



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“Evaluación de la actividad de la Glutación Peroxidasa (GPx) en muestras de tejidos de ovinos suplementados con Selenio”**

**TESIS**

Que para obtener el título de:

LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

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

GUTIÉRREZ FERNÁNDEZ FRIDA ITZEL

**ASESOR:**

DRA. LAURA DENISE LÓPEZ BARRERA

**COASESOR:**

DR. VÍCTOR MANUEL DÍAZ SÁNCHEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2024



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE



UNAM  
CUAUTITLÁN  
DEPARTAMENTO  
DE TITULACIÓN

VOTO APROBATORIO

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALEDERRAMA BRAVO  
JEFE DEL Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y Examen Profesional**

**Evaluación de la actividad de la Glutación Peroxidasa (GPx) en muestras de tejidos de ovinos suplementados con Selenio.**

Que presenta la pasante: **Frida Itzel Gutiérrez Fernández**

Con número de cuenta: **314265012** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica.**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 31 de enero de 2024.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	<u>L.F. Miguel Angel Trejo Rodríguez</u>	<u>Trejo Rodriguez Miguel A.</u>
<b>VOCAL</b>	<u>Q.F.B. Rodrigo González Castañeda</u>	<u>[Firma]</u>
<b>SECRETARIO</b>	<u>Dra. Laura Denise López Barrera</u>	<u>[Firma]</u>
<b>1er. SUPLENTE</b>	<u>L.F. Imelda Jaramillo Ugarte</u>	<u>[Firma]</u>
<b>2do. SUPLENTE</b>	<u>L.B.D. Mariana Elizabeth Espinosa Matías</u>	<u>[Firma]</u>

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga\*

## DEDICATORIAS

A Dios, gracias Señor porque a cada anhelo de mi corazón le has dado vida, siempre quiero caminar de tu mano. Te amo

A mi madre Marinalli, no hay palabras para agradecer todo lo que haces por mí. Este logro es más tuyo que mío y espero algún día devolvarte aunque sea un poco de lo mucho que me das. Te amo, eres mi tesoro.

A Alejandro, valió la pena cada vez que te levantaste a las 05:00 am para llevarme a la parada. Gracias por nunca soltarnos y por esforzarte tanto para sacarnos adelante, te quiero mucho. Tu vida es una prueba del amor de Dios hacia nosotras.  
Juan 19:26-27

A mi padre Virgilio, gracias por estar presente en estos momentos, por siempre animarme a superar los obstáculos y por que a tu manera me demuestras tu amor. Te quiero, papá

A mi tía Abril, te amo tanto tía. Gracias por siempre estar cerca, por siempre ver por nosotras, por siempre ser un lugar seguro. Este logro también es tuyo.

A mi abuelo Víctor Manuel, tu influencia en mi vida me ha motivado a siempre prepararme y buscar el camino del conocimiento. Si hay alguien a quien yo admiro, eres tú.

A Ximena, Egan y Oriana, cada vez que quería rendirme pensaba en ustedes porque son mi motor en cada paso que doy. Con este logro quiero decirles que no importa cuán difícil se ponga el camino, sí se puede. Los amo con todo mi corazón.

A David, gracias por tanto amor, por tanto cuidado, por siempre motivarme y por ser mi refugio. Eres un regalo que Dios me dio, te amo.

A mis tres angelitos en el cielo, siempre están presentes, los amo.

A Nancy, no hay mejor team que tú. Gracias amiga, por siempre animarme y por hacer más divertida la carrera. Te quiero muchísimo.

A Isela y Jus, gracias amigos por tantas risas, por tanto conocimiento compartido y por hacerme la universidad más ligera. Los quiero mucho.

A Reus, gracias por ser mi salvavidas y refugio tantas veces, por demostrarme que sí puedo y por ayudarme a cargar los últimos semestres de la carrera. Te quiero muchísimo.

A Siu, chinito eres mi mejor amigo, gracias por siempre estar al pendiente y por siempre escucharme. También gracias por haberme regalado mi primer libro de bioquímica. Por muchos años más de amistad.

A mi psicóloga Marilyn Luna, gracias por haberme tomado de la mano en todo este proceso, su vocación y su labor marcaron mi vida. Gracias

A mi asesora la Dra. Denise, gracias maestra porque sin usted esto hubiera sido muchísimo más difícil, gracias por siempre creer en mí y por confiar a pesar de tanto tiempo.

A Jesus del L9, por siempre estar dispuesto a ayudarme y explicarme. Ya eres un gran investigador, amigo.

A mí, por nunca rendirme.

## **AGRADECIMIENTOS**

Se agradece al proyecto PAPIIT-DGAPA con nombre “Efecto de la suplementación con Selenio a través de bolos intrarruminales sobre la respuesta antioxidante, enzimática, histológica y parámetros productivos y calidad de la canal en ovinos y caprinos clave TA200323.

Así como al proyecto “Evaluación de bolos intrarruminales con sulfametazina y selenio sobre el control de la coccidiosis y balance oxidativo en ovinos bajo un sistema de producción semi-intensivo”, clave IA208921.

Al Dr. Victor Manuel Díaz Sánchez, por permitirme su proyecto y confiar en mí.

A mis sinodales, gracias por sus correcciones, su disposición y su tiempo.

## ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ÍNDICE DE TABLAS.....	11
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	11
I. Introducción.....	12
II. Marco teórico.....	13
1. Se en la suplementación de los animales.....	13
1.1 Función e importancia de Se... ..	13
1.2 Estructura y biotransformación del Se.....	15
1.3 Enfermedad del músculo blanco (EMB).....	17
2. Estado redox .....	21
2.1 Definición.....	21
2.2 Estrés oxidante.....	22
2.2.1 Definición.....	22
2.3. Mecanismos de oxidación.....	23
2.3.1 Definición.....	23
2.3.2. Importancia.....	23
2.4 Clasificación.....	24
2.4.1 Especies Reactivas de Oxígeno (EROs).....	24
2.4.2 Especies Reactivas de Nitrógeno (ERNs).....	25
3. Mecanismos antioxidantes.....	27
3.1 Definición.....	27
3.2 Clasificación.....	28
3.2.1 Enzimático.....	28
3.2.1.1 Glutación Peroxidasa.....	28

	3.2.1.1.1 Función.....	29
	3.2.1.1.2 Estructura.....	30
	3.2.1.2 Catalasa.....	31
	3.2.1.2.1 Función.....	31
	3.2.1.2.2 Estructura.....	33
	3.2.2 No enzimático .....	33
	3.2.2.1 Glutación .....	34
	3.2.2.1.1 Función .....	34
	3.2.2.1.2 Estructura.....	35
III.	Justificación .....	36
IV.	Hipótesis.....	37
V.	Objetivos .....	37
	1. Objetivo general.....	37
	2. Objetivos particulares.....	37
VI.	Materiales, métodos y reactivos.....	38
	1. Materiales y reactivos.....	38
	1.1 Reactivos utilizados.....	38
	1.2 Materiales, Instrumentos y Equipos.....	39
	2. Métodos.....	40
	2.1 Diagrama del método.....	40
	2.2 Modelo de estudio y administración del Se.....	42
	2.2.1 Preparación del material.....	42
	2.2.2 Procesamiento de los tejidos.....	43
	2.2.3 Separación del tejido para cada prueba .....	43
	2.3 Medición e biomarcadores.....	47
	2.3.1 Proteínas.....	47
	2.3.2 GSH.....	47
	2.3.3 Ensayo de Lipoperoxidación (TBARs).....	48
	2.3.4 Ensayo Catalasa.....	48
	2.3.5 Medición de Especies Reactivas de Oxígeno (EROs)..	49
	2.3.6 Ensayo glutación peroxidasa (GPx).....	49



2.4 Análisis estadístico.....	50
VII. Resultados y discusión .....	50
1. Actividad de Glutación peroxidasa.....	50
2. Actividad de Catalasa.....	52
3. Actividad de GSH.....	55
4. Actividad de TBARs.....	57
5. Actividad de EROs.....	59
VIII. Conclusiones.....	63
IX. Perspectivas.....	64
X. Referencias.....	65
XI. Anexos .....	72

## ABREVIATURAS

AST	Aminotransferasa
CAT	Catalasa
CK	Creatinin quinasa
DCF	Diclorofluoresceína
DCFDA	Diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceina
DMN	Distrofia Muscular Nutricional
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico)
EMB	Enfermedad el Músculo Blanco
ERNs	Especies Reactivas de Nitrógeno
EROs	Especies Reactivas de Oxígeno
EO	Estrés Oxidante
FAD	Flavin adenin dinucleótido
FMN	Fosfato de lactoflavina
GPx	Glutación Peroxidasa
GRx	Glutación Reductasa

GSH	Glutati3n
GSSG	Glutati3n oxidado
MDA	Malondialdehido
MN	Miodistrofia nutricional
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucle3tido Fosfato
NF-kB	Factor nuclear kappa-B
NOS	3xido Nitr3co Sintasa
RLO	Radicales Libres de Ox3geno
Se	Selenio
Sec	Selenociste3na
SELENOP	Seleno-Prote3na
SeMet	Selenometionina
TBA	3cido tiobarbit3rico
TBARs	Sustancias Reactivas al 3cido Tiobarbit3rico
TXN	Tiorredoxina

## 3NDICE DE FIGURAS

Figura 1. Regiones socioecon3micas de M3xico y estados que la componen. M3xico. 2019.....	13
Figura 2. Funciones fisiol3gicas del Se en el organismo .....	15
Figura 3. Metabolismo del Se en mam3feros.....	17
Figura 4. Degeneraci3n hialina de Zenker en ovinos.....	19
Figura 5. Coraz3n de ternero con degradaci3n hialina de Zenker.....	20
Figura 6. Degeneraci3n de Zencker.....	20
Figura 7. Ejemplo de reacciones redox celulares.....	21
Figura 8. Reacci3n catal3tica de la catalasa.....	32

Figura 9. Estructura de la Catalasa.....	33
Figura 10. Reacciones redox de la glutatión peroxidasa.....	30
Figura 11 Estructura de la glutatión peroxidasa.....	31
Figura 12. Ciclo de óxido-reducción del glutatión.....	35
Figura 13. Estructura del Glutatión.....	36
Figura 14. Muestras de tejido de riñón (disección y lavado) .....	44
Figura 15. Tejido (riñón) durante la disección.....	44
Figura 16. Muestra de tejido de hepático (disección y lavado).....	45
Figura 17. Tejido hepático después de la disección y lavado.....	45
Figura 18. Colocación del tejido renal en tubos eppendorf para su almacenamiento.....	46
Figura 19. Colocación del tejido hepático en tubos eppendorf para su almacenamiento.....	46
Figura 20. Relación entre Estrés reductor y Estrés oxidante.....	59

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lista de EROs producidos durante el metabolismo (Phaniendra, A. Jestadi, DB y Periyasamy, L., 2015).....	25
Tabla 2. Lista de ERNS producidos durante el metabolismo (Phaniendra, A. Jestadi, DB y Periyasamy, L., 2015).....	27
Tabla 3. Materiales, Instrumentos y Equipos utilizados.....	39
Tabla 4. Volúmenes ocupados para la separación del tejido (riñón).....	43

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Actividad de GPx, en tejido de riñón de corderos suplementados con diferentes concentraciones de Se.....	51
Gráfica 2. Actividad de catalasa en hígado y riñón.....	54
Gráfica 3. Niveles de GSH (en su forma reducida) en hígado y riñón.....	56
Gráfica 4. Niveles de MDA en hígado y riñón.....	58
Gráfica 5. Niveles de EROS en hígado y riñón.....	61

## I. INTRODUCCIÓN

La ovinocultura es una actividad que se lleva a cabo dentro del territorio mexicano cuyo impacto económico es de suma importancia para el desarrollo del país. En México existen cinco regiones socioeconómicas que lo dividen, los estados que las componen se muestran en la Figura 1. La región Centro, donde se ubican los estados de México, Hidalgo y Puebla, en 2019, fue la de mayor producción de ovinos en pie con el 38.7%, la región Centro occidente aportó el 27.4%, equivalente a y los estados con mayor participación fueron Jalisco y Zacatecas; en tercer lugar, se encontró el Sur sureste con el 21.8%, donde el estado de Veracruz fue el que tuvo la mayor participación en esta región (Bobadilla, et al. 2020). Sin embargo la deficiencia de Se en rumiantes es uno de los motivos principales de la disminución de esta actividad debido a que impacta seriamente en la producción y natalidad de estos animales, provocando padecimientos tales como “La enfermedad de músculo blanco”. Por el contrario, la presencia de este elemento en niveles adecuados es capaz de prevenir el desarrollo de esta enfermedad, debido a que forma parte activa en enzimas como la glutatión-peroxidasa (GSH-Px), cuya importancia radica en evitar el daño oxidante de las membranas celulares (Hefnawy et al., 2008).

Para lograr disminuir los casos de muerte de ovinos se han buscado diversas formas de suplementación de Se que pueden emplearse dependiendo de las condiciones productivas de los animales y sus niveles previos de Se (Hefnawy, A. et al 2008). Algunas de ellas son soluciones inyectables de selenito de sodio, soluciones vía oral, bolos intrarruminales, en el agua o suplemento mineral a libre acceso (López-Gutiérrez et al.,2012).

No obstante, también es importante tomar en cuenta que la administración en dosis inadecuadas de Se cruzan la delgada línea que existe entre su beneficio y su toxicidad, es por eso que el propósito del presente trabajo es evaluar por medio de la glutatión peroxidasa y diferentes biomarcadores el efecto que tiene la administración de selenato de potasio a ovinas y cuál es el impacto que tiene en

órganos que están altamente relacionados con la metabolización del mismo.



**Figura 1.** Regiones socioeconómicas de México y estados que la componen. México. 2019 Información extraída de Bobadilla, E. et al., 2020

## II. MARCO TEÓRICO

### 1. Se en la suplementación de los animales

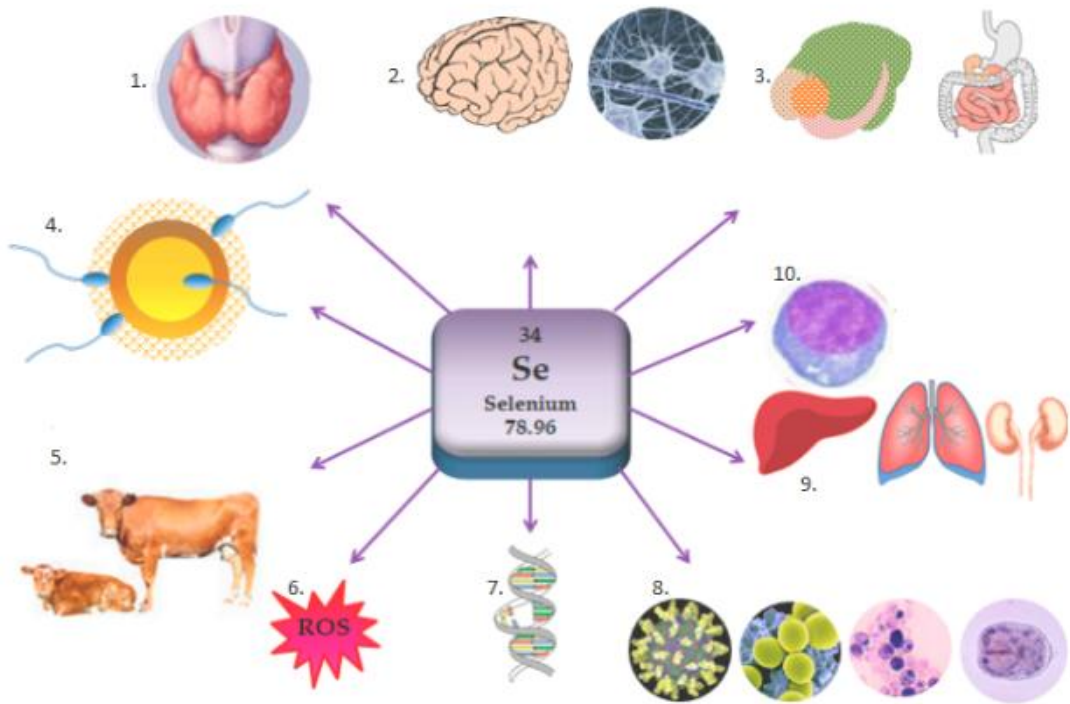
#### 1.1 Función e importancia del Se

El Se está presente en forma inorgánica como selenitos y selenatos y en forma orgánica como los selenoaminoácidos, los selenopéptidos y las selenoproteínas, que participan en un conjunto de procesos fisiológicamente importantes. Este mineral genera beneficios para la salud ya que forma parte importante del glutatión peroxidasa (GPx), enzima encargada de proteger el organismo contra agentes oxidantes (Vinchira et al, 2010). Sin embargo, el margen entre su toxicidad y su deficiencia es muy estrecho con el riesgo que ello supone

para un adecuado aporte a la población (López, 2013). Es un mineral esencial en la nutrición animal y se considera su participación en diversos procesos asociados a la producción animal, tan diversos como la fertilidad de la especie y la prevención de enfermedades.

