


FECHA DE ADQUISICIÓN _____
NUM. DE INVENTARIO <u>00117</u>
PROCEDENCIA _____
NUM. CALIFICACIÓN _____
PRECIO _____
DIST. _____

SF375.6  
.M47  
CID UAAAN UL  
Ej.2



TL00117

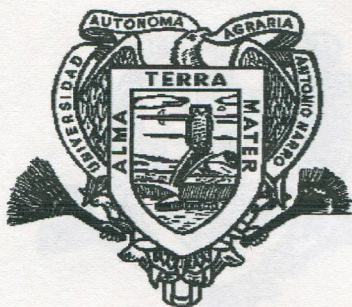


00117

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

## UNIDAD LAGUNA

### DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



## DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE SELENIO EN OVEJAS SUPLEMENTADAS CON SELENIO ORGÁNICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

POR

FRAY BENDRAMIN MERIDA ROBLERO

PRESENTA

## TESIS

FRAY BENDRAMIN MERIDA ROBLERO

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

PROFESOR

## MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MARGARITA YOLANDA MENDOZA PARRON

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO DEL 2006



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE  
SELENIO EN OVEJAS SUPLEMENTADAS CON  
SELENIO ORGÁNICO**

**T E S I S**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA**

**FRAY BENDRAMIN MERIDA ROBLERO**

**ASESOR**

**Q. B. P. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS**

**TORREÓN, COAHUILA**

**FEBRERO DEL 2006**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**TESIS**

**DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE  
SELENIO EN OVEJAS SUPLEMENTADAS CON  
SELENIO ORGÁNICO**

**APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE  
REVISIÓN**

**PRESIDENTE DEL JURADO**

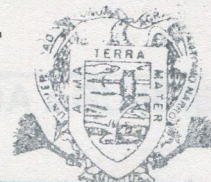
---

**M. V. Z. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE  
CIENCIA ANIMAL**

---

**M. V. Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA**



*Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal  
UAAAN - UE*

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO, FEBRERO DEL 2006**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA**

**DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE  
SELENIO EN OVEJAS SUPLEMENTADAS CON  
SELENIO ORGÁNICO**

**TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ DE  
ASESORÍA Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

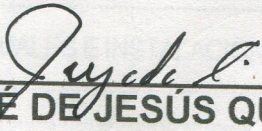
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

  
\_\_\_\_\_  
**M. V. Z. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ**

**PRESIDENTE**

  
\_\_\_\_\_  
**Q. B. P. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS**

**VOCAL**

  
\_\_\_\_\_  
**M. C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE**

**VOCAL**

  
\_\_\_\_\_  
**I. Z. JORGE BORUNDA RAMOS**

**VOCAL SUPLENTE**



# ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN .....	1
1.- UNA INTRODUCCIÓN AL SELENIO .....	3
1.1.- GENERALIDADES DEL SELENIO .....	3
1.2.- PAPEL BIOLÓGICO DEL SELENIO .....	4
1.3.- MÁS FUNCIONES DEL SELENIO .....	5
2.- LAS SELENOPROTEÍNAS .....	7
2.1.- INTRODUCCIÓN A LAS SELENOPROTEÍNAS .....	7
2.1.1.- Otras Selenoproteínas.....	10
3.- OXIDACIÓN .....	11
3.1.- ESPECIES OXIGENO REACTIVAS (ROS) Y NITRÓGENO REACTIVAS (NOS) .....	11
3.2.- ESTRÉS OXIDATIVO Y NITROSATIVO .....	14
3.3.- ANTIOXIDANTES .....	14
3.3.1.- El Selenio y la Vitamina E .....	16
3.3.2.- Función Antioxidante del Selenio .....	18
3.3.3.- Glutatión (GSH) y Glutatión Peroxidasa (GPx).....	18
4.- BIOQUÍMICA DEL SELENIO .....	21
4.1.- BIODISPONIBILIDAD DEL SELENIO.....	21
4.1.1.- Influencia del Azufre en la Biodisponibilidad del Selenio .....	23
4.2.- METABOLISMO DEL SELENIO.....	24
4.3.- MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SELENIO .....	26
5.- EFECTOS DEL SELENIO DIETÉTICO .....	30
5.1.- TOXICIDAD POR SELENIO .....	30
5.2.- DEFICIENCIAS DE SELENIO .....	31
5.3.- SELENIO ORGÁNICO CONTRA INORGÁNICO .....	32
5.4.- SUPLEMENTACIÓN CON SELENIO .....	34
6.- HIPÓTESIS .....	36
7.- OBJETIVO .....	36
8.- MATERIALES Y MÉTODOS .....	36
8.1.- DEFINICIÓN DE LOS ANIMALES E INSTALACIONES .....	36
8.2.- EQUIPO .....	38
8.3.- REACTIVOS.....	39
8.4.- OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS .....	40
8.5.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA DIGERIRLAS.....	41
8.6.- PROCESO DE DIGESTIÓN DE LAS MUESTRAS .....	41
8.7.- DETERMINACIÓN DEL SELENIO EN LAS MUESTRAS .....	43
8.8.- MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS .....	44
9.- RESULTADOS.....	45
10.- DISCUSIÓN .....	46
11.- CONCLUSIONES .....	48
12.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	49



# ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO NO. 1: ALGUNAS SELENOPROTEÍNAS Y SUS FUNCIONES .....9

CUADRO NO. 2: NIVELES PLASMÁTICOS DE SELENIO (PPM) DE LOS GRUPOS DE OVEJAS  
TESTIGO Y CON SUPLEMENTACIÓN ORAL .....45



## DEDICATORIAS

A MIS PADRES: el **C. Prof. Bendramín Mérida García** y a la **C. Profra. Janni Nelly Roblero Roblero**, ya que gracias a ellos me tocó vivir en esta época y gracias a sus palabras, a sus noches de insomnio y sobre todo a su guía soy quien ahora soy. **GRACIAS PAPÁS**

A mis hermanos: **Nory, Tonny, Eric (QEPD), Yady y Cecy** por todo el cariño y apoyo que a lo largo de la vida me han dado y sobre todo por saber que siempre los tengo y los tendré cuando más los necesite.

A mis abuelitos: la **C. Gudelio Mérida Espinoza**, la **C. Amelia García Moreno**, al **C. Prof. Waltwrio Roblero Roblero** y la **C. Amalia Roblero** por todos los consejos, la felicidad, la educación y todas las demás cosas buenas que me han dado

A mis sobrinos: **Lyan , Johny y Fernanda** por la alegría que han traído con su amor a la familia.

A mi asesora: la **Q. B. P. Margarita Yolanda Mendoza Ramos** por todo el apoyo, los sacrificios, los consejos y sobre todo el valioso tiempo que dedico a apoyarme para poder culminar esta tesis.

A todas aquellas personas queridas por mí que se han adelantado en el camino, que dios los tenga en su gloria.

A ti **DAVID** por todo lo que significas para mi y por todo lo que me has hecho sentir, que DIOS te cuide y te acompañe siempre.



## AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** y a la **SANTÍSIMA VIRGEN DE GUADALUPE** primero, ya que se que desde el cielo me cuidaron, me guiaron y me dieron la fortaleza espiritual para llevar a buen fin mis estudios profesionales.

A **Mi Familia**: por todo su apoyo, amor, cariño, consejos, dedicación y sobre todo por ser parte de mí. Los llevo en el corazón

A mis **Amigos** de la **Rondalla de Torreón** por haber compartido conmigo tantos momentos y haberme hecho pasar tantos buenos momentos.

A mis **Amigos** de la **Escuela** por su apoyo, amistad y cariño a lo largo de los 5 años de la carrera, que dios los bendiga a todos.

A todas aquellas personitas que de una u otra manera tocaron mi vida y me permitieron entrar en la propia.

A todas las personas que de una u otra forma siempre estuvieron conmigo. **GRACIAS.**

A todas las personas que me apoyaron y me ayudaron a salir adelante con esta tesis, a todos ustedes gracias.

A **Mi Mismo**: por haber cumplido con un cometido más y haberme demostrado que aunque la vida nos torture siempre podemos seguir adelante y salir triunfantes.



## AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

A la **Universidad** que me abrió sus puertas y me brindó la oportunidad de formar parte de esta gran familia: **A NUESTRA ALMA MATER.**

Al **M. C. José de Jesús Quezada Aguirre** por todo el apoyo que le dio al proyecto, y mas que nada por la amistad tan grande y tan fuerte que hizo nacer entre nosotros.

