55-82
32. Iwase, T., Tajima, A., Sugimoto, S., Okuda, K., Hironaka, I., Kamata, Y. (2013). A Simple Assay for Measuring Catalase Activity: A Visual Approach. *Sci. Rep.* 3.
33. Jensen P, H Neilsen, D Danielsen, Leth T. (1983). Effect of dietary fat quality and vitamin E on the antioxidant potential of pigs. *Act Vet Scan* 24, 135-137.
34. Jiménez Badillo María del Rosario, Braña Varela Diego, Partida de la Peña José Armando. (2013). Guía práctica para la evaluación de la canal caprina. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Libro Técnico Núm.4, 17-18.
35. Jovanović, I. B., Veličković, M., Milanović, S., Valčić, O., Gvozdić, D., & Vranješ-Đurić, S. (2015). Supplemental Selenium Reduces the Levels of Biomarkers of Oxidative and

General Stress in Peripartum Dairy Cows. *Acta Veterinaria*, 65(2), 191–201.  
<https://doi.org/10.1515/acve-2015-0016>.

36. Koninsberg, Fanstein (2008). Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas. El manual moderno. México. Pág. 135-13.
37. Lee Y., Layman D., Bell R., Natan H. (1981), Response of glutati3n peroxidasa and catalasa to excess dietary iron in rats. *The journal of nutrition*, 111:2195-2701.
38. Liberman Michel, D.Marks, A. (2013). Bioquímica médica básica. España: Wolters Kluwer.
39. López Alonso, M, Miranda, M, Hernandez, J, Castillo, C, & Benedito, J.L. (1997). Glutati3n peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. *Archivos de medicina veterinaria*, 29(2), 171-180. <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1997000200001>
40. López Gutiérrez, AG, Ramírez-Bribiesca, JE, López Arellano, R, Revilla Vázquez, A, Tórtora Pérez, J, & Bárcena Gama, JR. (2012). Balance de selenio en corderos suplementados con selenio orgánico. *Universidad y ciencia*, 28(2): 173-180.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S018629792012000200007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018629792012000200007&lng=es&tlng=es).
41. Lukusa K, Lehloenya KC. (2017). Selenium supplementation improves testicular characteristics and semen quality of Saanen bucks. *Small Ruminant Research*, 151: 52-58.
42. Lyons, M. P., Papazyan, T. T., & Surai, P. F. (2007). Selenium in food chain and animal nutrition: lessons from nature. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20(7), 1135–1155.

43. Machado, V. S., Bicalho, M. L., Pereira, R. V., Caixeta, L. S., Knauer, W. A., Oikonomou, G., Gilbert, R. O., & Bicalho, R. C. (2013). Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 197(2), 451–456. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.02.022>.
44. Manat, T.D., Chaudhary, S.S., Singh, V.K., Patel, S.B. and Tyagi. K.K. (2017). Oxidative stress profile during postpartum period in ` Surti goats. *Indian J. Anim. Res.*, 51 (5): 837-840.
45. Martínez, C. D., Vargas, C. R., Arancibia, S. R. (2003). Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Revista de La Facultad de Medicina de La UNAM*, 46(6), 229.
46. Mattews, John (2016). *Disases of the goat* (4th edition). EUA: Wiley Blackwell.
47. Maurya, P. K., & Chandra, P. (2017). Oxidative stress: Diagnostic methods and applications in medical science. In *Oxidative Stress: Diagnostic Methods and Applications in Medical Science*. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-4711-4>
48. McComb, Timothy & Bischoff, Karyn & Thompson, Belinda & Smith, Mary & Mohammed, Hussni & Ebel, Joseph & Hillebrandt, Joseph. (2010). an Investigation of Blood Selenium Concentrations of Goats in New York State. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.* 22. 696-701.
49. McKenzie, R.C., Rafferty, T.S., Beckett, G.J., (1998). Selenium: an essential element for immune function. *Immunol. Today* 19, 342–345.
50. Mehdi, Y.; Hornick, J.L.; Istasse, L.; Dufresne, I, (2013), Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules* 18, 3292–3311.