El papel bioquímico específico del Se es como componente funcional de la enzima antioxidante de mamíferos glutatión peroxidasa (GPx), un componente indispensable del sistema antioxidante en el organismo. El Se también es importante para la síntesis, el metabolismo y la función de las hormonas tiroideas, que son reguladores cruciales del desarrollo, el crecimiento y la diferenciación (Chiarle, A. 2022). Además, la falta de Se puede llegar a ocasionar padecimientos graves como la “Enfermedad del músculo blanco” causando incluso la muerte en animales recién nacidos y animales en desarrollo (adultos), esto particularmente en rumiantes. Se han instrumentado diversas formas de suplementación del elemento que pueden emplearse dependiendo de las condiciones productivas de los animales y sus niveles previos de Se. Sin embargo, conocer la dosificación adecuada es de suma importancia, ya que el exceso del elemento en las dietas o las sales que se administran a los animales pueden llegar a favorecer las formas agudas de dicha enfermedad (Hefnawy, A. et al 2008). Se profundizará más al respecto en el punto 1.3

Como ya se mencionó en los párrafos anteriores, la importancia de estos minerales y en particular la de los denominados microelementos, en la nutrición y la salud animal ha sido revalorada en las últimas décadas. La relación de su deficiente o excesivo aporte con la presentación de cuadros de enfermedad explica parte del interés de este trabajo, por lo que se ha manifestado la importancia de estudiar su fisiología (consultar **Figura 2** “Funciones fisiológicas del Se en el organismo”), biotransformación, biodisponibilidad, patogenia de la deficiencia y, o la intoxicación y fuentes y métodos de suplementación (Hefnawy, A. et al 2008).



**Figura 2.** Funciones fisiológicas del Se en el organismo. En la imagen se observa el papel de Se en diferentes procesos celulares y en diversos tejidos. Imagen tomada de Chiarle, A. 2022. Se= selenio

Por otra parte, este mineral juega un papel esencial en la respuesta inmunitaria no específica y su bajo nivel está relacionado con un sistema inmunitario debilitado. La deficiencia de Se conduce a la disminución de la actividad de la enzima GPx y a la caída de la actividad de los neutrófilos, así como las células cada vez más susceptibles al daño oxidante.

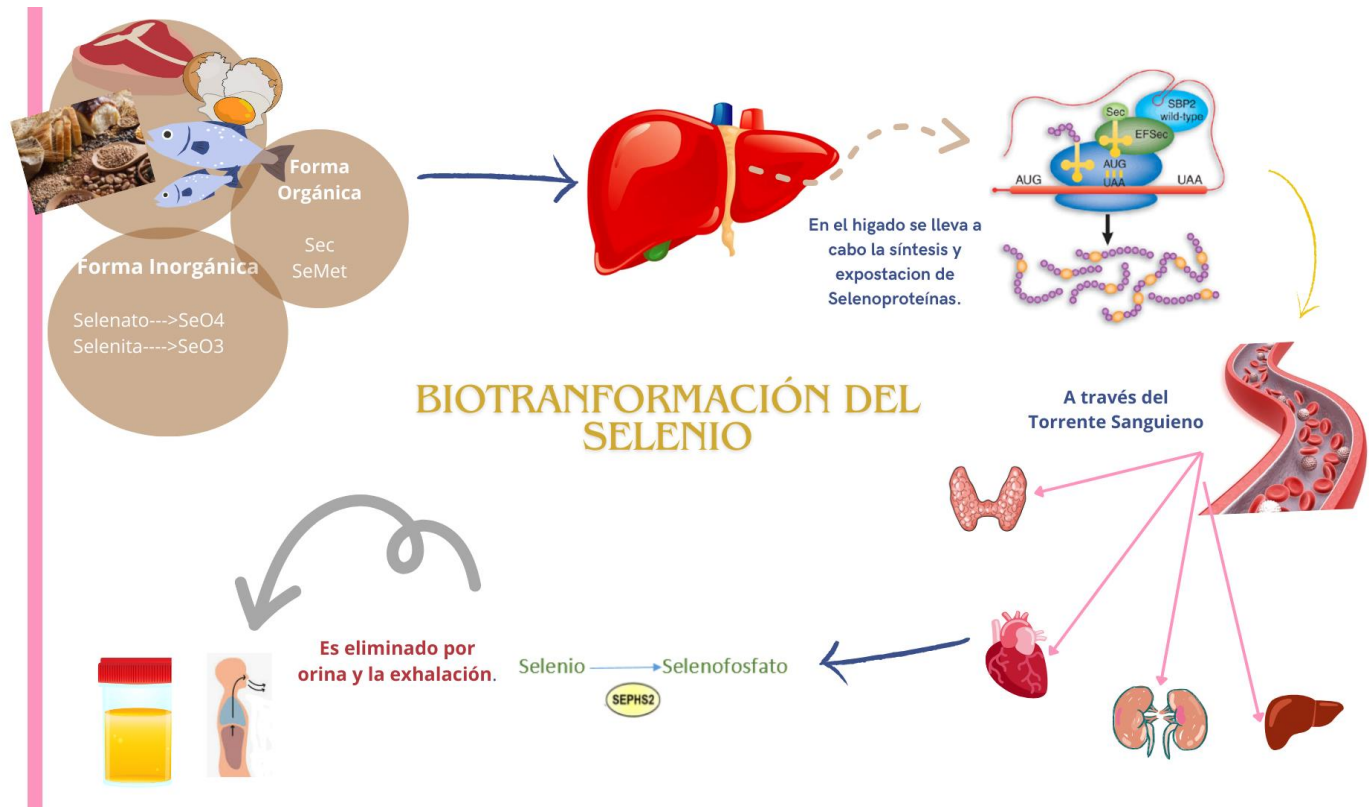
### 1.2 Estructura y biotransformación del Se

El Selenio es un elemento químico de aspecto gris metálico con número atómico 34. Su símbolo es Se y pertenece al grupo de los no metales y su estado habitual en la naturaleza es sólido. El Se está situado en la posición 34 de la tabla periódica. El metabolismo del Se es un proceso sistémico que incluye la absorción, transporte, transformación y excreción de Se.



El Se se absorbe en la dieta, pasa por varios pasos de conversión y se incorpora a cadenas polipeptídicas, completando la síntesis de selenoproteína. Las fuentes dietéticas de absorción de Se existen en forma inorgánica, como selenato y selenita, y en forma orgánica, como Sec y SeMet. Éste es absorbido por el hígado que sintetiza y exporta SELENOP (Seleno-proteína) que eventualmente circula a través del torrente sanguíneo. SELENOP, con múltiples residuos de Sec, transporta Se a otros tejidos y órganos y el Se transportado se convierte en selenofosfato por vías metabólicas de Se intracelular. El Se se excreta por exhalación y orina en forma de metabolitos de molécula pequeña formados por metilación secuencial (Kang, 2020). La explicación gráfica se encuentra en la Figura 3. “Metabolismo del Se en mamíferos”.

El Se desempeña funciones biológicas en forma de selenoproteínas sintetizadas por el sistema metabólico del Se. El Se inorgánico ingerido se reduce primero a seleniuro de hidrógeno ( $H_2Se$ ) a través de los sistemas de glutatión (GSH) y tiorredoxina (TXN). El seleniuro se convierte además en aminoácidos Sec para su incorporación en sitios específicos de selenoproteínas, como los sitios catalíticos de una selenoenzima. Las selenoproteínas se pueden clasificar en subfamilias según sus funciones celulares, como las implicadas en la antioxidación, regulación redox, metabolismo de la hormona tiroidea, transporte y almacenamiento de Se (SELENOP), entre otras (Kang, 2020).



**Figura 3. Metabolismo del Se en mamíferos.** En la siguiente imagen se observa la transformación del Se ingerido en la dieta y otras formas, así como su utilización a nivel celular. tomada de Kang, 2020. SeMet, selenometionina; Sec, selenocisteína, selenocisteína liasa SEPHS2. Información extraída de Kang, 2020.

### 1.3 Enfermedad de músculo blanco (EMB)

La importancia del Se como elemento esencial en la fisiología animal quedó demostrada en 1957, al indicarse que su deficiencia, en asociación con la vitamina E, producía la enfermedad conocida como del “músculo blanco” (Hefnawy, A. et al 2008). Se caracteriza por la presencia de degeneración Zencker en fibras o grupos de fibras musculares. Los músculos de mayor actividad metabólica son más afectados por la enfermedad. Cuando hay deficiencia de Se disminuye la actividad de las seleno-enzimas en el animal, entre ellas la glutatión peroxidasa, que tienen acción antioxidante.

Esta enzima, junto con la vitamina E, protegen las membranas celulares de la lipoperoxidación y del efecto dañino de los radicales libres. Por ello, cuando hay deficiencia de Se y/o vitamina E se produce daño celular y el efecto más importante se observa en la musculatura esquelética y cardíaca, provocando degeneración hialina de Zenker (Ver **Figura 4** “Degeneración hialina de Zenker en ovinos”), aumentando con ello la actividad plasmática de las enzimas celulares de ubicación muscular como la aspartato aminotransferasa (AST), y creatin quinasa (CK).

Las fibras musculares presentan imágenes de procesos degenerativos y se observan hinchadas, fragmentadas y proliferación de núcleos musculares, como si las células intentaran reparar el daño, finalmente las fibras presentan necrosis y ocurre infiltración de macrófagos e incremento de fibroblastos, por lo que en la imagen microscópica llama la atención la gran cantidad de núcleos observables en las zonas afectadas.

Las lesiones en el músculo esquelético se observan en animales adultos y raramente ocurren en jóvenes y se caracterizan por trastornos en la marcha y anomalías posturales, particularmente cuando los animales se echan o se levantan.

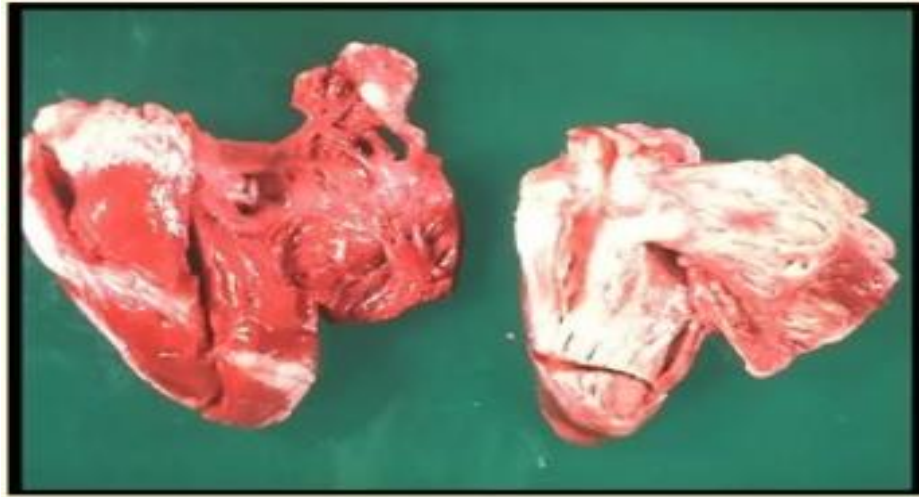


**Figura 4. Degeneración hialina de Zenker en ovinos.** En la siguiente imagen se observa la degeneración hialina en el tejido muscular. Tomada de BM Editores, 2020

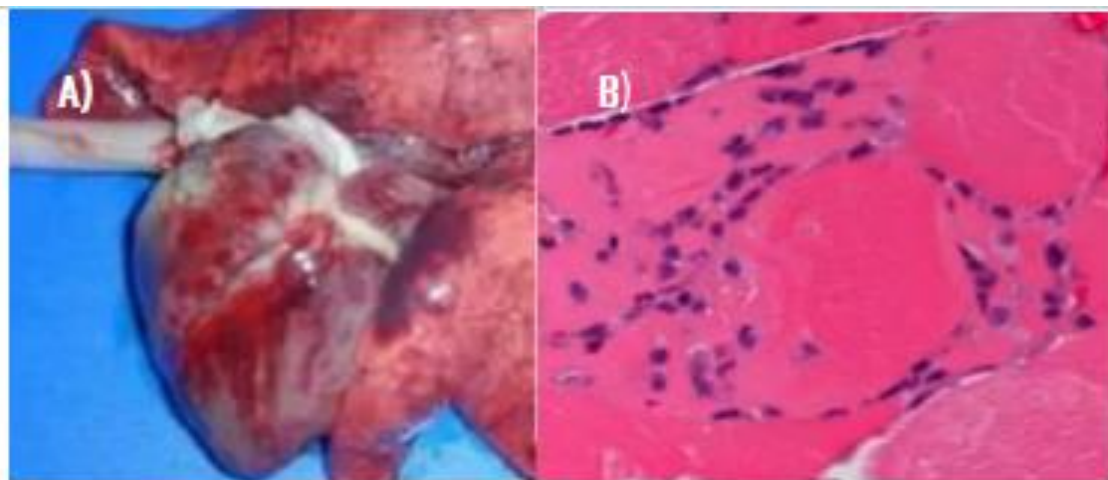
Las lesiones en miocardio ocurren en animales jóvenes y determinan muerte súbita, usualmente en los dos primeros meses de edad. La inspección del corazón puede evidenciar áreas pálidas o blancas, frecuentemente asociadas a los surcos coronarios, al corte de las paredes ventriculares se puede observar que estas zonas de menor pigmentación profundizan en el miocardio. (Ver **Figura 5.** “Corazón de ternero con degradación hialina de Zenker.”)

La apertura de las cavidades ventriculares permite observar con frecuencia que los pilares valvulares y sus zonas de inserción también se presentan pálidos contrastando con el resto del órgano. En ocasiones todo el órgano tiene aspecto de “carne hervida”, se puede observar en la **Figura 6.** “Degeneración de Zencker” inciso A. La imagen microscópica de las zonas de lesión evidencia incremento de

núcleos en forma semejante a lo descrito para el músculo esquelético, las fibras se hinchan y se pueden presentar vacuolizadas y en ocasiones ocurre el depósito de calcio sobre las fibras necrosadas (Hefnawy, A. et al 2008). Se puede observar en la Figura 6. “Degeneración de Zencker.” inciso B.



**Figura 5. Corazón de ternero con degradación hialina de Zenker.** Ventriculo derecho con áreas blanquecinas correspondientes a degeneración de Zencker. Tomado de (Revista Científica, 2005).

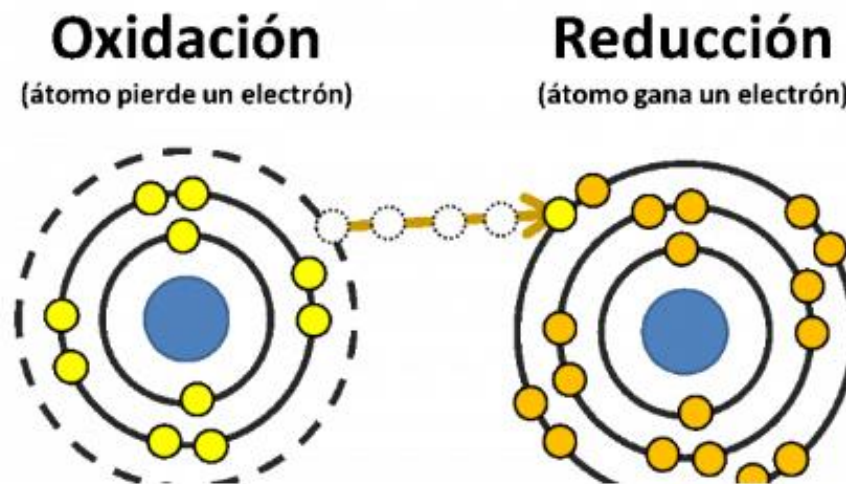


**Figura 6. Degeneración de Zencker.** Inciso A) Macroscópicamente el corazón donde el músculo presenta palidez y estrías longitudinales evidentes o bien, color blanco tiza debido a la deposición de calcio. B) Microscópicamente las fibras musculares presentan citoplasma con apariencia hialina sin estrías y con núcleos basófilos y pequeños (picnóticos). Tomada de Ochoa-Morales, A., 2017

## 2. Estado Redox

### 2.1 Definición

En la respiración celular ocurren muchas reacciones en las que pasan electrones de una molécula a otra. Las reacciones en las que ocurren transferencias de electrones se conocen como reacciones de óxido-reducción (o reacciones redox).



**Figura 7. Ejemplo de reacción redox celulares.** Los círculos amarillos representan los electrones, la flecha indica la dirección del desplazamiento y el círculo azul el núcleo. Tomado de Curso para la UNAM, 2020

Las reacciones redox son importantes para una amplia variedad de procesos bioquímicos. Los desequilibrios en las reacciones redox celulares han sido vinculados a varias enfermedades, por lo que mantener el balance de estas reacciones es fundamental para nuestra salud.

En bioquímica se considera oxidación a todo proceso en el que ocurre pérdida de electrones, captación de oxígeno o una cesión de hidrógeno (deshidrogenación) y reducción a aquel otro en el cual se captan electrones o se pierden oxígenos. Todo proceso de oxidación va siempre acompañado de otro de

reducción. Son reacción de óxido-reducción o reacciones redox entre pares conjugados.

Pero este oxígeno que es imprescindible para la vida, puede ser también fuente de enfermedad a través de una producción incontrolada de radicales libres de oxígeno (RLO) que dañan las macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) y alteran los procesos celulares (funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, respiración celular, inducción génica, etc.) (Elejalde, J.I. 2001).

## 2.2 Estrés oxidante

### 2.2.1 Definición

El estrés oxidante es provocado por radicales libres los que son una molécula o un fragmento de una molécula que contiene uno o más electrones desapareados en un orbital externo, dándole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad, dándole un carácter altamente reactivo con enorme capacidad para combinarse con otras moléculas del organismo robando sus electrones para lograr su estabilidad.

Los radicales libres son especies altamente reactivas que pueden provocar un amplio espectro de daños celulares incluyendo la inactivación de enzimas, la peroxidación de lípidos, la oxidación de proteínas y lipoproteínas; y varios factores que, se han reportado, son causa de generación de radicales libres en sistemas biológicos; Los radicales libres producidos por el organismo para llevar a cabo determinadas funciones son neutralizados fácilmente por el propio sistema. Con este fin, nuestro cuerpo produce unas enzimas (como la catalasa o la dismutasa) que son las encargadas de neutralizarlos (Díaz, 2013).