Al **M. C. Jose Luis Coronoa Medina** por todas las palabras sabias, los consejos, los regaños y todas las cosas grandes que me dijo para hacerme ver las cosas desde otra perspectiva y más que nada por su amistad.

Al **Dr. Rafael Rodríguez Martínez** por todo el apoyo, tiempo y dedicación que le brindo al proyecto y a mi persona, gracias por todo eso.

Al **M. V. Z. Manuel Esquivel Limones** por su amistad, tiempo, apoyo y por los tantos y tantos consejos que me dio para que me formara como un hombre de bien.

Al **Ing. Ramón López** y a todas las personas de CEMEX que nos brindaron apoyo para llevar a cabo este proyecto.

Al **Ing. Guadalupe** por su amistad, tiempo y dedicación. De verdad gracias.



## RESUMEN

El selenio modula la actividad celular presumiblemente por participar en la función de muchas proteínas intracelulares importantes. El selenio, un elemento traza esencial para los mamíferos, es incorporado como selenocisteína dentro de una clase selecta de selenoproteínas. Así, el selenio juega una parte vital en muchas funciones metabólicas como componente clave de la GPx, la cual está involucrada en la remoción de peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos generados en células durante el proceso oxidativo. Por su parte la selenoproteína GPx es capaz de reducir eficientemente el peroxinitrato y prevenir oxidación y nitración de proteínas. En adición a la glutatión peroxidasa, la tioredoxin reductasa, la metionina sulfóxido reductasa B, la selenoproteína P y la selenoproteína W se considera que sirven como defensa antioxidante.

La suplementación con selenio tiene marcados efectos inmunoestimulantes, incluyendo una mejora de la actividad de proliferación de las células T. En cada área, se suplementa de acuerdo a las cantidades diferentes de selenio en los forrajes cosechados y las dietas. La suplementación de las dietas de vacas lecheras con 0.3 mg de Se/kg de MS usualmente mantiene las concentraciones de plasma de selenio dentro de los rangos normales y generalmente se considera adecuada. Es muy importante saber la biodisponibilidad de selenio presente en la dieta para establecer el estado nutricional de Se en relación a la ingesta dietética y para intervenir rápidamente en casos de deficiencia de Se.

El objetivo del experimento fue comprobar si al suplementar con selenio orgánico en forma oral, los niveles plasmáticos de selenio en ovejas se elevaban. Para lo cual se trabajó con 2 grupos de ovejas, uno suplementado con 2 ppm/día de Sel Plex y otro testigo a las cuales se les tomaron muestras de sangre al inicio de la suplementación, a los 15, 30 y 45 días posteriores, determinando los niveles de selenio plasmático por la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica.



Los resultados demostraron que no hubo diferencias significativas entre los grupos ( $P > 0.1$ ), aunque dentro del grupo suplementado si se aprecia una diferencia entre el primer y último muestro, a pesar de que esta no es estadísticamente significativa ( $P = 0.06$ ).

Los resultados no mostraron diferencias significativas probablemente debido al bajo número de animales por grupo, a la ausencia de preñez (ya que la mayoría de los estudios han sido realizados en época de parto) y al nivel de suplementación que se usó.

Palabras clave; selenio, proteínas, antioxidantes, peroxidasa, enzima, selenoproteínas, glutatión, metabolismo, suplementación,



## 1.- UNA INTRODUCCIÓN AL SELENIO

### **1.1.- GENERALIDADES DEL SELENIO**

El selenio fue descubierto por Berzelius y Gahn en 1817 mientras examinaban el sedimento de una planta de ácido sulfúrico en Gripsholm, Suecia. Se entiende fácilmente que había muchos escépticos cuando la primera evidencia fue presentada en 1957 de que el selenio podía ser un elemento esencial, hasta 1997 se reconocían por lo menos 15 diferentes selenoproteínas mamíferas o selenoenzimas y arriba de 7 selenoenzimas microbianas (Whanger, 2002).