51. NRC 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and New World camelids. In National Research Council of the National Academies (Washington, DC, the National Academies Press).
52. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2017. Statistical Databases. FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>.
53. Pechova, A., Sevcikova, L., Pavlata, L., Dvorak, R., (2012). The effect of various forms of selenium supplied to pregnant goats on selected blood parameters and on the concentration of Se in urine and blood of kids at the time of weaning. *Veternarni Medicine*, 57, pp 394-403.
54. Peter, Eyer, P., Podhradský, D., (1985). Evaluation of the Micromethod for determination of glutathione using enzymatic cycling and Ellman's reagent analytical biochemistry 153.pp 224-227.
55. Pugh, D. and Baird, A. 2012. Sheep and goat medicine. Second Edition. Elsevier, U.K. pp 621.
56. Ramírez Bribiesca Efrén (2007) Fortalecimiento del sistema de producto ovinos y elaboración de tecnologías en apoyo a los ovinocultores: Suplementación de selenio en áreas deficientes de México, serie: alimentación; noviembre, pp: 21-25.
57. Ramírez Bribiesca, E., Hernández Camacho, E., Hernández Calva, L., Tórtora Pérez, J. (2004). Efecto de un suplemento parenteral con selenito de sodio en la mortalidad de corderos y los valores hemáticos de selenio. *Agrociencia*, 38 (1), 43-51.
58. Ramírez Bribiesca, J. E., J. L. Tórtora, L. M. Hernández, M. Huerta. (2001). Main causes of mortalities in dairy goat kids from the Mexican plateau. *Small Rumin. Res.* 41: 77-80.



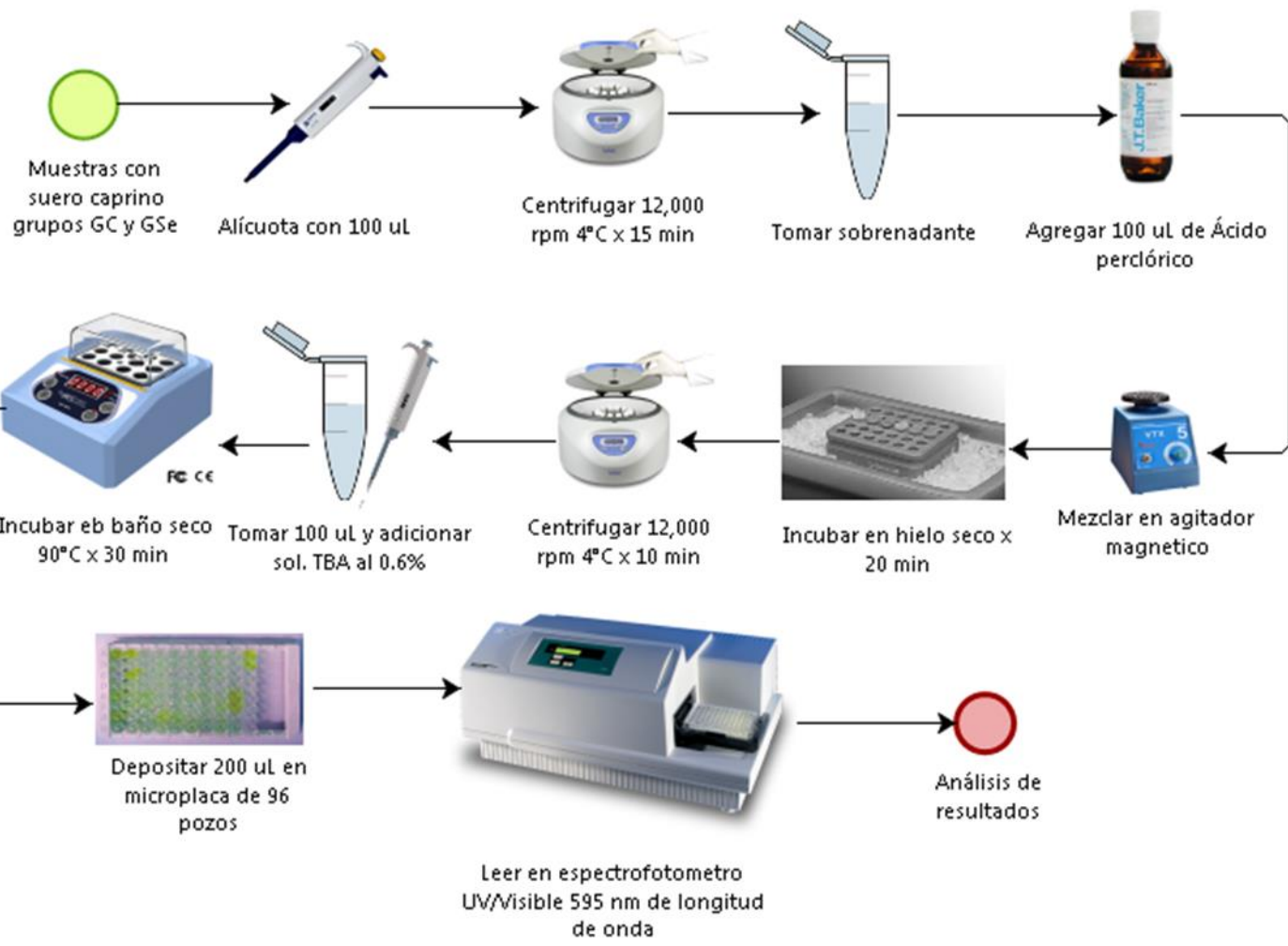
59. Revilla Vázquez Alma, Ramírez-Bribiesca Efrén, López-Arellano Raquel, L. Marina Hernández Calva, Tórtora Pérez Jorge, García-García Elizabeth y Cruz Monterrosa Rosy. (2008). Supplement of Selenium with Intraruminal Bolus of Sodium Selenite in Sheep. *Agrociencia*, Volumen 42, Número 6, 629-635.
60. Ríos, Q., & María, C. (2003). El estrés oxidativo y el destino celular. *Química Viva*, 2(1), 17–28.
61. Rivas AS, Colín-Barenque L, Dorado-Martínez C, Fortoul T (2001). Estrés oxidativo y neurodegeneración en temas selectos de neurociencias II Javier Velázquez Moctezuma Coordinador UNAM-PUIS...
62. Rodríguez, Patiño, G. (2013) Estudio del efecto de la suplementación de selenio sobre biomarcadores de estrés oxidativo en plasma de cabra. Tesis Maestría en Ciencias de la Producción animal, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, Pág.27.
63. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2018 <http://www.siap.gob.mx/index.php>.
64. Sun, L. L., Gao, S. T., Wang, K., Xu, J. C., Sanz-Fernandez, M. V., Baumgard, L. H., & Bu, D. P. (2019). Effects of source on bioavailability of selenium, antioxidant status, and performance in lactating dairy cows during oxidative stress-inducing conditions. *Journal of Dairy Science*, 102(1), 311–319. <https://doi.org/10.3168/JDS.2018-14974>
65. T. Zane Davis, Jeffery O. Hall, 2017, Chapter 34 - Selenium, *Reproductive and Developmental Toxicology (Second Edition)*, Editor(s): Ramesh C. Gupta, Academic Press, Pages 595-605 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128042397000342>).