## 2.3 Mecanismos de oxidación

### 2.3.1 Definición

Uno de los elementos importantes en el estrés oxidante es el oxígeno. Es imprescindible para la vida, pero solo el 95% del que se consume sigue la ruta fisiológica en condiciones normales, el resto sufre sucesivas reducciones donde se generan moléculas altamente tóxicas denominadas especies reactivas del oxígeno (Díaz, 2013).

### 2.3.2 Importancia

Existe un balance entre la oxidación y antioxidación en el organismo; la pérdida de este crea una condición en la cual las defensas antioxidantes celulares son inadecuadas para degradar completamente las sustancias reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (ERN), debido a una excesiva producción de los mismos, a la pérdida de defensas antioxidantes o ambas, lo que ocasiona daño a las proteínas, ácidos nucleicos y a los lípidos insaturados, pudiendo comprometer la viabilidad celular (Jiménez-Martínez, 2013). La oxidación del cuerpo es fundamental para la vida ya que participa en el proceso de obtención de la energía celular. Es un proceso combinado de pérdida (oxidación) y captación (reducción) de electrones con el que se transforma el oxígeno respirado y los nutrientes ingeridos son convenientemente transformados en la energía necesaria para el funcionamiento orgánico.

Este proceso produce, además de dióxido de carbono y agua, una serie de moléculas residuales que se conocen como radicales libres. Éstas tienen capacidad oxidante. En el cuerpo humano hay un equilibrio entre la producción, ya sea interna o externa, de los radicales libres y su “eliminación” mediante los sistemas antioxidantes. Cuando este equilibrio se altera aparece lo que se conoce como estrés oxidante. Este desequilibrio entre prooxidantes y antioxidantes es el responsable del envejecimiento prematuro. Además, está involucrado en



numerosas enfermedades como cardiovasculares, neurológicas, degenerativas y ciertos tipos de cáncer.

## 2.4 Clasificación

### 2.4.1 Especies Reactivas de Oxígeno (EROs)

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) se producen como consecuencia del metabolismo fisiológico aeróbico normal. La cadena de transporte de electrones en las mitocondrias, los peroxisomas, las NADPH oxidasas, la óxido nítrico sintasa desacoplada (NOS) y el sistema del citocromo P450 son las fuentes más importantes de producción de EROs.

El desequilibrio de la producción de EROs y el sistema de defensa antioxidante en los sistemas vivos provoca que el estrés oxidante provoque la interrupción y el daño de la función celular. Este desequilibrio ocurre debido a la sobreproducción de EROs y la reducción del mecanismo de defensa antioxidante.

Las EROs son moduladores cruciales de las funciones celulares. En bajas concentraciones, las EROs son participantes esenciales en la señalización celular, la inducción de la respuesta mitogénica, la participación en la defensa contra agentes infecciosos, mientras que el exceso de EROs puede alterar la función celular normal y promover daños irreversibles en los lípidos celulares, los ácidos nucleicos y las proteínas.

Los EROS, especialmente  $H_2O_2$ , sirven como una molécula de señal a través de la modificación oxidativa de las proteínas de señalización. Así, un equilibrio entre la producción de EROs y su eliminación permite la función celular normal, mientras que un desequilibrio provoca estrés oxidante con consecuencias patológicas (Carbajal, 2019).

**Tabla 1.** Lista de EROs producidos durante el metabolismo  
(Phaniendra, A. Jestadi, DB y Periyasamy, L., 2015)

Radicales Libres	Símbolo	Media vida
<b>Especies Reactivas de Oxígeno - ROS</b>		
<i>Radicales</i>		
<b>Superóxido</b>	O <sub>2</sub>	10 <sup>-6</sup> s
<b>Hidroxilo</b>	OH	10 <sup>-10</sup> s
<b>Radical alcóxido</b>	OR	10 <sup>-6</sup>
<b>Radical peróxido</b>	RU	17 segundos
<i>No radicales</i>		
<b>Peróxido de Hidrógeno</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Estable
<b>Oxígeno singlete</b>	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	10 <sup>-6</sup> s
<b>Ozono</b>	O <sub>3</sub>	S
<b>Peróxido Orgánico</b>	ROOH	Estable
<b>Acido hipocloroso</b>	HOCl	Estable (mín.)
<b>Acido hipobromoso</b>	HOBr	Estable (mín.)

#### 2.4.2 Especies Reactivas de Nitrógeno (ERNs)

El radical libre derivado del nitrógeno que más atención ha tenido en los últimos tiempos es el óxido nítrico (NO). El óxido nítrico es un gas altamente difusible, soluble en lípidos y de vida corta; es generado a partir de la conversión de la L-arginina en L-citrulina a través de la enzima óxido-nítrico-sintetasa (NOS) de la cual se conocen tres isoformas: neuronal (nNOS), endotelial (eNOS) e inducible (iNOS). La nNOS y la eNOS son enzimas constitutivas y son reguladas en relación

con su actividad mientras que la iNOS es regulada transcripcionalmente de acuerdo con las condiciones del ambiente.

Todas las NOS que se encuentran en los mamíferos son hemoproteínas que requieren NADPH y  $O_2$  para producir óxido nítrico y usan FAD y FMN como cofactores. El óxido nítrico media efectos fisiológicos cuando es producido en bajas cantidades. Sin embargo, también está involucrado en actividades de citotoxicidad cuando es generado en grandes cantidades (Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas, 2014).

A bajas concentraciones, el NO actúa como un regulador esencial de la presión sanguínea, como protector cardiovascular, como inhibidor de la agregación plaquetaria y también en la adhesión leucocitaria; sin embargo, resulta perjudicial a niveles elevados, ya que afecta el funcionamiento celular mediante la oxidación de proteínas, activa al factor nuclear kappa-B (NF- $\kappa$ B) (Hernández, 2020).

Tanto en el medio intracelular como del medio extracelular, si la producción de óxido nítrico es mayor a lo normal o se produce en forma continua, puede existir un “acercamiento” molecular entre el óxido nítrico y el oxígeno para formar nitrito y nitrato; este último reaccionaría rápidamente con el anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) para formar al peroxinitrito (ONOO $^-$ ), una molécula altamente reactiva capaz de hidroxilar o nitrosilar los grupos sulfhidrilos y tioéster de las proteínas y lípidos lo que produce un daño a la célula induciendo oxidación de lipoproteínas; puede producir fragmentación de moléculas de DNA, disminuir los sistemas antioxidantes de la célula y producir nitración de proteínas clave en los sistemas de señalización inter- e intracelular, entre otras cosas (Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas, 2014).

**Tabla 2.** Lista de ERNs producidos durante el metabolismo  
(Phaniendra, A. Jestadi, DB y Periyasamy, L., 2015)

Radicales Libres	Símbolo	Media Vida
<b>Especies de Nitrógeno Reactivo – RNS</b>		
<i>Radicales</i>		
Óxido Nítrico	NO	$10^{-6}s$
Dióxido de Nitrógeno	OH	$10^{10}s$
<i>No Radicales</i>		
Peroxinitrito	ONOO <sup>-</sup>	s
Catión nitrosilo	NO <sup>+</sup>	$10^{-3}s$
Anión nitroxilo	NO <sup>-</sup>	s
Trióxido de dinitrógeno	N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	s
Tetraóxido de dinitrógeno	N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	s
Ácido Nitroso	HNO <sub>2</sub>	Estable (mín.)
Ácido peroxinitroso	ONOOH	Bastante estable
Cloruro de nitrilo	NO <sub>2</sub> Cl	s

### 3. Mecanismos antioxidantes

#### 3.1 Definición

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad.

Los mecanismos de defensa del organismo son variados, pero no suficientes para prevenir la oxidación. Un mecanismo de caída del antioxidante produciría un desbalance que podría causar efectos, llamado estrés oxidante (Díaz, 2013).

Las células y los órganos del cuerpo tienen sistemas antioxidantes, los cuales pueden ser enzimáticos, no enzimáticos o proteínas de unión. Todos actúan sinérgicamente para neutralizar las diferentes especies reactivas del oxígeno, formando una red de antioxidantes (Mariaca, C.J. et al 2016).

## 3.2 Clasificación

### 3.2.1 Enzimático

El sistema antioxidante a nivel celular enzimático consiste en un conjunto de proteínas cuya función principal es favorecer la remoción de radicales libres de especies pro oxidantes. Algunas de estas enzimas requieren de cofactores y coenzimas que son requeridos tanto para llevar a cabo su función, como para la biosíntesis de estas.

La actividad de las enzimas antioxidantes son una respuesta celular a estímulos externos e internos de alteraciones en el estado redox, por lo que a continuación se mencionan algunas de ellas junto con sus características y reacciones que llevan a cabo.

#### 3.2.1.1 Glutación peroxidasa.

El término Glutación Peroxidasas (GPx) define una familia de enzimas pertenecientes al sistema antioxidante de organismos aerobios (Alberro, M.L. 2013). Es una enzima citosólica e intra mitocondrial que degrada la mayor parte del peróxido de hidrógeno transformándolo, en presencia de glutatión reducido, en agua

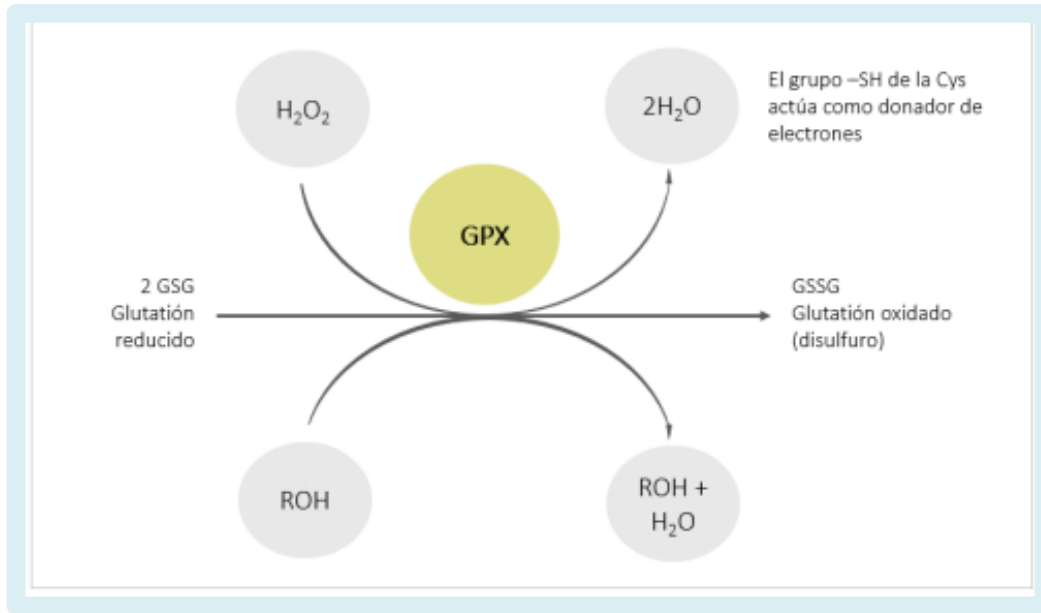
y glutatión oxidado. La glutatión peroxidasa limita igualmente la propagación de radicales, reduciendo los peróxidos inestables en ácidos grasos hidroxilados. Junto a ello, la glutatión peroxidasa que se localiza en la membrana plasmática posee la capacidad de convertir los peróxidos lipídicos, formado a partir de fosfolípidos, en alcoholes (Sabán Ruíz, 2012)

Una de las funciones más ampliamente reconocidas del Se es que actúa como cofactor de la enzima GSH-Px (presente en forma de seleno-cisteína), hallazgo realizado a principios de los años setenta. De esta proteína se pueden encontrar las isoenzimas GSHPx1, GSH-Px2, GSH-Px3, GSH-Px4, que se localizan en eritrocitos, tracto gastrointestinal, de forma extracelular e intracelular, respectivamente (Vinchira et al, 2010).

#### 3.2.1.1.1 Función

La glutatión peroxidasa es una de las enzimas cuya participación es esencial en los mecanismos de protección contra los daños causados por radicales oxigenados, cataliza la reducción tanto del peróxido de hidrógeno como de los peróxidos lipídicos.

Esta enzima que contiene Se utiliza los grupos sulfhidrilo del glutatión (GSH) como dador de hidrógeno con formación de la forma disulfuro de glutatión (GSSG). La glutatión reductasa convierte de nuevo la forma disulfuro de glutatión (GSSG) a glutatión (GSH) a la forma sulfhidrilo utilizando el NADPH (Devlin, T. 2004).



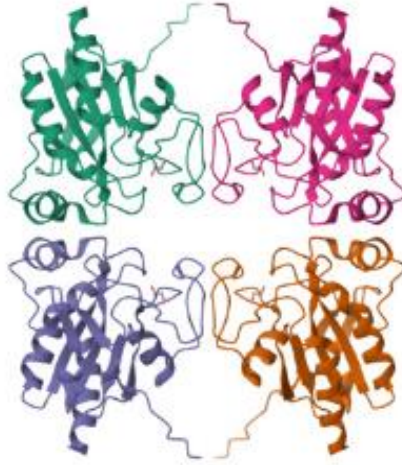
**Figura 10. Reacciones redox de la glutatión peroxidasa.** La glutatión peroxidasa permite que el Glutatión reducido GSG pase a su forma oxidada GSSG. Por acción de la glutatión reductasa, es capaz de regresar a su estado reducido. (Ayllón & Olivé, n.d.).

### 3.2.1.1.2 Estructura

Arthur (Arthur, 2000) describe 4 isoformas conocidas de GPx que contienen selenocisteína en su sitio activo y al menos otras dos proteínas con más del 40% en similitud de secuencia con la GPx citosólica, pero que no contienen selenocisteína.

GPx1 es una proteína tetramérica con 4 subunidades idénticas, cada una de las cuales contiene un residuo de selenocisteína, el que está en el sitio activo de la enzima. La segunda forma de GPx que se encuentra en el citosol y también es tetramérica ha sido llamada GPx y se denomina GPx2. Tanto la GPx1 como la GPx2 tienen especificidad de sustrato similar porque reducen peróxidos de hidrógeno o hidroperóxidos de ácidos grasos con rapidez. Dentro de la familia de las GPx Se-dependientes la GPx2 está primero en la jerarquía, seguida de GPx4, GPx3 y GPx1.

Sin embargo, el centro catalítico de las GPxs está compuesto por Sec o Cys, Gln, Trp y Asn. Esta estructura de 4 aminoácidos está conservada en todos los miembros de la familia GPx con algunas excepciones (Alberro, M.L. 2013).



**Figura 11. Estructura de la glutatión peroxidasa.** La glutatión peroxidasa, donde se muestran las cuatro subunidades que la conforman (PDB,2023).

### 3.2.1.2 Catalasa

#### 3.2.1.2.1 Función

En el organismo existe un sistema de protección antioxidante formado por enzimas y compuestos de bajo peso molecular. Una de las enzimas que interviene en la protección y, en consecuencia, en el mantenimiento del balance oxidante/antioxidante es la catalasa (CAT).

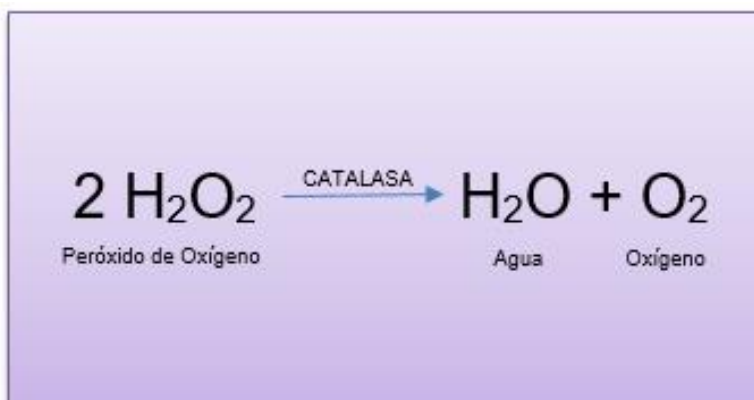
Es una de las enzimas más abundantes en la naturaleza y se encuentra ampliamente distribuida en el organismo humano, aunque su actividad varía en dependencia del tejido; ésta resulta más elevada en el hígado y los riñones, más baja en el tejido conectivo y los epitelios, y prácticamente nula en el tejido nervioso. A nivel celular se localiza en las mitocondrias y los peroxisomas, excepto en los eritrocitos, donde se encuentra en el citosol. La CAT convierte al  $H_2O_2$



potencialmente peligroso en oxígeno molecular y agua (López-Blancas, E. et al 2014).

En la reacción de la catalasa ocurre la transferencia de dos electrones entre dos moléculas de peróxido de hidrógeno en la cual una funciona como donante y otra como aceptor de electrones. El mecanismo de reacción se lleva a cabo en dos pasos.

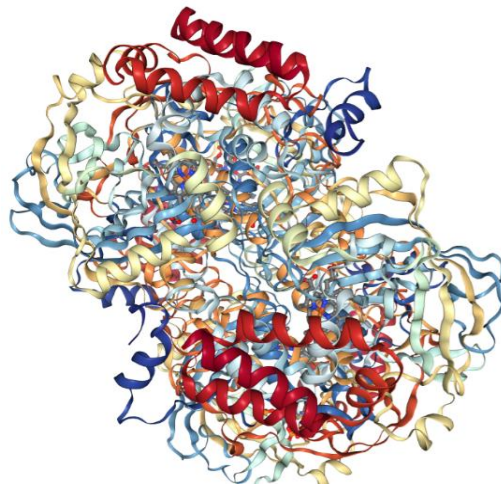
- En el primero la catalasa se oxida por una molécula de peróxido formando un intermediario llamado compuesto 1. En esta reacción se produce una molécula de agua.
- En la segunda parte de la reacción el compuesto 1 es reducido por otra molécula de peróxido regresando a la catalasa a su estado inicial y produciendo agua y dióxígeno (Espinosa, H. P. 2015).