El selenio es un micronutriente esencial en la dieta de vertebrados superiores, incluyendo el hombre y otros mamíferos (Cases *et al.*, 2001; Martín-Romero *et al.*, 2001; Gromer *et al.*, 2003; Savaskan *et al.*, 2003; Carlson *et al.*, 2004). Numerosos beneficios en la salud han sido atribuidos a este elemento (Carlson *et al.*, 2004). Es obtenido principalmente de productos de cereal, pescado, pollos y la carne, casi exclusivamente en componentes orgánicos (Cases *et al.*, 2001). Es incorporado dentro de una clase selecta de selenoproteínas como selenocisteína (Gromer *et al.*, 2003).

El selenio es un elemento traza que se incorpora en forma de selenocisteína (Jeong *et al.*, 2002). Regula las funciones de muchas proteínas reguladoras involucradas en señales de transducción y afecta una variedad de actividades celulares, incluyendo crecimiento celular y supervivencia (Kim *et al.*, 2004), debido a los roles vitales que juegan para una o varias selenoproteínas (Gromer *et al.*, 2003). Induce la detención del ciclo celular en diferentes fases dependiendo de la forma de Se y el tipo de célula, modula la actividad celular presumiblemente por actuar sobre la función de muchas proteínas intracelulares importantes para las señales de transducción. Sin embargo, las funciones modulatorias del selenito y otros selenocompuestos sobre el señalamiento intracelular no están completamente caracterizadas (Gopee *et al.*, 2004).

Es un elemento traza que ha sido asociado con proliferación celular, cáncer, desarrollo y envejecimiento (Jin *et al.*, 2004). El selenio es esencial para



las células mamíferas (Kim *et al.*, 2004) y para los cultivos celulares cuando se emplea un medio libre de suero. El medio libre de suero, específicamente para células inmunes y neuronas, contiene insulina, transferrina, y selenito de sodio. Sin selenio las células no pueden ni proliferar ni sobrevivir (Saito *et al.*, 2003).

## **1.2.- PAPEL BIOLÓGICO DEL SELENIO**

Aunque fue difícil cambiar la consideración del selenio como una toxina o incluso como un carcinógeno, ahora se piensa en este como un micronutriente esencial. En 1967 y en 1972 se publicaron y establecieron las relaciones directas entre los niveles de la dieta y el selenio tisular, basándose en estudios de los niveles del selenio en los Estados Unidos. Se han trazado áreas de toxicidad de selenio alrededor del mundo, y más recientemente se han trazado las zonas con deficiencias de selenio y es significativo que las zonas con deficiencias son mucho más extensas que las tóxicas (Oldfield, 2003).

El Se tiene propiedades anticarcinogénicas y antivirales, un papel en la función reproductiva, un papel en la prevención de enfermedades del corazón y un papel en el desarrollo (Martin-Romero *et al.*, 2001). Entre los papeles biológicos adscritos al Se están la prevención del cáncer, enfermedad cardiovascular y mutación viral. Es esencial para una óptima función endocrina e inmune y modera la respuesta inflamatoria. Estas acciones biológicas están mediadas a través de la expresión de por lo menos 30 selenoproteínas codificadas por 25 genes de selenoproteínas en humanos (Beckett y Arthur, 2005).

Este elemento ha sido también implicado en el refuerzo de la función inmune y en el retardo de la progresión del SIDA en pacientes humanos positivos a VIH (Martin-Romero *et al.*, 2001). La importancia del Se en el sistema endocrino está resaltada por el hecho de que muchos tejidos endocrinos han desarrollado mecanismos para mantener relativamente altas las concentraciones de Se incluso cuando hay deficiencias dietéticas severas (Beckett y Arthur, 2005).



El Se tiene función reguladora en el crecimiento y muerte celular y modula la señal de transducción en varias células (Kim *et al.*, 2004). Es bien sabido que el Se es necesario para el cultivo celular. Sin embargo, el mecanismo del papel del selenio en la proliferación celular y la supervivencia todavía es desconocido (Saito *et al.*, 2003). Ha sido identificado como el componente en el suero bovino que es necesario para mantener las neuronas en un medio libre de suero (Savaskan *et al.*, 2003).