66. Talukder Saranika, Gabai Gianfranco, Pietro Celi. (2015). The use of digital infrared thermography and measurement of oxidative stress biomarkers as tools to diagnose foot lesions in sheep. *Small Ruminant Research*, 127, 80-85.
67. Torres M., C., Perales S., M., Zúñiga C., H., & Carranza A., E. (2004). Niveles de Malondialdehído y Catalasa en tejidos de cobayos nativos de la altura. *Ciencia e Investigación*, 7(1), 28-34. <https://doi.org/10.15381/ci.v7i1.3355>
68. Tufarelli, V., & Laudadio, V. (2011). Dietary supplementation with selenium and vitamin E improves milk yield, composition and rheological properties of dairy Jonica goats. *The Journal of dairy research*, 78(2), 144–148. <https://doi.org/10.1017/S0022029910000907>.
69. Underwood, E., J., Suttle. N., F., (2003). Los minerales en la nutrición del ganado. Tercera edición. Ed, Acribia, Zaragoza, España, pp 461.
70. Valadez, J. Carlos. (2005). Comparación de la forma orgánica e inorgánica de suplementación de selenio sobre la toxicidad en ovinos. Tesis Maestría en ciencias de la producción y de la salud animal. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
71. Van Saun, R.J. 1990. Rational approach to selenium supplementation essential. *Feedstuffs*, 15, 15–17.
72. Vignola, G., Lambertini, L., Mazzone, G., Giammarco, M., Tassinari, M., Martelli, G., Bertin, G., (2009). Effects of selenium source and level of supplementation on the performance and meat quality of lambs. *Meat Science* 81 pp 678-685.
73. Williams Robert Joshua, Williams Nia Elizabeth, Kendalla Niger Roy. (2017). The efficacy of supplying supplemental cobalt, selenium and vitamin B12 via the oral drench route in sheep. *Livestock Science*, 200, 80-84. 18-02-19.