**Figura 8. Reacción catalítica de la catalasa.** En presencia de dos moléculas de peróxido de hidrógeno la catalasa es capaz de convertirlas en moléculas de agua y O<sub>2</sub> (Reguiño-Muñoz, M.C. 2018).

### 3.2.1.1.2 Estructura

Esta enzima es una metaloproteína tetramérica, cuyo peso molecular se encuentra en el rango de 210-280 kD. Consta de 4 subunidades idénticas que se mantienen unidas por interacciones no covalentes. Cada subunidad contiene un grupo prostético de protoporfirina IX y el contenido protohémico y el de hierro representan un 1,1 % y 0,09 % respectivamente del peso molecular total de la enzima (Céspedes, 1996).



**Figura 9. Estructura de la catalasa.** En la imagen se muestra la estructura 3D, de la enzima catalasa proveniente de eritrocitos humanos (Sinobiological, 2023)

### 3.2.2 No enzimáticos

Los antioxidantes no enzimáticos son un conjunto de moléculas que interactúan con los radicales libres. La mayor parte de las moléculas contribuyen a la defensa antioxidante, proviene de la alimentación.

Tienen como función la defensa antioxidante en el organismo. Algunos ejemplos son: atocoferol (Vitamina E), ácido ascórbico (Vitamina C), Caroteno o Provitamina A, proteínas transportadoras de metales de transición, captadores de

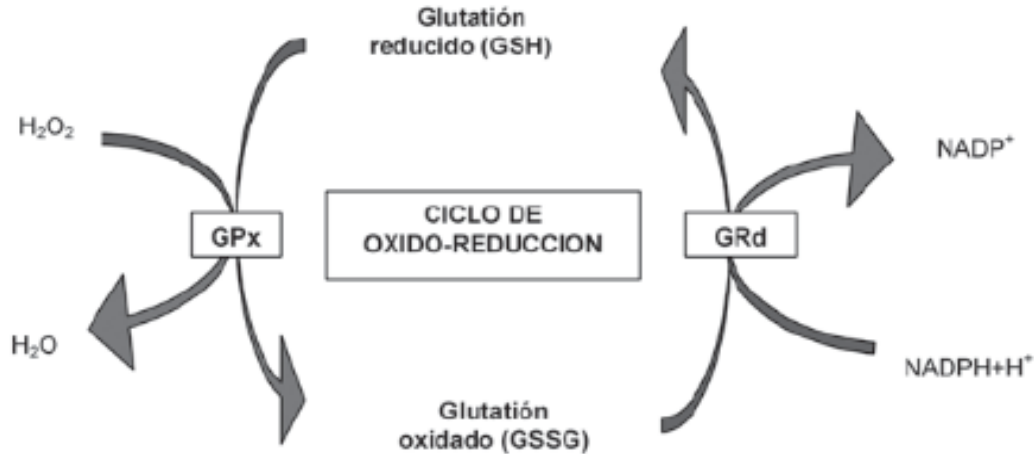
radicales libres (polifenoles). Sin embargo, no se ahondará en dicha información porque no es el objetivo de trabajo presente.

### 3.2.2.1 Glutación

#### 3.2.2.1.1 Función

El glutación o glutación reducido (GSH) es una molécula muy abundante en el organismo, ya que muchas reacciones bioquímicas celulares requieren de un estado reducido. Se trata de un tripéptido formado por glutamato, cisteína y glicina. Todas las células sintetizan Glutación, pero especialmente el hígado debido a la maquinaria antioxidante que hay en los hepatocitos.

Tiene importantes funciones como antioxidante, es parte importante de la detoxificación de xenobióticos, es cofactor para las reacciones de isomerización y también sirve como almacenamiento y transporte de cisteína. Una función muy importante del glutación es mantener el potencial de óxido-reducción de la célula, ya que mantiene en estado reducido los grupos tiol de las proteínas y así permite la generación de diversas cascadas de señalización intracelular (Martínez- Sámano, 2011)

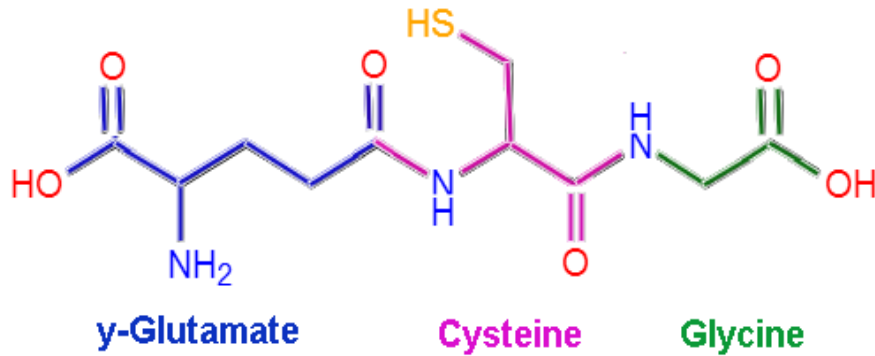


**Figura 12. Ciclo de 3xido-reducci3n del glutati3n.** En la imagen se muestra el ciclo de utilizaci3n y regeneraci3n del glutati3n, en donde la glutati3n peroxidasa como la glutati3n reductasa est3n involucradas (Solovera R, M. E et al, 2009).

El glutati3n est3 involucrado en dos tipos de reacciones: Interacci3n no enzim3tica con radicales como el ani3n super3xido, 3xido n3trico y radical hidroxilo y proporcionando un electr3n para la reducci3n de per3xidos en la reacci3n catalizada por la enzima Glutati3n Peroxidasa-GPx (Ayll3n y Marta Oliv3, AS). Se encuentra casi exclusivamente en su forma reducida, ya que la enzima que vuelve de su forma oxidada, la glutati3n reductasa, es constitutivamente activa e inducible al estr3s oxidante. Una vez oxidado, el glutati3n se puede reducir de nuevo por la glutati3n reductasa, usando NADPH como donante de electrones.

### 3.2.2.1.2 Estructura

El glutati3n (GSH) es un tri-p3ptido no prote3nico que se deriva de los amino3cidos. Formado por los amino3cidos L-ciste3na, 3cido L-glut3mico y glicina. Contiene un enlace pept3dico inusual entre el grupo amino de la ciste3na y el grupo carboxilo de la cadena lateral del glutamato.



**Figura 13. Estructura del Glutati3n.** En la siguiente imagen se muestra la estructura del glutati3n y los amino3cidos que lo conforman (Puig, R. P., 2019)

### III. JUSTIFICACI3N

En los suelos del territorio mexicano utilizados para la alimentaci3n de ovinos, existe carencia de Se debido a su origen volc3nico por lo cual se hace necesaria la suplementaci3n del mismo particularmente en rumiantes, sin embargo tambi3n es necesario conocer la cantidad necesaria requerida del mismo para llegar a los niveles adecuados y obtener resultados ben3ficos; de esta manera se tendr3 un impacto importante en la salud animal, previniendo patolog3as como es la enfermedad del m3sculo blanco y tener mejoras en la producci3n al reducirse las muertes de estos animales. Debido a esto y por medio de biomarcadores involucrados en el estado redox, el presente trabajo eval3a la actividad de la glutati3n peroxidasa (GPx) en muestras de tejidos de ovinos suplementados con Selenio.

#### **IV. HIPÓTESIS**

La administración de Se por vía parenteral en corderos a través de dos dosis (0.1 mg/kg y 0.25 mg/kg) modificará los niveles de GPx que a su vez impactará en biomarcadores asociados al estado redox celular, y por lo tanto permitirá evaluar la acción del Se y evidenciar cuál de las dos dosis utilizadas podría tener un mejor efecto antioxidante.

#### **V. OBJETIVOS**

##### 1. Objetivo general

Evaluar el efecto que tiene el Se administrado vía parenteral a diferentes dosis (0.1 mg/kg y 0.25 mg/kg), por medio de la medición de diferentes biomarcadores asociados al estado redox celular en tejidos de ovinos, para determinar cómo influye directa o indirectamente el Se en la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx).

##### 2. Objetivos particulares

- ✓ Evaluar la actividad de la glutatión peroxidasa, por un método espectrofotométrico, en muestras de tejido de riñón y tejido hepático
- ✓ Procesar las muestras de tejido de cordero, utilizando método de homogeneización químico, mecánico y por sonido, para poder realizar la medición de biomarcadores.
- ✓ Evaluar los niveles de Glutatión intracelular como molécula antioxidante a través de la técnica de DTNB con el objeto de evidenciar si hay una respuesta por la administración de Se en los animales.
- ✓ Evaluar el efecto sobre la lipoperoxidación, en muestras de tejido riñón e hígado por la técnica de TBARs

- ✓ Evaluar la actividad de la enzima antioxidante catalasa, a través de la generación de espuma, en tejidos de riñón e hígado, con el objeto de evaluar si la actividad se modifica por la presencia del Se.
- ✓ Medición de los niveles de especies reactivas de oxígeno, por la técnica de 2,7-dicloro fluoresceína con el objeto de identificar si la administración de Se modifica los niveles de estos en muestras de tejido renal y hepático

## VI. MATERIALES, MÉTODOS Y REACTIVOS

### 1. Materiales y Reactivos

#### 1.1 Reactivos utilizados

Fosfato de potasio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 99.2%) (J. T. Baker); Fosfato dibásico de sodio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 99.3%) (J. T. Baker); Cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ , 99.5%) (J. T. Baker); Cloruro de potasio ( $\text{KCl}$ , 100%) (J. T. Baker); L-Glutatión reducido (Sigma-Aldrich); Ácido 2,2'-dinitro-5,5'-ditiobenzóico (Sigma-Aldrich) D8130-5G; Ácido 5-sulfosalicílico dihidratado (Merck); EDTA 0.5 mM ( $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) (J. T. Baker); Protein Assay dye Reagent concentrate (Bio-rad); Albúmina sérica bovina (Sigma) ref B4287-5G; Ácido 2-tiobarbitúrico (Sigma-Aldrich) 98% T5500-25G; Ácido clorhídrico (Vetec) 37%; Malondialdehído (dimetil) (Sigma-Aldrich); Azida de Sodio  $\text{NaN}_3$  (Sigma); Tris (Hidroximetil) clorohidrato de aminometano (Miles road) 99.7%; Glutatión reductasa from baker's yeast (Sigma-Aldrich) ref G3664;  $\beta$ -Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate (Sigma Aldrich); 2,7- diclorofluoresceína diacetato (Sigma-Aldrich).

## 1.2 Materiales, Instrumentos y Equipos

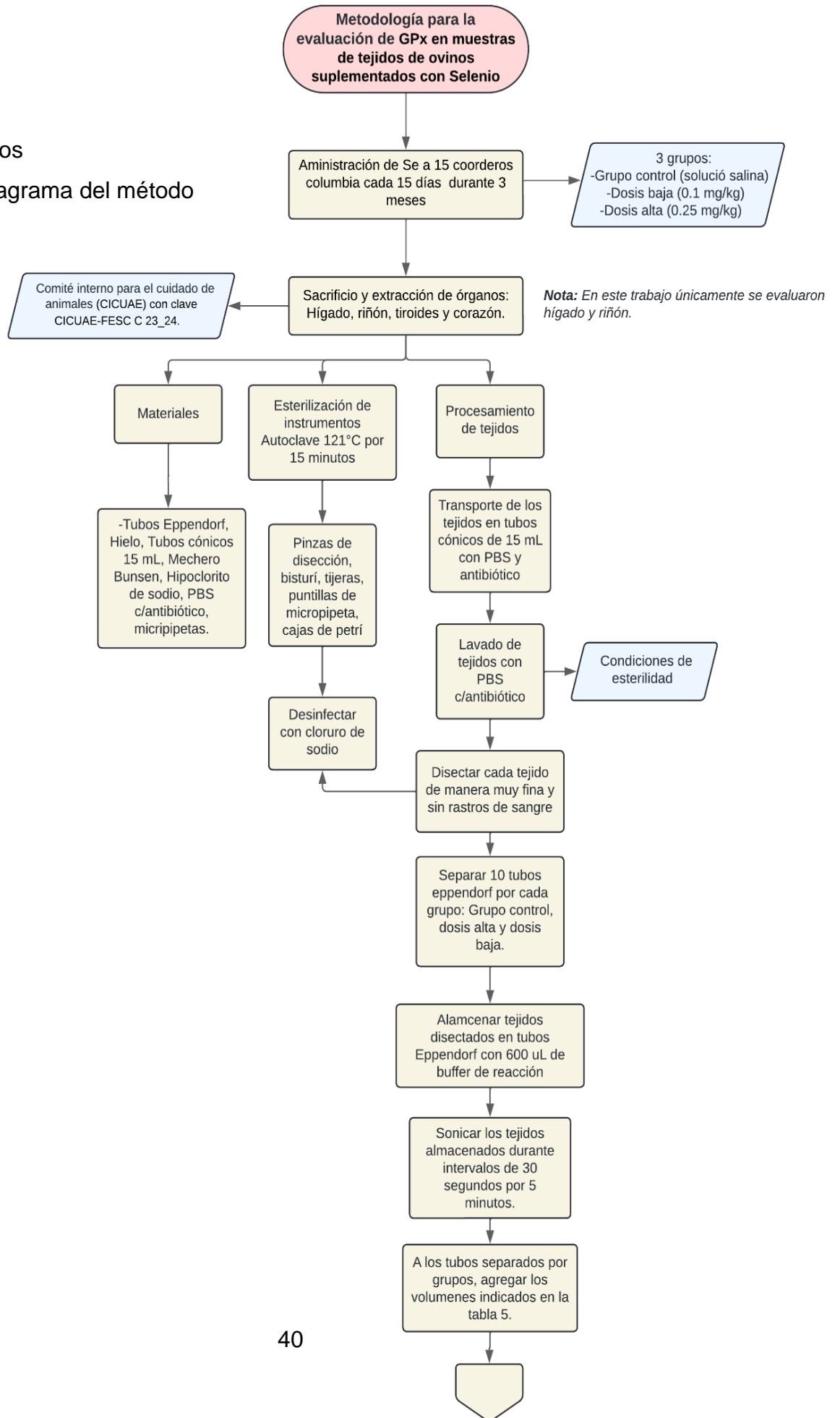
**Tabla 3.** Materiales, Instrumentos y Equipos.

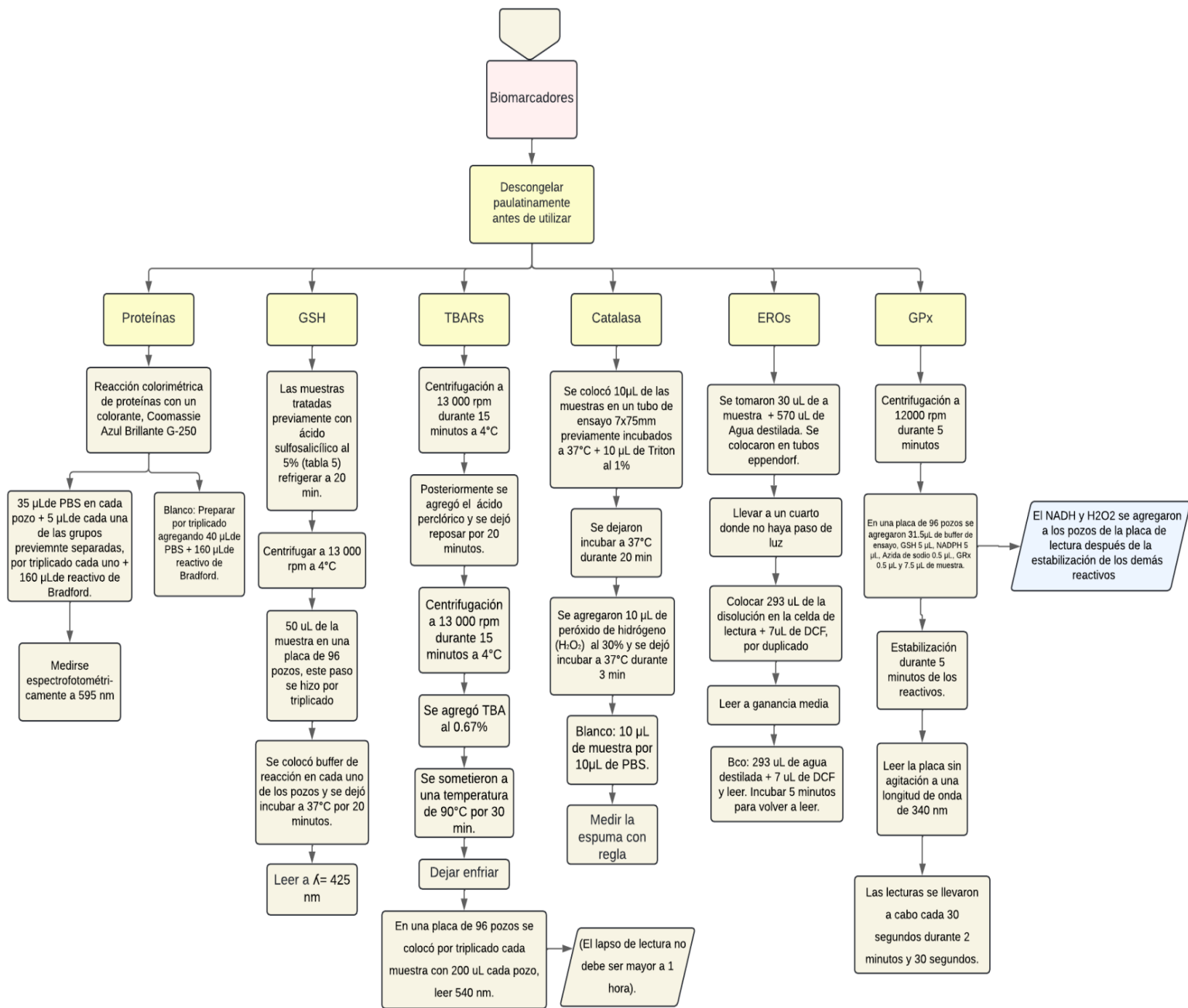
<b>MATERIALES</b>	<b>INSTRUMENTOS</b>	<b>EQUIPOS</b>
Tubos eppendorf	Bisturí	Autoclave
Cajas Petri	Hojas de bisturí	Incubadora
Gradillas	Pinzas de disección	Espectrofotómetro de 96 pozos
Guantes	Tijeras de disección	Vortex
Puntilla para micropipetas	Micropipetas	Baño maria
Tubos de ensaye	Pipetas	Refrigerador
Tubos cónicos	Pipeta multicanal	-----
Pipetas	-----	-----



## 2. Métodos

### 2.1 Diagrama del método





## 2.2 Modelo de estudio y administración del Se

El trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Enseñanza Agropecuaria de la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán. Se usaron 15 corderos Columbia, los cuales se dividieron en tres grupos, animales suplementados vía parenteral con selenato de potasio con una dosis de 0.1 mg/kg, 0.25 mg/kg y animales sin tratamiento tratados con solución salina fisiológica. Los animales fueron administrados durante tres meses en lapsos de 15 días entre cada administración con las dosis establecidas y anteriormente mencionadas.