Es esencial en el desarrollo embrionario en mamíferos y, en adultos, los niveles de selenoproteína en muchos órganos, incluyendo el hígado, pueden ser sustancialmente reducidos por deficiencia de selenio sin ningún cambio aparente en el fenotipo (Carlson *et al.*, 2004).

El Se puede influir en tres grandes áreas por lo menos de la bioquímica celular: la función antioxidante, el estado redox y el metabolismo de la hormona tiroidea (Beckett y Arthur, 2005).

Gran parte del reciente interés en el selenio se ha dirigido hacia su efecto protector contra miopatías, tal como la comúnmente conocida "enfermedad del músculo blanco". Sin embargo, es interesante recalcar que las publicaciones cercanas al 2003, referentes al papel del selenio como un nutriente esencial para los animales domésticos, se generaron con cerdos como sujeto animal. La lesión predominante indicativa en los cerdos fue la hepatitis dietética, a menudo acompañada por corazón de mora (Oldfield, 2003).

El Se es un componente de selenoproteínas tales como la glutatión peroxidasa selenodependiente (Se-GPx) y la tioredoxin reductasa (TRx) (Kim *et al.*, 2004), así como muchas otras (Beck *et al.*, 2003; Savaskan *et al.*, 2003). Hay 4 isoenzimas de GPx que están involucradas en la degradación del peróxido de hidrógeno y los peróxidos orgánicos (Beck *et al.*, 2003).

### **1.3.- MÁS FUNCIONES DEL SELENIO**

Además de la eliminación de bacterias invasoras patógenas y hongos, el selenio también es esencial para otros aspectos de la inmunidad mediada por células. Eso incluye la remoción de virus y la destrucción de células



neoplásicas. Los posibles mediadores de estas funciones del selenio son las GPx, aunque esto no puede ser relacionado directamente con la protección contra peróxidos. Igualmente, la GPx y quizás la tioredoxin reductasa pueden influenciar el metabolismo para modular la inflamación (Arthur *et al.*, 2003).

Los testículos contienen altas concentraciones de Se y selenoproteína P. Trabajos con ratones *knockout* indican que el Se es esencial para la función testicular. Baja producción testicular, pobre calidad de esperma, motilidad dañada y defectos flagelares han sido rasgos constantes en animales selenio deficientes. La importancia del Se en reproducción en hembras no es clara; sin embargo, experimentos en roedores sugieren que la deficiencia de Se no tiene efecto significativo, incluso en la sexta generación de animales. No obstante, estudios *in vitro* usando células de la granulosa de bovinos obtenidas de folículos de diferente tamaño encontraron que el Se estimula significativamente la proliferación de pequeños folículos y aumenta los efectos estimulantes de las gonadotropinas en las mismas células. El Se también refuerza la producción de estradiol (Beckett y Arthur, 2005).

Un efecto anticarcinogénico de los compuestos del Se ha sido demostrado en varios modelos animales diseñados para estudios de diferentes tipos de cáncer. Los datos apoyan la activación de la proteína supresora del tumor p53, incrementando la resistencia contra el estrés oxidativo debido a la inducción de selenoproteínas así como las interacciones con la señal de traducción del ciclo celular. Esto es importante para futuras investigaciones del mecanismo molecular de este potencial preventivo de tumor antes de que pueda ser usado como una herramienta para terapia preventiva en pacientes con alto riesgo de desarrollo de cáncer (Bjorkhem-Bergman *et al.*, 2005).

El efecto inhibitor sobre la proliferación de células, con una preferencia por las células tumorales contra células no transformadas, se ha considerado como un mecanismo que le da capacidad anticarcinogénica al Se. Que el Se induce apoptosis en células de cáncer está relacionado con su actividad quimiopreventiva y varios grupos han mostrado que los selenocompuestos inducen apoptosis en sistemas de cultivo celular. La apoptosis es un proceso



suicida esencial para el desarrollo, mantenimiento de homeostasis de tejidos, y eliminación de células no deseadas o dañadas con rasgos morfológicos característicos que incluye daños a la membrana, condensación de cromatina y fragmentación, derrame de membrana celular, y la formación de cuerpos apoptóticos (Gopee *et al.*, 2004).