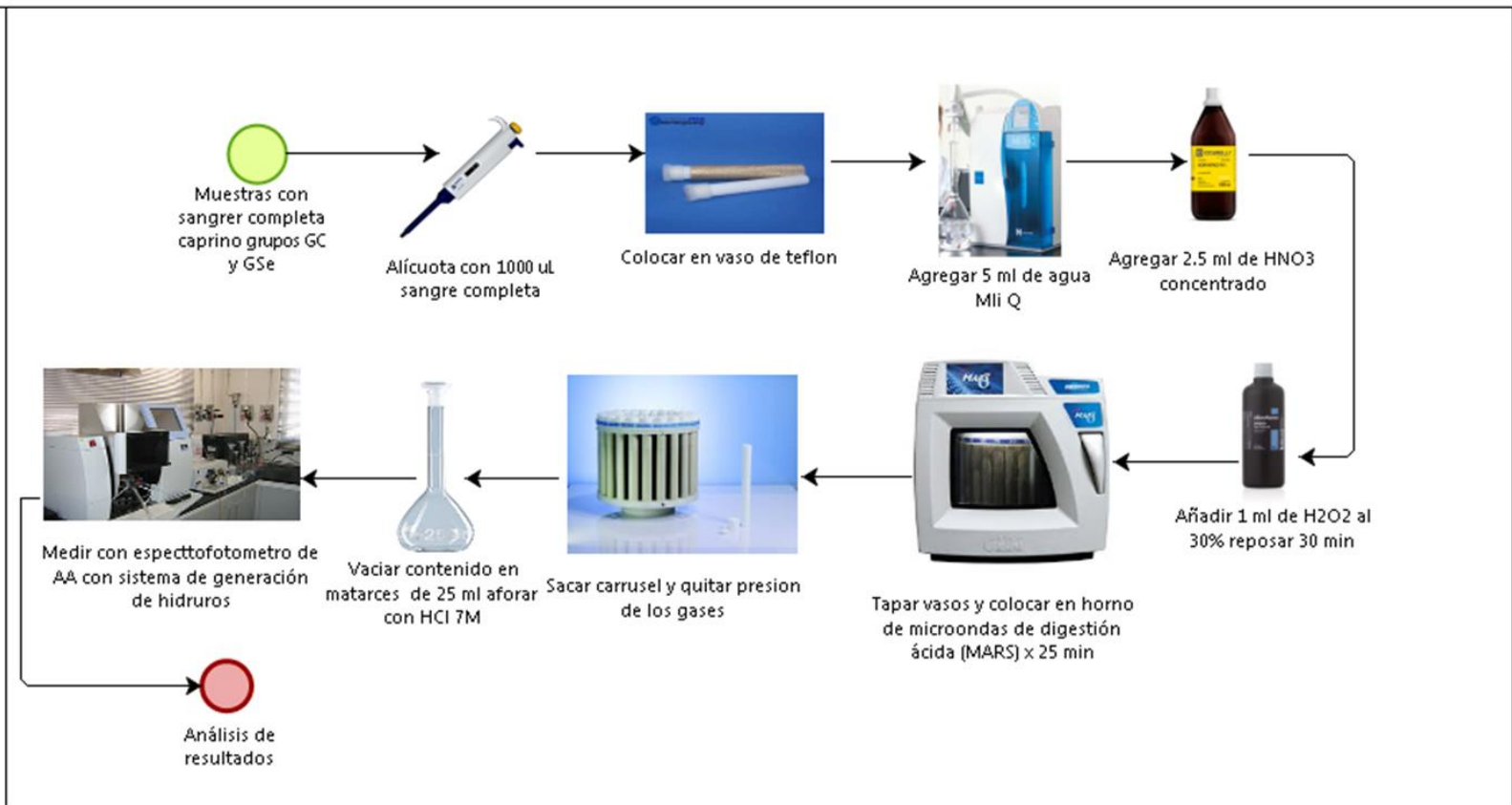
74. Zhang, L., Liu, XR, Liu, JZ y col. Biol Trace Elem Res (2018) Supplemented Organic and Inorganic Selenium Affects Milk Performance and Selenium Concentration in Milk and Tissues in the Guanzhong Dairy Goat 183: 254. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s12011-017-1112-1>.
75. Zuñiga, Lemus, O. (2008). Influencia del Estrés Oxidativo sobre la expresión de la citoqueratina 18 en hígado expuesto a arsénico. Tesis Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM.

# ANEXOS

Estimación de especies reactiva al ácido tioarbitúrico TBARS



Quantificación de Selenio en sangre completa



Determinación de la actividad de la catalasa