Posterior al término de estos meses se prosiguió con el sacrificio y la extracción de los órganos para su análisis: riñón, hígado, tiroides y corazón, sin embargo, para este trabajo únicamente se utilizarán los resultados obtenidos de las pruebas de riñón e hígado. Los animales fueron manejados bajo las normas del comité interno para el cuidado y uso de los animales de experimentación (CICUAE) con clave CICUAE-FESC C 23\_24.

Como primer paso fue necesario preparar todo el material que se iba utilizar para el posterior procesamiento del tejido.

### 2.2.1 Preparación del material

Se llevaron a esterilización pinzas de disección, bisturí, tijeras, cajas de petri y puntas para micropipetas, en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Se verificó que hubieran tubos Eppendorf con 600 ul de buffer, suficiente hielo, tubos cónicos de 15mL con PBS para el transporte del tejido, botellas con 500 mL de PBS con antibiótico para llevar a cabo los lavados de la muestra, recipientes con hipoclorito de sodio para la desinfección del material después de su uso y la disponibilidad de cajas para el almacenamiento del tejido.

### 2.2.2 Procesamiento de los tejidos

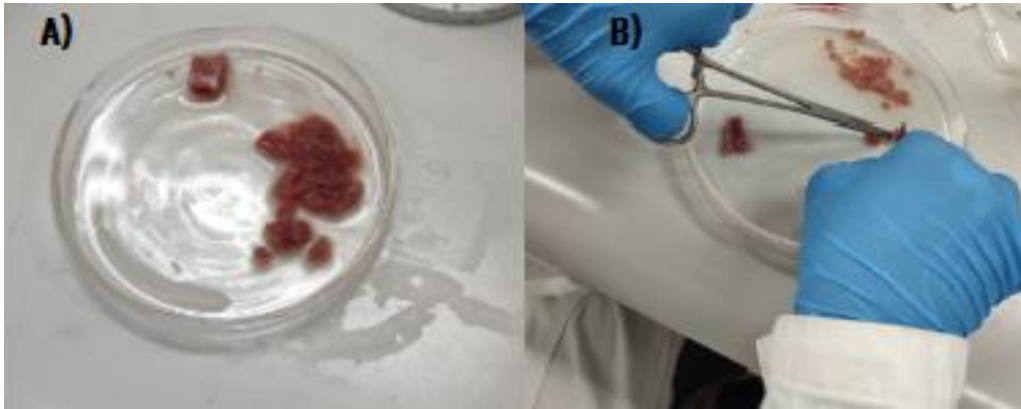
Al ingresar los tejidos al laboratorio (hígado y riñón) se procedió a la limpieza de los mismos, es decir, en un ambiente de esterilidad y con material esterilizado se llevaron a cabo lavados con PBS y antibiótico con el objetivo de inhibir la proliferación bacteriana procurando retirar la mayor cantidad de la cápsula adiposa que recubre al riñón, también se procuró limpiar ambos órganos tratando de reducir el exceso de tejido sanguíneo; Después de fragmentar ambos órganos por separado, se almacenaron en tubos eppendorf de 1mL y se congelaron a 4°C, también se sometieron a sonicación para la disgregación de las membranas celulares cada 30 segundos durante 5 minutos.

### 2.2.3 Separación del tejido para cada prueba

Para poder optimizar las muestras y lograr llevar a cabo todas las pruebas necesarias se dividieron en tubos eppendorf con los siguientes volúmenes.

**Tabla 4.** Volúmenes ocupados para la separación de los tejidos.

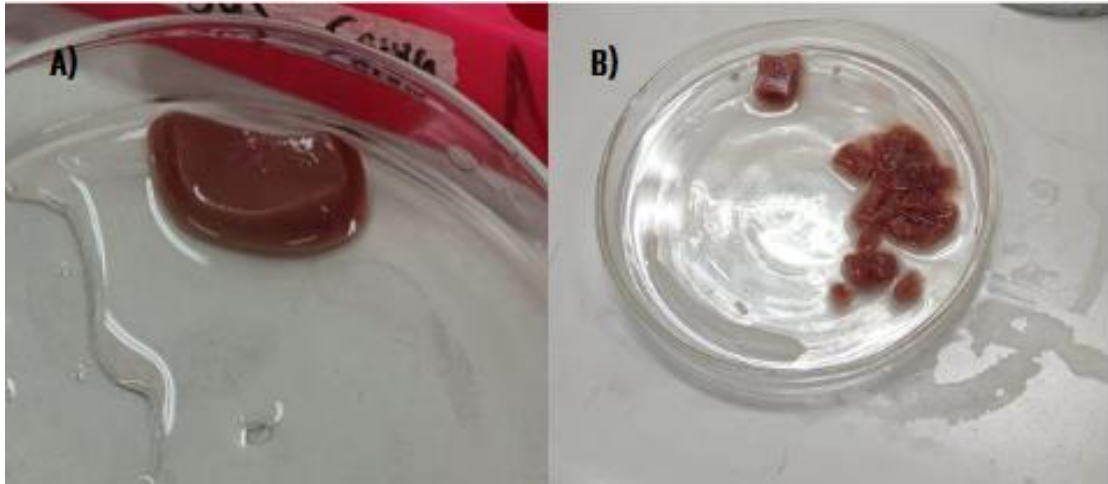
Prueba	Volumen de la muestra original (uL)	Diluyente
GSH	150 $\mu$ L	Ácido sulfosalicílico 5%
TBARS	300 $\mu$ L	2.5% de ácido perclórico
Catalasa	50 $\mu$ L	PBS c/antibiótico
EROs	293 $\mu$ L	DCF
GPx	7.5 $\mu$ L	Buffer de ensayo



**Figura 14. Muestras de tejido de riñón (disección y lavado).** En la imagen se muestra el tejido de riñón. A) Lavados realizados al tejido B) El tejido fue cortado en pequeños trozos antes de ser homogenizado y sonificado



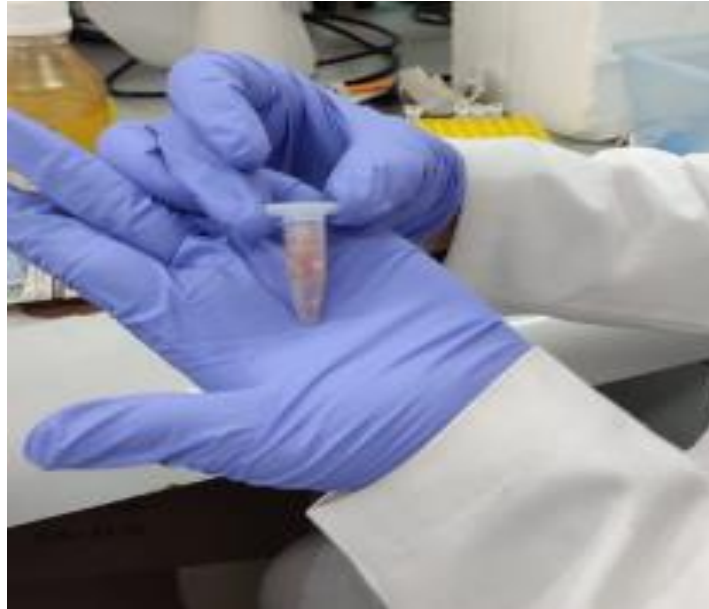
**Figura 15. Tejido de riñón durante la disección**



**Figura 16. Muestra de tejido hepático (disección y lavado).** En la imagen se muestra el tejido hepático. A) Lavados realizados al tejido B) El tejido fue cortado en pequeños trozos antes de ser homogenizado y sonicado.



**Figura 17. Tejido hepático después de la disección y lavado**



**Figura 18. Colocación del tejido renal en tubos eppendorf para su almacenamiento**



**Figura 19. Colocación del tejido hepático en tubos eppendorf para su almacenamiento**

## 2.3 Medición de biomarcadores

### 2.3.1 Proteínas

El método se basa en una reacción colorimétrica de proteínas con un colorante, Coomassie Azul Brillante G-250. Las proteínas se unen al colorante en un ambiente ácido induciendo un cambio espectral del color marrón (absorbancia máxima a 465 nm) al azul (absorbancia máxima a 595 nm en pH mayor a 2). Las interacciones hidrófobas e iónicas con las proteínas de la muestra estabilizan la forma aniónica del tinte provocando un cambio de color visible. En una placa de 96 pozos se agregaron 35  $\mu\text{L}$  de PBS en cada pozo, después se agregó 5  $\mu\text{L}$  de cada grupo previamente separado (grupo control, grupo dosis alta 0.25 mg/kg y grupo dosis baja 0.1 mg/kg) y buffer de lisis, por triplicado y después se agregó 160  $\mu\text{L}$  de reactivo de Bradford en cada uno de los pozos con una pipeta multicanal de 20-200  $\mu\text{L}$ , el blanco se preparó por triplicado agregando 40  $\mu\text{L}$  de PBS y 160  $\mu\text{L}$  de reactivo de Bradford. Por lo tanto, el color azul desarrollado es proporcional al contenido de proteína y puede medirse espectrofotométricamente a 595 nm. (Cellculture, 2022). Desde el momento de agregar el reactivo se dejaron pasar 10 min para posteriormente leer la placa en el espectrofotómetro a 595nm.(Fernández et al, 2021)

### 2.3.2 GSH

Para determinar los niveles de GSH se utilizará la técnica de DTNB que se basa en la reacción del GSH de la muestra con el DTNB, produciendo GS-TNB y TNB que es un producto color amarillo que puede leerse a una longitud de onda de  $\lambda = 425 \text{ nm}$ . La prueba se realiza con las muestras seleccionadas para la prueba de GSH tratadas previamente con ácido sulfosalicílico al 5% (ver Tabla 4 “Volúmenes ocupados para la separación del tejido”). Se llevaron a refrigeración durante 20 minutos y se procedió a centrifugar a 13 000 rpm a 4°C. Algunas de las muestras se diluyeron con PBS con el objetivo de que las lecturas fueran más precisas. Se



colocaron 50  $\mu\text{L}$  de la muestra en una placa de 96 pozos, este paso se hizo por triplicado. Se colocó buffer de reacción en cada uno de los pozos y se dejó incubar a  $37^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Al término del tiempo, se llevó al lector y se leyó a la longitud de onda previamente mencionada.

### 2.3.3 Ensayo de Lipoperoxidación (TBARs)

La técnica consiste en la detección del malondialdehído que es un producto resultado de la oxidación de lípidos, el cual al reaccionar con el ácido tiobarbitúrico forma un aducto color rosa. Las lecturas se realizan a una longitud de onda de  $\lambda = 540 \text{ nm}$ . Las muestras se descongelaron paulatinamente y se llevaron a centrifugación a 13 000 rpm durante 15 minutos a  $4^\circ\text{C}$ . Posteriormente se agregó el ácido perclórico y se dejó reposar por 20 minutos.

Una vez transcurrido el tiempo se centrifugaron las muestras por segunda vez bajo las mismas condiciones. Se agregaron 350  $\mu\text{L}$  ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0.67%. Durante 30 minutos, las muestras se sometieron a una temperatura de  $90^\circ\text{C}$  y posteriormente se dejaron enfriar. En una placa de 96 pozos se colocaron por triplicado cada muestra con 200  $\mu\text{L}$  cada pozo y se leyó a una longitud de onda de 540 nm. (El lapso de lectura no debe ser mayor a 1 hora).

### 2.3.4 Ensayo Catalasa

La cuantificación de la actividad de la enzima catalasa, se basa en la preparación de una curva de calibración con unidades establecidas de actividad. Donde la catalasa en medio de reacción con tritón x-100 y  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% generan espuma que es directamente proporcional a la actividad de la enzima. Para su cuantificación se agregaron 10 $\mu\text{L}$  de las muestras previamente descongeladas, en un tubo de ensayo 7x75mm previamente incubados a  $37^\circ\text{C}$  y se agregaron 10  $\mu\text{L}$

de Triton al 1%, se dejaron incubar a 37°C durante 20 min. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se agregaron 10 µL de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 30% y se dejó incubar a 37°C durante 3 min. Para el blanco se agregaron los 10 µL de muestra por 10µL de PBS. Para determinar la capacidad enzimática de la catalasa se midió la altura de la espuma.

### 2.3.5 Medición de Especies Reactivas de Oxígeno (EROs)

La medición de las especies reactivas de oxígeno se realizó mediante la técnica de la 2-7 diclorofluoresceína diacetato (DCFDA). La 2-7 DCFDA se convierte en 2,7-diclorofluorescína (DCF) que es un producto fluorescente cuando es oxidado por especies reactivas de oxígeno y otros peróxidos a una  $\lambda_{ex}=488$  y una  $\lambda_{em}=525$ . Se tomaron 30 µL de muestra del tejido + 570 µL de agua destilada y se colocaron en tubos Eppendorf. Se procedió a realizar las pruebas en un cuarto oscuro asegurándose que no hubiera ningún rayo de luz. Se colocaron 293 µL de la dilución en la celda de lectura + 7 µL de DCF por duplicado, se leyó en ganancia media. Para precipitar el blanco, se colocaron 293 µL de agua destilada + 7 µL de DCF. Se llevó a incubación durante 5 minutos y se procedió a leer.

### 2.3.6 Ensayo glutatión peroxidasa (GPx)

Las muestras de los tejidos fueron sometidas a centrifugación a 12000 rpm durante 5 minutos, en una placa de 96 pozos se agregaron 31.5µL de buffer de ensayo, GSH 5 µL, NADPH 5 µL, Azida de sodio 0.5 µL, GRx 0.5 µL y 7.5 µL de muestra. Durante 5 minutos se permitió la estabilización de los mismos (el NADH y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se agregaron a los pozos de la placa de lectura después de la estabilización de los demás reactivos), se procedió a la lectura de la placa sin agitación a una longitud de onda de 340 nm. Las lecturas se llevaron a cabo cada 30 segundos durante 2 minutos y 30 segundos.