En modelos animales donde se indujo desarrollo de tumores hepáticos, los compuestos del Se han mostrado que reducen el crecimiento focal de tumores hepáticos. Aunque el selenio no parezca interferir con la activación intracelular carcinógena o interacción con macromoléculas celulares. El efecto preventivo tumoral del Se, sin embargo, no ha sido estudiado en el modelo secuencial iniciación-promoción permitiendo diferenciación de iniciación, promoción y progresión. El efecto preventivo tumoral de los compuestos del Se ha sido demostrado en cáncer humano. El mecanismo del efecto del Se no ha sido del todo entendido. (Bjorkhem-Bergman *et al.*, 2005).

La función del cerebro y la concentración de Se son bien mantenidas en ratas y ratones bajo condiciones de deficiencia de Se. La probable razón para esto es que la concentración de Se en el cerebro permanece cerca de lo normal cuando el elemento es poco suministrado incluso cuando las concentraciones de Se de otros tejidos declina drásticamente. El mecanismo por el cual el cerebro puede concentrar Se en un animal con una insuficiencia del elemento no ha sido aclarado. Recientemente, sin embargo, la eliminación del gen de la selenoproteína P (SepP) ha sido asociada con una disminución en la concentración de Se y con disfunción neurológica (Hill *et al.*, 2004).

## **2.- LAS SELENOPROTEÍNAS**

### **2.1.- INTRODUCCIÓN A LAS SELENOPROTEÍNAS**

La mayoría de los elementos traza funcionan a través de las proteínas de las cuales son constituyentes (Burk *et al.*, 2003). El selenio es un componente esencial de muchas enzimas tales como glutatión peroxidasa (GPx), tioredoxin



reductasa (Ir), y la selenoproteína P (SeP), las cuales contienen selenio como selenocisteína (Saito *et al.*, 2003).

La selenocisteína se localiza en el centro activo de las selenoproteínas. Las funciones primarias de las selenoproteínas son: su papel como antioxidantes y en la regulación del balance celular redox (Jin *et al.*, 2004). Las selenoproteínas incorporan Se traduciéndolo como una selenocisteína residual que es completamente ionizada por el pH fisiológico y actúa como un muy eficiente catalizador redox (Beckett y Arthur, 2005).

La función de la selenocisteína (Sec) como una extraordinariamente reactiva cisteína homóloga; el incremento de la reactividad de oxidoreductasas teniendo Sec en lugar de cisteína es usualmente considerada como la *raison d'être* para las selenoproteínas, a pesar de su costosa e ineficiente maquinaria de síntesis (Gromer *et al.*, 2003).

Las selenoproteínas están involucradas en muchos aspectos del metabolismo celular, lo cual incrementa el potencial para reconocer los aspectos adversos causados por la deficiencia de selenio y aquellos causados por la falla de los sistemas antioxidantes. Más de 20 selenoproteínas han sido caracterizadas por purificación, clonación, expresión recombinante y predicción de función utilizando técnicas bioinformáticas (Arthur *et al.*, 2003).

De las 30 selenoproteínas que han sido caracterizadas o identificadas bioinformáticamente, 6 son GPx's, 3 son iodotironina deiodinasas (Ds) y 2 son tioredoxin reductasas (TRx5) (Beckett y Arthur, 2005).

La mayoría de las selenoproteínas que han sido caracterizadas tienen alguna función antioxidante. La selenoproteína P ha sido implicada como un antioxidante por la aparente correlación de esta con la protección contra la necrosis inducida de hígado en ratas con deficiencia de selenio (Burk *et al.*, 2003).

La selenoproteína P es cuantitativamente la mayor selenoproteína en plasma y tiene ambos papeles, antioxidante y de transporte. Las TRx's, usan tioredoxina como sustrato y NADPH como cofactor, forman un poderoso sistema que regula el estado celular redox de las células y también puede



proteger contra estrés oxidativo. El sistema está también involucrado en muchas funciones celulares incluyendo el señalamiento celular, regulación del crecimiento celular e inhibición de la apoptosis (Beckett y Arthur, 2005).

La GPx es una enzima antioxidante que recoge los desechos de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) e hidroperóxidos orgánicos y cuyos niveles de expresión dependen de la disponibilidad del selenio (Jeong *et al.*, 2002).

Cuadro No. 1 Algunas selenoproteínas y sus funciones

<b>SELENOPROTEÍNAS MAMÍFERAS Y SUS FUNCIONES</b>		
<b>NOMBRE</b>	<b>ABREVIATURA</b>	<b>FUNCIÓN</b>
<b>Glutación peroxidasa</b>	<b>GPx's</b>	Catabolismo de hidroperóxidos; Estructura espermática
Citosólica o GPx clásica	CGPx, GPx1	Antioxidante en el citosol celular; Almacén de selenio?
GPx gastrointestinal	GI-GPx, GPx-GI, GPx2	Antioxidante en tracto gastrointestinal
GPx plasmática	pGPx, GPx3	Antioxidante en el espacio extracelular y el plasma
GPx hidroperóxido fosfolípídica	PHGPx, GPx4	Membrana antioxidante; Proteína estructural en el esperma; Apoptosis?
GPx núcleo espermática	snGPx	
Glutación peroxidasa 5	GPx5	Descocnocida
Glutación peroxidasa 6	GPx6	Homóloga de la GPx1
<b>Iodotironina deiodinasa</b>		Activan T4 y inactivan T3
Deiodinasa Tipo 1	D1, 5'DI	Junto con D2 convierten tiroxina (T4) a 3,5,3'-tri-iodotironina bioactiva (T3)
Deiodinasa Tipo 2	D2, 5'DII	Junto con D1 convierten tiroxina (T4) a 3,5,3'-tri-iodotironina bioactiva (T3)
Deiodinasa Tipo 3	D3, 5'DIII	Convierte T4 a 3',3',5'-T3 de reserva

Continúa . . .



Continúa cuadro No. 1

<b>Tioredoxin reductasa</b>	<b>TRxRs</b>	Múltiples papeles incluyendo oxidoreducción de dithiol-disulfuro, detoxificación de peróxidos, reducción de tioredoxin (control de crecimiento celular), mantiene el estado redox de los factores de trascrición, recicla la vitamina C y la síntesis de ADN
Tioredoxin reductasa 1	TRxR1	Mantenimiento citosólico
Tioredoxin reductasa 2	TRxR2	Expresada por los testículos
Tioredoxin reductasa 3	TRxR3	A nivel mitocondrial
<b>Selenofosfato sintetasa 2</b>	<b>SPS2</b>	Síntesis de selenofosfato para la síntesis de selenoproteínas
<b>Selenoproteína P</b>	<b>Sep P</b>	Proteína de transporte de selenio. Antioxidante en el endotelio
<b>Selenoproteína W</b>	<b>Sep W</b>	Antioxidante en musculatura esquelética y cardíaca
<b>Selenoproteína 15 KDa</b>	<b>Sep 15</b>	Protección contra el cáncer?
<b>H, I, K, M, N, O, R, S, T, V</b>		Papeles desconocidos
<b>Metionina sulfóxido reductasa <math>\beta</math></b>		Remoción de especies oxígeno reactivas a través de la metionina

Adaptado de Behne y Kyriakopoulos, (2001), Burk *et al.*, (2003) y Beckett y Arthur, (2005)

### 2.1.1.- Otras Selenoproteínas

Así como las GPx, las selenoenzimas forman familias de 3 tioredoxin reductasas y 3 iodotironina deiodinasas, siendo 3, de las cuales 2 (tipo I y II) activan la hormona tiroidea para convertir T4 a T3 y el tipo III inactiva T3. Estas dan funciones esenciales al selenio en el control redox de muchas funciones metabólicas en células (en particular factores de trascrición) así como en el metabolismo de la hormona tiroidea (Arthur *et al.*, 2003). La Tioredoxin reductasa mamífera es una selenoproteína que es capaz de reducir el peroxinitrato. La enzima usa NADPH para reducir las formas oxidadas de selenocisteína (Klotz *et al.*, 2003). La expresión de estas selenoenzimas juega un papel en el desarrollo embrionario (Burk *et al.*, 2003).

Otras selenoproteínas que pueden tener funciones antioxidantes son las selenoproteínas P y W. Otra proteína que contiene selenio es la selenofosfato sintetasa, la cual cataliza la producción de selenofosfato. Este selenofosfato es un precursor inorgánico esencial para la síntesis de selenocisteína de serina durante la síntesis de selenoproteínas (Arthur *et al.*, 2003).