## 2.4 Análisis estadístico

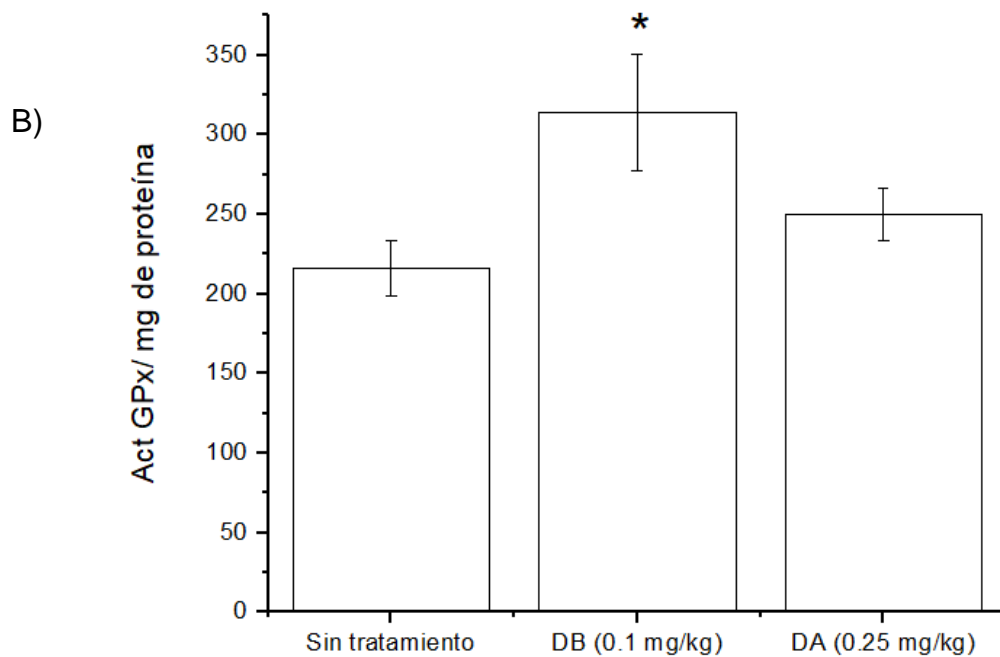
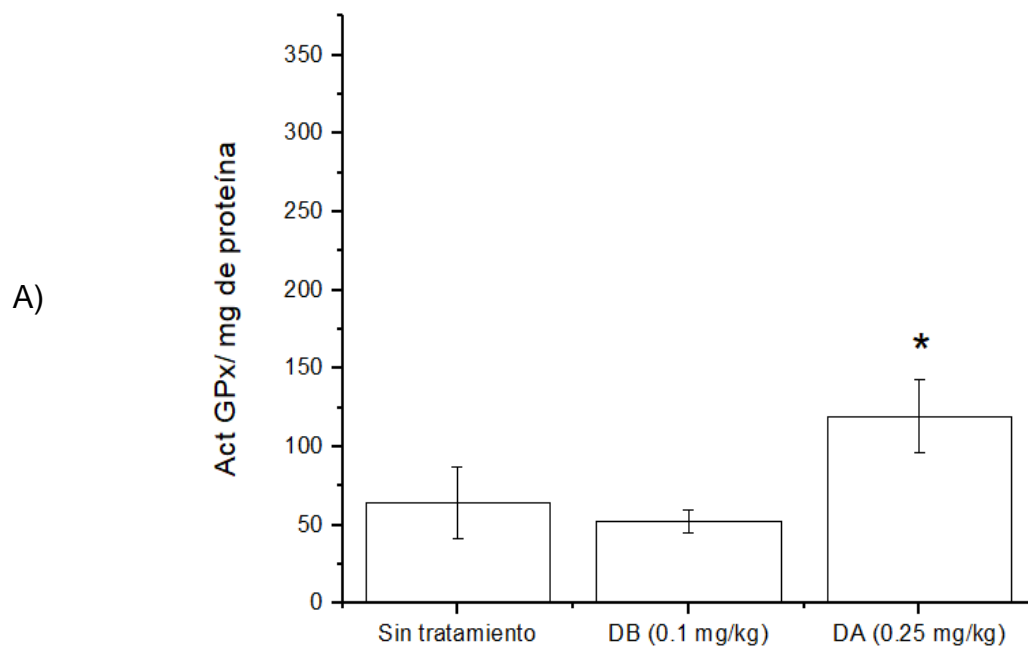
Para este estudio se realizó una ANOVA de una vía, seguido de un análisis múltiple de medias (Tukey  $p < 0.05$ ), con el programa origin Lab 2023.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Actividad de Glutación peroxidasa

La glutatión peroxidasa, como se mencionó con anterioridad es una enzima es selenodependiente. El Se es un componente de la enzima glutatión peroxidasa, la cual detoxifica los peróxidos lipídicos y provee protección a las membranas celulares y sub-celulares contra el estrés oxidante (Lubos, Loscalzo y Handy, 2011). Por lo que, se esperaba que la suplantación de Se incrementara la actividad de esta enzima y a la par modificara algunos biomarcadores asociados al estado redox para poder determinar si la suplementación estaba teniendo un efecto antioxidante o prooxidante en los animales suplementados.

En la gráfica 1 inciso A) se puede observar que la actividad de la glutatión peroxidasa solo se encuentra incrementada de forma significativa en la dosis alta de Se, mientras que en dosis baja permanece similar a la del control. Lo cual sugiere que un incremento en los niveles de Se por lo menos en tejido hepático si incrementan la actividad de esta enzima.



**Gráfica 1. Actividad de GPx en riñón e hígado.** A) tejido hepático, B) tejido de riñón; de corderos suplementados con diferentes concentraciones de Se. (\*) sobre la barra indica que hay diferencias significativas respecto al control (Tukey  $p < 0.05$ ).

En la gráfica 1 B) Se puede observar que, en el caso del riñón, únicamente con la concentración baja se vio incrementada la actividad de la glutatión peroxidasa. Se demuestra que la función del Se persiste en tejidos como el riñón, tal como lo menciona (Manzanares-Castro, 2007) ya que es denominado como un sitio de acumulación. Para poder corroborar si el efecto en la modificación en la actividad de la glutatión peroxidasa se debió a la suplementación con Se se midieron otros biomarcadores, entre ellos otra enzima como la catalasa cuya actividad no está ligada a la presencia de Se.

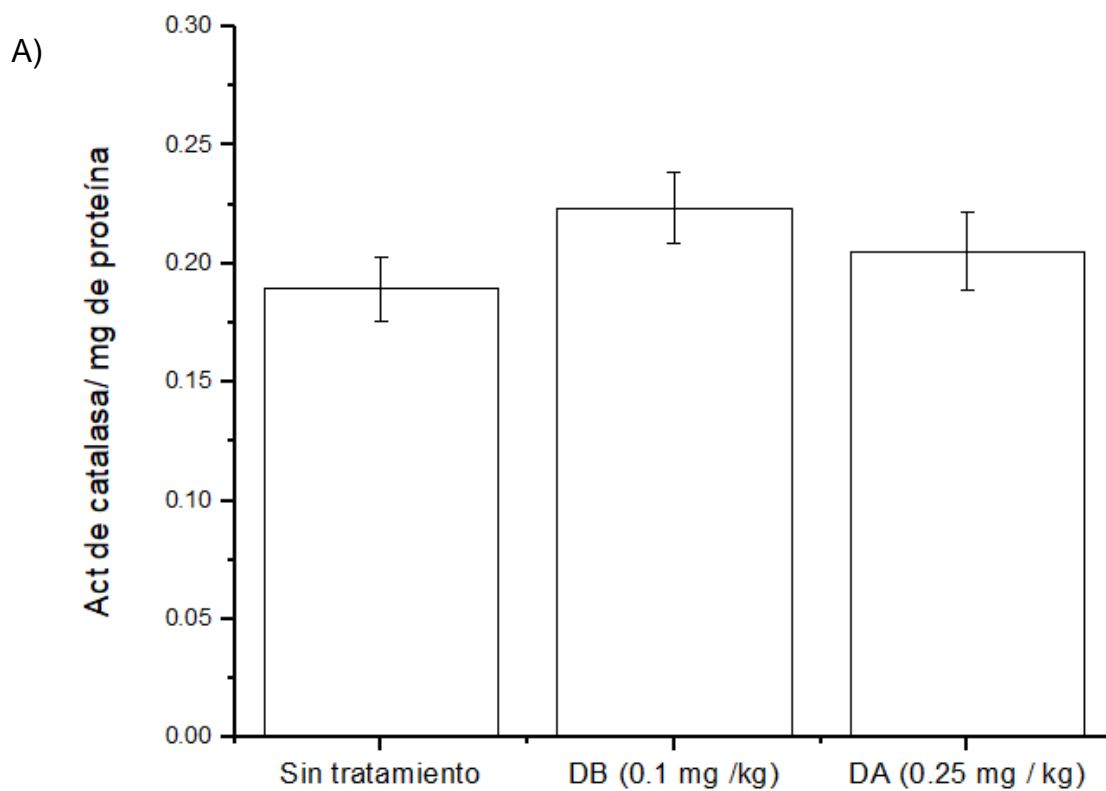
## 2. Actividad de Catalasa

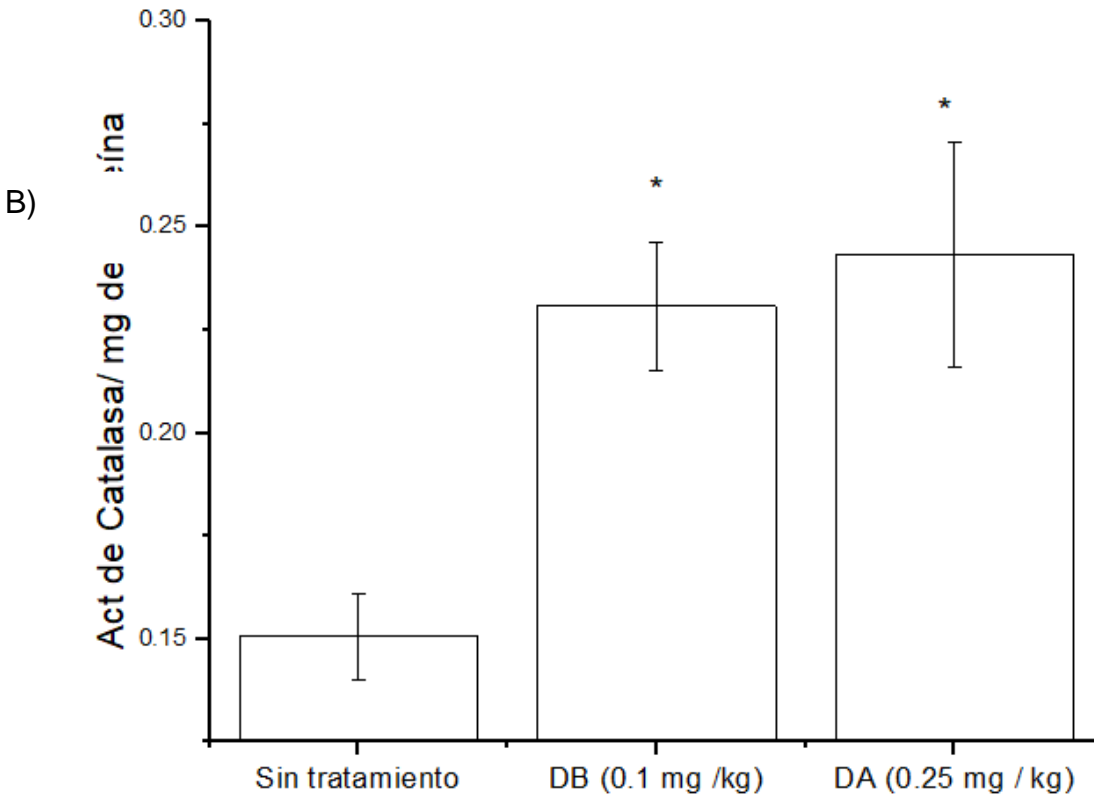
La catalasa (peróxido de hidrógeno: peróxido de hidrógeno oxidoreductasa, EC 1.11.1.6) es una de las enzimas más abundantes en la naturaleza y se encuentra ampliamente distribuida en el organismo humano, aunque su actividad varía en dependencia del tejido; ésta resulta más elevada en el hígado y los riñones (Céspedes, 1996). Como se observa en la Gráfica 2, en el inciso a), la actividad de la catalasa no se ve modificada significativamente por la administración del Se en ninguna de las concentraciones en comparación con el grupo control.

La catalasa es una enzima que no es dependiente de Se, sin embargo, dependiendo de la concentración actúa como peroxidáticamente de modo que una variedad de donadores de hidrógeno, pueden ser oxidados. A altas concentraciones de substrato, la catalasa descompone el peróxido de hidrógeno rápidamente por medio de una reacción catalítica en la cual el  $H_2O_2$  actúa como aceptor, pero también como donador de moléculas de hidrógeno.

Correlacionando los resultados obtenidos en esta experimentación, es posible observar que los niveles de EROs se encuentran elevados aún en el grupo control. La literatura refiere que la catalasa es el degradador primario de  $H_2O_2$ , por lo tanto su actividad puede verse incrementada por el aumento de los EROs (el

peróxido de hidrógeno forma parte de este grupo molecular) (ver gráfica 2 Actividad de catalasa en hígado y riñón). Cumpliendo su función ayudando a conservar el balance óxido/reducción (Correa, S. 2001).





**Gráfica 2. Actividad de catalasa en hígado y riñón.** A) tejido hepático, B) tejido de riñón; de corderos suplementados con diferentes concentraciones de Se. (\*) sobre la barra indica que hay diferencias significativas respecto al control (Tukey  $p < 0.05$ ).

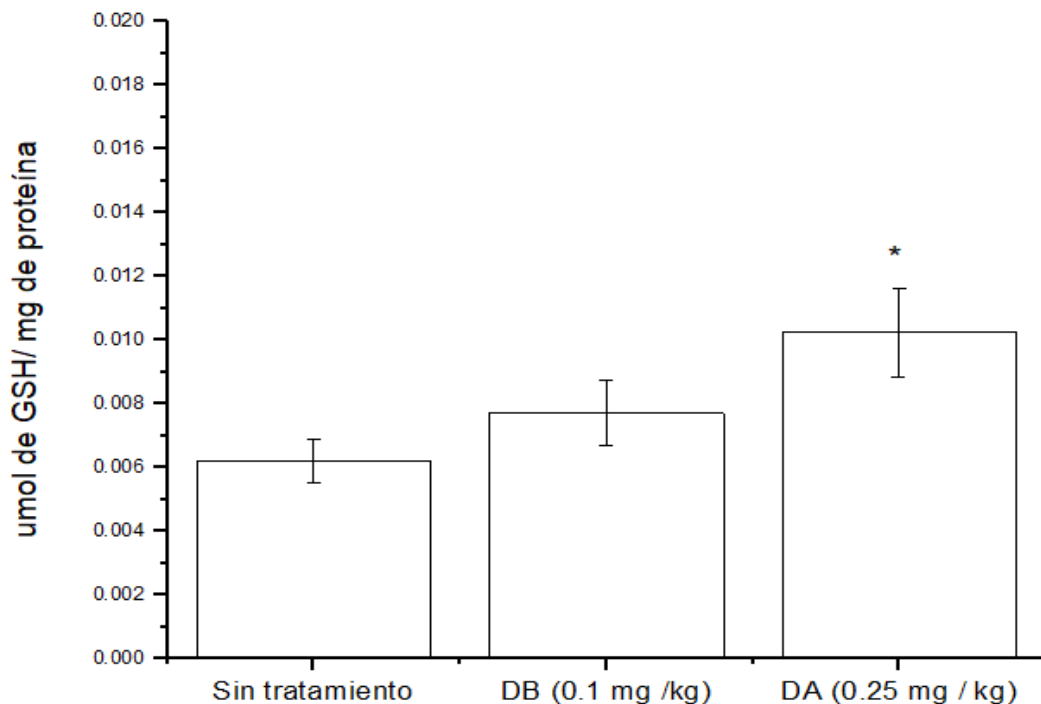
En referencia a la gráfica 2 inciso b) Tejido de riñón, se puede observar que la actividad de catalasa incrementa significativamente con la administración de las dos dosis. El resultado se relaciona con una mayor actividad enzimática antioxidante, la cual se sabe aumenta en presencia de ciertas concentraciones de Se (Freeman et al., 2010). El riñón funciona como reservorio del Se, ya que su alto contenido en el epitelio tubular renal es debido a la capacidad de reabsorción de selenoaminoácidos de los túbulos renales, con la consiguiente acumulación de Se (Manzanares-Castro, 2007).

Con estos resultados y relacionándolos con los de la actividad de la glutatión peroxidasa, podríamos sugerir que sólo la dosis alta de Se está activando los mecanismos enzimáticos antioxidantes a nivel celular tanto los no dependientes

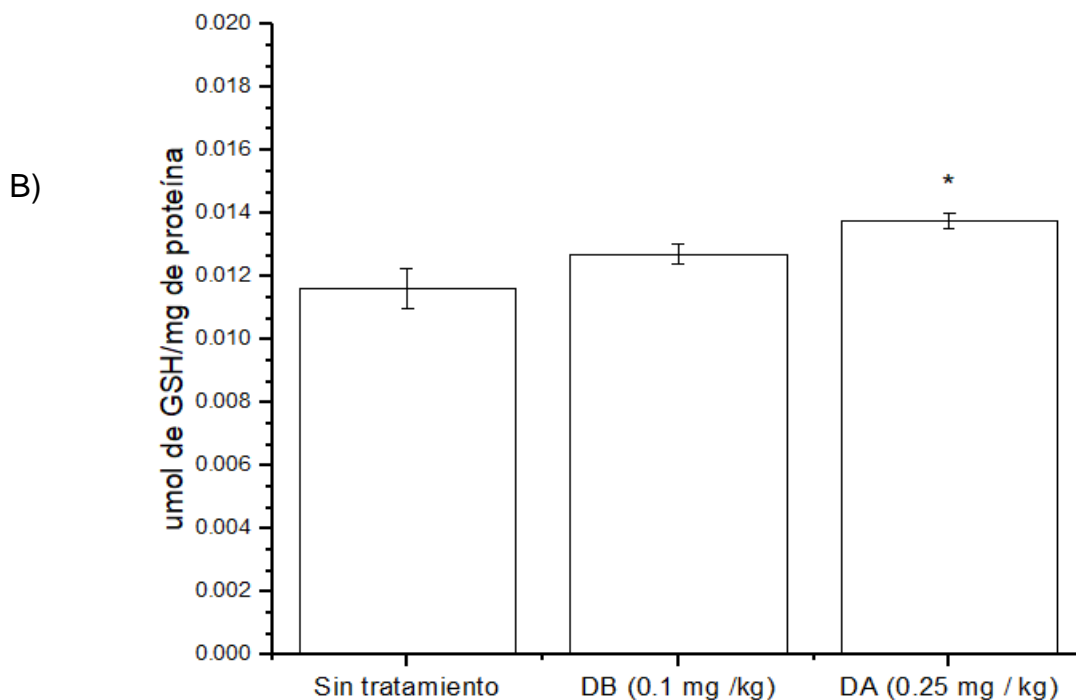
como los dependientes de Se. Mientras que en las dosis bajas parece no tener efecto significativo.

### 3. Actividad de GSH

De acuerdo con los resultados obtenidos en la gráfica 3 “Niveles de GSH (en su forma reducida) en hígado y riñón”, los niveles de GSH se modifican en ambos tejidos en la concentración más alta. Tanto hígado como riñón son órganos importantes para la biotransformación del Se por qué son los principales órganos involucrados en la síntesis y degradación de GSH, como así también en la circulación inter-órgano. El hígado es el órgano que posee las concentraciones más altas de GSH y es un órgano central en dos aspectos importantes para la biosíntesis de GSH: Los hepatocitos son las únicas células que tienen la habilidad de utilizar metionina para la síntesis de GSH a través de la vía de la transulfuración, en la cual la metionina es convertida a cisteína y luego esta última es utilizada en la síntesis de GSH. La síntesis hepática de GSH depende de la velocidad de exportación de GSH al plasma, bilis y mitocondria mediante los distintos sistemas de transporte (Denzoin, 2013).







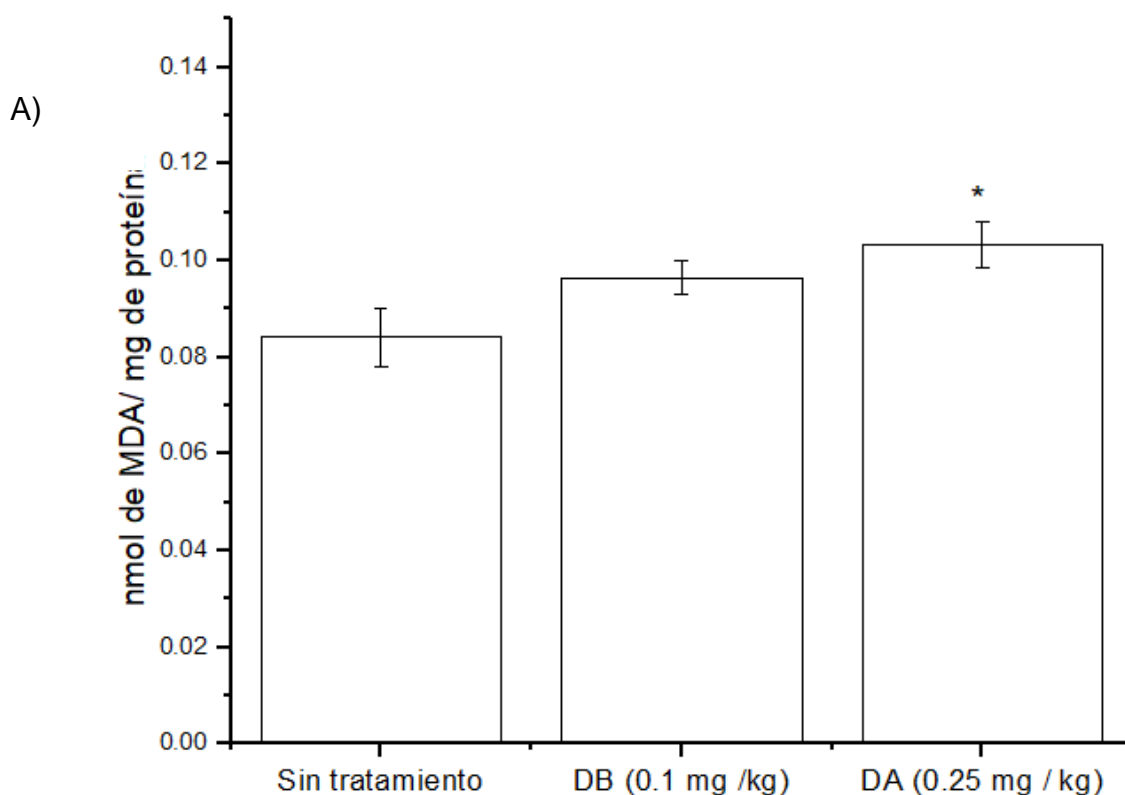
**Gráfica 3. Niveles de GSH (en su forma reducida) en hígado y riñón.** A) tejido hepático, B) tejido de riñón; de corderos suplementados con diferentes concentraciones de Se. (\*) sobre la barra indica que hay diferencias significativas respecto al control (Tukey  $p < 0.05$ )

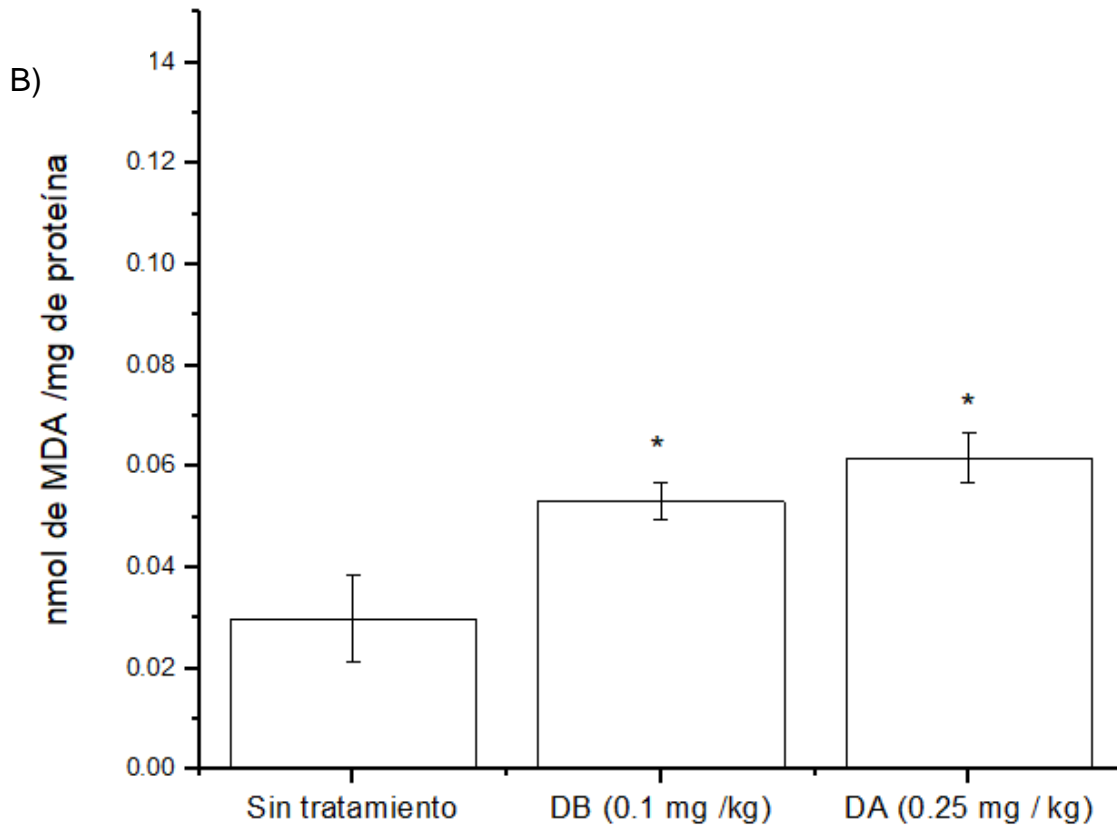
El Se como se mencionó con anterioridad es un antioxidante celular, sin embargo, un incremento en sus niveles también pudiera generar una respuesta de la célula generando un estrés reductor en ella. En condiciones de estrés oxidante severo, la habilidad de la célula para reducir GSSG a GSH se encuentra superada, tendiendo entonces a la acumulación de GSSG.

Con este biomarcador podríamos sugerir que el incremento en la actividad de la glutatión peroxidasa puede deberse a un incremento a nivel celular del glutatión, si bien el glutatión no contiene Se, las enzimas que lo sintetizan y las enzimas que lo usan como la glutatión peroxidasa sí lo contienen, independientemente de que la respuesta parezca más una respuesta prooxidante que oxidante, la alteración pareciera ser que es debido a la suplementación dosis alta.

#### 4. Actividad de TBARs

Las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico son el resultado de la oxidación de lípidos de la membrana, principalmente se genera el malondialdehído. Cuando hay un estímulo externo que genera la oxidación de estos lípidos, se incrementan los niveles de malondialdehído a nivel celular. En el caso de los tejidos analizados podemos observar que en el hígado únicamente la concentración alta administrada de Se incrementó los niveles de malondialdehído, mientras que la concentración baja mantiene niveles similares al del grupo control.





**Gráfica 4. Niveles de MDA en hígado y riñón.** A) tejido hepático, B) Tejido de riñón; de corderos suplementados con diferentes concentraciones de Se. (\*) sobre la barra indica que hay diferencias significativas respecto al control (Tukey  $p < 0.05$ ).

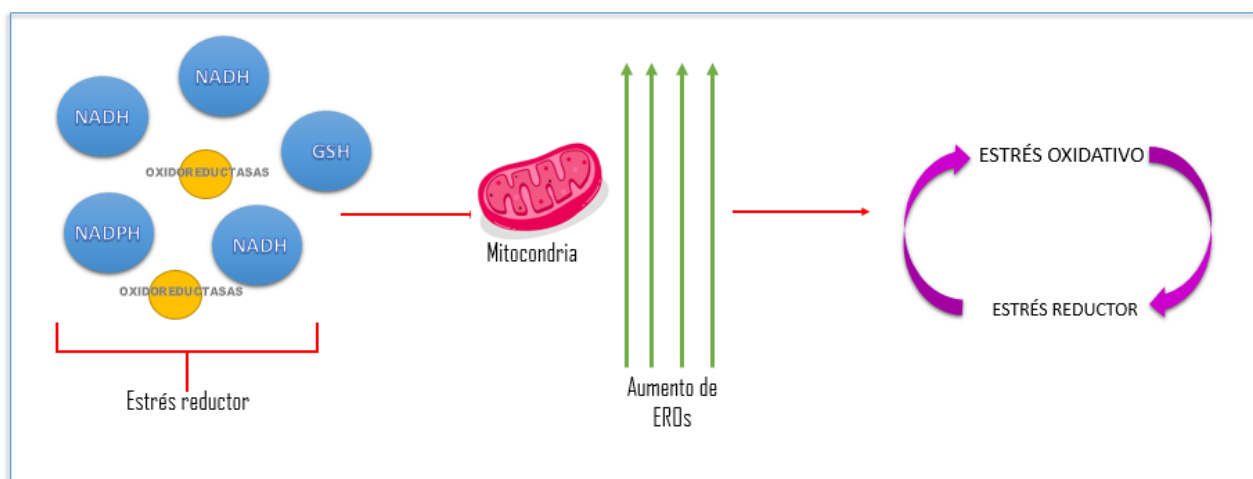
El origen del daño hepático se ha relacionado con la existencia de radicales libres (RL) que pueden lipoperoxidar a componentes celulares como las membranas, y causar alteraciones que llevan a la pérdida de la función celular (ATSDR, 2013).

El MDA aumentado en hígado respecto al tejido renal, se debe a que en éste tejido es donde ocurre la mayor función metabólica. Sin embargo, la **Gráfica 4.** “Niveles de MDA en hígado y riñón” permite observar que en ambos tejidos existe una elevación de producción de MDA en los grupos administrados con dosis mayores. Este aumento tiene que ver con la dosificación más alta de Se.

De acuerdo a lo observado con este biomarcador los niveles de GSH, TBARs y la actividad de enzimas antioxidantes se encuentran elevados en los animales administrados en dosis altas, mostrando que la suplementación de Se si altera el estado redox, sin embargo presentando un efecto prooxidante en lugar de antioxidante.

### 5. Actividad de EROs

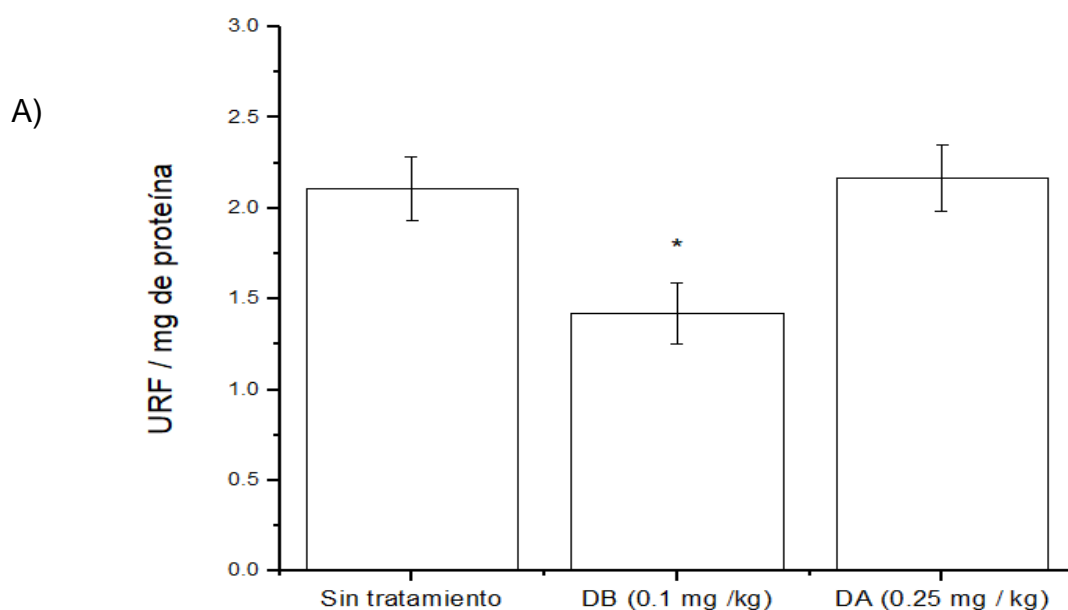
El concepto de estrés reductor si bien no está del todo definido, se puede considerar como el desbalance entre las especies antioxidantes/reductoras. una acumulación excesiva de equivalentes reductores específicamente NADH, NADPH y GSH que exceden la capacidad de las oxidoreductasas endógenas (Xiao, 2020). En las mitocondrias aisladas, se sabe que el estrés reductor (cocientes NADH/NAD<sup>+</sup> y NADPH/NADP<sup>+</sup> elevados) promueve el exceso de EROs a un nivel que excede la capacidad antioxidante, y aun cuando los sistemas antioxidantes dependientes de NADPH también incrementan su actividad generalmente de manera paralela. En otras palabras, el estrés reductor puede inducir estrés oxidante, que a su vez estimula nuevamente estrés reductor. (Licona, 2022).



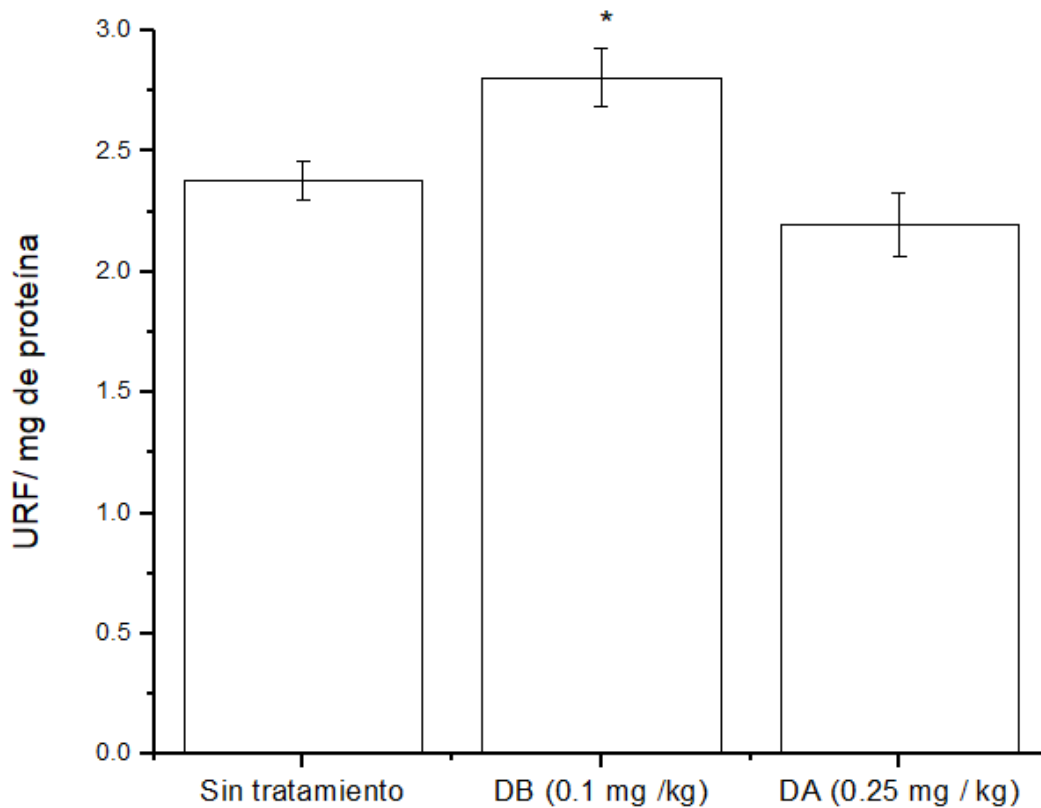
**Figura 20. Relación entre Estrés reductor y Estrés oxidante.** Imagen recreada con información obtenida de Licona, 2022.

En comparación de la dosis baja en cada una de las pruebas, es posible observar que tiene resultados más favorables en referencia a las dosis altas. Aunque en las dosis bajas hay una obtención general menor de compuestos antioxidantes no enzimáticos como el GSH y la catalasa y compuestos Se dependientes como GPx, también hay una buena respuesta con efecto antioxidante. Se observa que los niveles de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico producidas por la peroxidación lipídica de la membrana y las especies reactivas de oxígeno, se encuentran disminuidas dejando ver que si hay una mejora en cuanto a disminución de los efectos del estrés oxidante por lo menos dosis bajas en hígado (gráfica 5 inciso A).

En cuanto a la dosis alta, una acumulación excesiva de equivalentes reductores específicamente NADH, NADPH y GSH sobrepasan la capacidad de las oxidorreductasas endógenas, provocando “estrés reductor” en las células. (Licon, 2022); se considera que por esta razón los niveles de GSH se encuentran elevados en los dos tejidos, sin embargo, es por ese mismo exceso de GSH que hay un aumento en las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico, así como en los EROS como se observa en la gráfica 5 inciso B) .



B)



**Gráfica 5. Niveles de EROs en hígado y riñón.** A) tejido hepático, B) tejido de riñón; de corderos suplementados con diferentes concentraciones de Se. (\*) sobre la barra indica que hay diferencias significativas respecto al control (Tukey  $p < 0.05$ ).

El estrés oxidante (EO) está involucrado en los procesos inflamatorios, es así como en las enfermedades del hígado se reportan altas concentraciones de especies reactivas del  $O_2$  (EROs).

El análisis en conjunto de todos los resultados de la experimentación, dejan ver que a dosis elevadas si modifican la actividad de la enzima glutation peroxidasa y este incremento en la actividad está relacionada con otros biomarcadores que también se incrementaron de forma significativa como los niveles de GSH respecto a los otros dos grupos de estudio, el aumento de TBARS, y el incremento en la actividad de la enzima catalasa.

Esta alteración en la actividad de la glutatión peroxidasa podría ser producida como un mecanismo de equilibrio para mantener el equilibrio oxido-reducción. Los resultados de esta experimentación, consideran que los ovinos suplementados con dosis de Se bajas tienen mejores resultados con efecto antioxidante. Mientras que el grupo de animales administrados a dosis altas pareciera presentar un efecto prooxidante en lugar de antioxidante.

## VIII. CONCLUSIONES

La suplementación de Se en concentraciones altas altera la actividad de estas enzimas, pero además genera un desequilibrio en el estado redox, generando una respuesta prooxidante en lugar de antioxidante como se esperaba. En el caso de la concentración baja (0.1 mg/kg) los resultados sugieren que tiene una mejor respuesta para regular el estado redox y esto se demostró con los resultados obtenidos en cuanto a la actividad de glutatión peroxidasa y relacionándolos con los otros biomarcadores medidos (GSH, TBARS, CATALASA y ROS).

Los niveles de GSH en dosis elevadas tienen resultados significativos respecto al grupo control y el grupo de dosis bajas. La saturación de este compuesto reductor da paso a dos procesos, el posible cumplimiento de su función como antioxidante balanceando los niveles de MDA, y provocando al mismo tiempo la generación producción elevada de EROs. El aumento de la enzima Catalasa podría ser ocasionado por una respuesta de la célula para equilibrar este desequilibrio redox producido.

De acuerdo a los resultados generales, se podría estar generando un estrés reductor al suplementar con dosis altas, este estrés al ser considerado como un sistema de desequilibrio entre agentes oxidantes y prooxidantes genera el aumento de EROS, lo cual se observó en los niveles incrementados de diferentes biomarcadores.

Se considera como mejor opción la administración de Se a dosis bajas (0.1 mg/kg), ya que comparado con los resultados obtenidos respecto a la administración de dosis altas (0.25 mg/kg) disminuye la probabilidad del desequilibrio redox, evitando la generación de estrés reductor y elevación de biomarcadores como malondialdehído y EROs.



## IX. PERSPECTIVAS

Medición de la actividad de otras enzimas antioxidantes no selenodependiente y selenodependientes como las tioreduxinas, superóxido dismutasa, glutatión reductasa, glutatión tranfesa, xantina oxidasa, etc que permitan corroborar que la suplementación de Se favorece el incremento de la actividad de enzimas selenodependientes.

Evaluar biomarcadores a niveles molecular que estén asociados al estado redox, como Nrf2, que es un factor de transcripción asociada a las respuestas estresoras de la célula y que además está relacionada con la síntesis de la GPx y del glutatión como moléculas antioxidantes

Medición de los niveles de Se, tanto en tejido como sangre, esto permitirá correlacionar si en el tejido el Se está presente o no. Y por lo tanto poder apoyar la hipótesis de que se trata de estrés reductor por la acumulación del Se.

Medición de otros tejidos donde el Se funge un papel importante como la tiroides que se sabe este elemento puede acumular y por lo tanto podría ejercer un mayor efecto sobre el estado redox, o el corazón, el cual como vimos es el principal órgano afectado por la deficiencia de este mineral.

Considerando que la dosis baja fue la que dio mejor respuesta, plantear la posibilidad de generar una formulación a partir de nanosistemas que permitan que el Se tenga mayor biodisponibilidad a nivel celular y por lo tanto un mejor efecto antioxidante.

## X. REFERENCIAS

1. Parada, R. (2019). Glutación: características, estructura, funciones, biosíntesis. Lifeder. <https://www.lifeder.com/glutation/>
2. Alberro, M. L. (2013). Meta-análisis del efecto de la suplementación con Selenio sobre la actividad de la Glutación Peroxidasa en distintas especies y tejidos. UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. Facultad de Ciencias. Recuperado 27 de enero de 2023, de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/1510/1/uy24-16195.pdf>
3. Alugoju, P., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2014). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
4. Andrea, D. V. L. (s. f.). Homeostasis del glutación. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572013000300007](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572013000300007)
5. Ayllón y Marta Olivé, A. S. (s/f). Estrés oxidativo y el papel del ciclo del Glutación. Andersensa.com. Recuperado el 28 de enero de 2023, de <https://andersensa.com/wp-content/uploads/2021/02/Estres-oxidativo-y-el-papel-el-ciclo-del-Glutation.pdf>
6. Ayllón, S., & Olivé, M. (n.d.). *Estrés oxidativo y el papel del ciclo del Glutación*. <https://andersensa.com/wp-content/uploads/2021/02/Estres-oxidativo-y-el-papel-el-ciclo-del-Glutation.pdf>
7. BM Editores. (2020). Enfermedad del músculo blanco - BM Editores. <https://bmeditores.mx/ganaderia/enfermedad-del-musculo-blanco/>
8. Carlos, C. C. (s. f.-b). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-)

00152019000100091[https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S)

9. Cellculture. (2022). The Bradford method to quantify protein (indirect cell quantitation). Cultivo de células. <https://cellculture.altervista.org/the-bradford-method-to-quantify-cell-protein/?lang=es>
10. Cervantes, J. (2023). Tesis. Evaluación del efecto agudo del Selenio sobre biomarcadores del estado redox celular en ovinos. BiDi UNAM.
11. Chiarle, A. (2022, 22 julio). Importancia del Selenio para la Salud Animal. nutriNews, la revista de nutrición animal. <https://nutrinews.com/importancia-del-selenio-para-la-salud-animal/>
12. Chiarle, A., & Chiarle, A. (2022). Importancia del selenio para la salud animal. nutriNews, la revista de nutrición animal. <https://nutrinews.com/importancia-del-selenio-para-la-salud-animal/#:~:text=La%20manifestaci%C3%B3n%20conocida%20de%20la,incluyen%20rigidez%2C%20debilidad%20y%20dec%C3%BAbito>
13. Cisneros Prego, E., Pupo Balboa, J., & Céspedes Miranda, E. (1997). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutatión peroxidasa. Revista cubana de investigaciones biomédicas, 16(1), 10–15. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03001997000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001997000100002)
14. Contreras, PA, Paredes, E., Wittwer, F., & Carrillo, S. (2005). Caso clínico: Brote de enfermedad del músculo blanco o miodegeneración nutricional en terneros. Revista Científica, XV (5),401-405.[fecha de Consulta 24 de Octubre de 2022]. ISSN: 0798-2259. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95915502>
15. Corrales, L., & Muñoz-Ariza, M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>

16. Data, P. (2017). *RCSB PDB - 2I3Y: Crystal structure of human glutathione peroxidase 5*. Rcsb.org. <https://www.rcsb.org/structure/2I3Y>
17. Denzoin-Volcano, L., Soraci, A., & Tapia, M. (2012). Homeostasis del glutatión. Redalyc. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53529349007>
18. Devlin, T. (2004). *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas (Cuarta edición)*. Editorial Reverté, S.A. [https://books.google.com.mx/books?id=p3DCb9ITLx8C&pg=PA592&dq=glut+peroxidasa&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwi\\_9dXbvOj8AhVEPkQIHer-A3oQ6AF6BAgHEAI#v=onepage&q=glutacion%20peroxidasa&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=p3DCb9ITLx8C&pg=PA592&dq=glut+peroxidasa&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwi_9dXbvOj8AhVEPkQIHer-A3oQ6AF6BAgHEAI#v=onepage&q=glutacion%20peroxidasa&f=false)
19. Díaz, G., Escobar, W. & Pizarro, E. (2013). Estrés Oxidativo Cuando el equilibrio se pierde. *Revista Motricidad y Persona: serie de estudios*, No. 13(No.13), N° 13. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4736013>
20. Elejalde, J. I. (2001). *Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes*. Scielo. Recuperado 24 de enero de 2023, de: <https://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf>
21. Espinosa, H. P. (s/f). *CATALASA PARA EL MANEJO DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN LA INDUSTRIA TEXTIL*. Edu.co. Recuperado el 27 de enero de 2023, de [https://repository.icesi.edu.co/biblioteca\\_digital/bitstream/10906/78583/1/TG00994.pdf](https://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/78583/1/TG00994.pdf)
22. Gutiérrez, J., & Mondragón, P. (2014, septiembre). Breve descripción de los mecanismos moleculares de daño celular provocado por los radicales libres derivados de oxígeno y nitrógeno. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*. Recuperado 24 de enero de 2023, de: <https://www.redalyc.org/pdf/473/47333055008.pdf>
23. Hefnawy, A. E., & Pérez, J. T. (2008). "Selenio y Salud animal" importancia, deficiencia, Suplementación y toxicidad1. Core.ac.uk. Recuperado el 17 de octubre de 2023, de <https://core.ac.uk/download/pdf/276548229.pdf>

24. Hernández, D. R., Briz Tena, O., & Barrera, V. (2020). El papel de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno en algunas enfermedades neurodegenerativas. Scielo. Recuperado 24 de enero de 2023, de: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0026-17422019000300006](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422019000300006)
25. Hoyos, M. (2022). REACCIONES DE ÓXIDO-REDUCCIÓN. Curso para la UNAM. <https://cursoparalaunam.com/reacciones-de-oxido-reduccion>
26. Javier López-Bellido Garrido, F., López Bellido, L., & Javier López-Bellido, F. (2013). Selenio y salud; valores de referencia y situación actual de la población española. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.5.6634>
27. Licon, J. (2022). Tesis. ESTRÉS REDUCTOR –INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA. BiDi UNAM. <http://132.248.9.195/ptd2022/marzo/0823592/Index.html>
28. Lopez Alonso, M., Miranda, M., Hernandez, J., Castillo, C., & Benedito, J. L. (1997). Glutación peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. Archivos de Medicina Veterinaria, 29(2), 171–180. <https://doi.org/10.4067/s0301-732x1997000200001>
29. López-Blancas, E., Teresa Martínez-Damián, M., Colinas-León, M. T., Bautista-Bañuelos, C., Martínez-Solís, J., & Rodríguez-Pérez, J. E. (213). ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ENZIMÁTICA DE ALBAHACA. Scielo.sa.cr. Recuperado el 27 de enero de 2023, de <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v25n2/a04v25n2.pdf>
30. López-Ortega, A. A. (2017). Estado de Estrés Oxidativo en el hígado graso experimental en ratones machos y su proyección sobre la funcionalidad hepática. <https://www.redalyc.org/journal/959/95953011004/html/>
31. Lumen Scientiae. (2020, 23 marzo). Estado redox y estrés oxidativo. [Vídeo]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=BY5yfKq2GIU>

32. Manzanares-Castro, M. (2007, junio). Selenio en los pacientes críticos con Respuesta Inflamatoria Sistémica. Scielo. Recuperado 4 de abril de 2023, de [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112007000400003](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000400003)
33. Mariaca, C. J., Zapata, M., & Uribe, P. (2016). Oxidación y antioxidantes: hechos y controversias. Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica, 24(3), 162–173. <https://doi.org/10.29176/2590843x.292>
34. Oblitas, F., Contreras, P. A., Böhmwald, H., & Wittwer, F. (2000). Efecto de la suplementación con Selenio sobre la actividad sanguínea de glutathion peroxidasa (GSH-Px) y ganancia de peso en bovinos Selenio deficientes mantenidos a pastoreo. Archivos de Medicina Veterinaria, 32(1), 55–62. <https://doi.org/10.4067/s0301-732x2000000100007>
35. REGUILLO MUÑOZ, M. C. (2018, febrero). TRABAJO FIN DE GRADO MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES EN MUESTRAS BIOLÓGICAS. FACULTAD DE FARMACIA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. Recuperado 27 de enero de 2023, de <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARIA%20DEL%20CARMEN%20REGUILLO%20MU%C3%91OZ.pdf>
36. RESUMEN DE SALUD PÚBLICA: Selenio. (2013, septiembre). Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades ASTDR. Recuperado 13 de junio de 2023, de [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs92.html#:~:text=El%20selenio%20se%20acumula%20principalmente,las%20u%C3%B1as%20y%20el%20cabello.](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs92.html#:~:text=El%20selenio%20se%20acumula%20principalmente,las%20u%C3%B1as%20y%20el%20cabello.)
37. Rye, C. (2016, 21 octubre). Ch. 1 Introduction - Biology | OpenStax. <https://openstax.org/books/biology/pages/1-introductionar-respiration-ap/a/intro-to-cellular-respiration-and-redox>

38. Science in School. (2021, 11 noviembre). Las reacciones redox celulares: la química de la vida – Science in school. <https://www.scienceinschool.org/es/article/2016/cellular-redox-living-chemistry-es/>
39. Solovera R, M. E., Cheyre F, J. E., Vecchiola C, A., Celis L, P., Sandoval A, P., & Borzone T, G. (2009). Pérdida de glutatión desde pulmones de conejo en solución de preservación para trasplante: Efectos clínicos y funcionales a corto plazo. Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias, 25(3). <https://doi.org/10.4067/s0717-73482009000300003>
40. Vinchira, J. E., & Muñoz-Ramírez, A. P. (2010). Selenio: Nutrientes. Objetivos para mejorar la composición nutricional del pescado cultivado.Org.com. Recuperado el 12 de Diciembre de 2022, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmvz/v57n1/v57n1a05.pdf>
41. Jiménez-Martínez R, Mendieta ZH, Scougall-Vilchis RJ, et al. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad periodontal. Revisión bibliográfica. Rev ADM. 2013;70(6):298-301.
42. Martínez-Sáman, J., Torres-Durán, P., & Juárez-Oropeza, M. (2011). EL GLUTATION Y SU ASOCIACIÓN CON LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS, LA ESQUIZOFRENIA, EL ENVEJECIMIENTO Y LA ISQUEMIA CEREBRAL. Mediagraphic. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2011/reb112c.pdf>
43. González -Fernández, V. (s. f.). ENFERMEDAD DEL MÚSCULO BLANCO. Hojas divulgadoras. [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1976\\_21.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1976_21.pdf)
44. López-Gutiérrez, A., Ramírez-Bribiesca, J., & López-Arellano, R. (2012, Enero). Balance de Selenio en corderos suplementados con Selenio orgánico. SciELO - Scientific Electronic Library Online. Recuperado 29 de Diciembre de 2023, de

[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-29792012000200007#:~:text=Las%20formas%20de%20suministrar%20Se,libre%20acceso%20\(P%C3%A9rez%202007\).](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792012000200007#:~:text=Las%20formas%20de%20suministrar%20Se,libre%20acceso%20(P%C3%A9rez%202007).)

45. Sabán Ruíz, J. (2012). Control Global del Riesgo Cardiometabólico.: La disfunción endotelial como diana preferencial: Vol. Vol. 1. Ediciones Díaz de Santos.

[https://www.google.com.mx/books/edition/Control\\_global\\_del\\_riesgo\\_cardio\\_metab%C3%B3l/JybKVAsuchgC?hl=es-419&gbpv=1&dq=glutation+peroxidasa&pg=PA86&printsec=frontcover](https://www.google.com.mx/books/edition/Control_global_del_riesgo_cardio_metab%C3%B3l/JybKVAsuchgC?hl=es-419&gbpv=1&dq=glutation+peroxidasa&pg=PA86&printsec=frontcover)

46. <https://www.lobov.com.ar/coomassie-r-brilliant-blue-g-250-presentacion-de-25-g--det--SE-1752401>

47. Bobadilla, E. et al. (2020) . View of Lamb production and consumption dynamic in Mexico from 1970 to 2019 Agronomía Mesoamericana extraído de: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/44473/47878>

48. Ochoa-Morales, A. (2015). Patología. Slideshare. Recuperado 16 de febrero de 2024, de <https://es.slideshare.net/arissx/degeneraciones-necrosis>



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS**  
*Francisco García Salinas*

**LA UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, LA ASOCIACIÓN MEXICANA PARA LA PRODUCCIÓN ANIMAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA A.C. Y LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA PARA LA PRODUCCIÓN ANIMAL.**

**OTORGAN LA PRESENTE**  
**CONSTANCIA**

**XLVIII**  
REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA PARA LA PRODUCCIÓN ANIMAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA  
XVII REUNIÓN DE LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL  
ZACATECAS, MÉXICO, 2023  
24, 27 Y 30 DE ABRIL

GUTIÉRREZ FERNÁNDEZ FRIDA ITZEL\*, LAURA DENISE LÓPEZ BARRERA, PATRICIA RAMÍREZ NOGUERA,  
VÍCTOR MANUEL DÍAZ SANCHEZ

**A:**

Por su valiosa participación en la presentación del trabajo en modalidad Cartel:  
**ESTUDIO DEL EFECTO DEL SELENIO SOBRE LA RESPUESTA ANTIXODANTE EN MUESTRAS DE HIGADO**

durante la **XLVIII Reunión Científica de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria A.C.**, y la **XXVII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal**, llevada a cabo en las instalaciones del Palacio de Convenciones del Estado de Zacatecas, con un valor curricular de 10 hrs.

Zacatecas, Zac., 28 de Abril de 2023

**Dr. José Manuel Salinas Ramos**  
Director UAMVZ

**M. Sc. Abelardo Comelo Polguera**  
Presidente ALPA

**Dr. José Herrera Comacho**  
Presidente AMPA