La selenoproteína P y la glutatión peroxidasa extracelular (GPx-3) son las únicas selenoproteínas conocidas del plasma. La selenoproteína P es un buen marcador del estado nutricional de selenio. La selenoproteína P es la única selenoproteína caracterizada hasta ahora que contiene más de un átomo de selenio por cadena polipeptídica. Esta es sintetizada en hígado y secretada dentro del plasma (Burk *et al.*, 2003).

La selenoproteína P es una de las 2 más conocidas selenoproteínas extracelulares. Su concentración en plasma es sensible al estado nutricional de selenio del individuo, haciendo a esta un útil biomarcador del estado del selenio. Ésta funciona en la distribución de selenio del hígado a tejidos periféricos tal como el cerebro. Hay evidencia que esta funciona como un antioxidante, protegiendo las células endoteliales de las moléculas oxidantes. Debido a su ubicación en el plasma y a su origen predominante en el hígado, la selenoproteína P ha sido postulada como una proteína de transporte de selenio del hígado a otros tejidos, además de la afinidad de la proteína por la membrana celular (Burk *et al.*, 2003).

### **3.- OXIDACIÓN**

#### **3.1.- ESPECIES OXIGENO REACTIVAS (ROS) Y NITRÓGENO REACTIVAS (NOS)**

Las especies oxígeno reactivas son productos del metabolismo natural del oxígeno y representan aproximadamente del 1 al 2 % del oxígeno metabolizado (Paula-Lopes *et al.*, 2003). Oxígeno molecular ( $O_2$ ) y  $H_2O_2$  son precursores para la producción de más oxidantes poderosos. El  $O_2$  interactúa con el óxido nítrico (NO) para formar especies altamente nitrógeno reactivas (estrés nitrosativo), mientras  $H_2O_2$  reacciona con hierro intracelular para formar radicales hidróxilo (OH), que están altamente implicados en la degradación lipídica de la membrana celular, agregación proteica y daños al ADN (Locatelli *et al.*, 2003).



Amplia evidencia experimental muestra que las especies oxígeno reactivas (ROS) son producidas en tejidos isquémicos durante la isquemia, o particularmente durante la reperfusión post-isquémica. Además, está ahora bien establecido que el envejecimiento incrementa la sensibilidad del miocardio a isquemia y reperfusión (Tanguy *et al.*, 2003).

La generación de compuestos oxidativos es fisiológicamente relevante como un paso importante en la inflamación y el proceso de reparación tisular. Por consiguiente, representa parte del mecanismo de defensa contra invasión de microorganismos y células malignas, así como de saneamiento y remodelación tisular. Por otro lado, una inadecuada activación del proceso oxidativo puede estar crónicamente presente en situaciones patológicas, tales como uremia, contribuyendo a lesión celular y tisular. Los oxidantes son componentes altamente reactivos con una vida media de solo segundos. Sin embargo, su determinación *in vivo* generalmente no es factible. En contraste, los lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos, modificados por oxidación, tienen un rango de vida media de horas o semanas, lo cual los hace marcadores ideales del estrés oxidativo (Locatelli *et al.*, 2003).

Todas las células del cuerpo están expuestas a oxidantes tanto de fuentes endógenas como exógenas pero vienen equipadas con un sistema de defensa antioxidante (Mayne, 2003).

Los lipopolisacáridos (LPS) producen especies oxígeno reactivas (ROS) y óxido nítrico (NO) en macrófagos. Estas moléculas están involucradas en inflamación asociada con choque endotóxico. Las ROS son mediadores de lesión celular y están involucradas en el ataque de daño celular durante la endotoxemia. Las ROS están involucradas en una variedad de mecanismos de estrés celular (Kim y Mahan, 2001).

Los macrófagos juegan un papel crucial en la iniciación y mantenimiento de la inflamación. Durante la endotoxemia y la inflamación, los macrófagos son activados por LPS y citocinas. Muchos intermediarios están involucrados en la señal de traducción de LPS inducidos, tal como proteína quinasa O, proteína quinasa mitógeno activada (MAPK5), factores de transcripción del factor nuclear



(NF- $\kappa$ B y AP-1). La estimulación de macrófagos por LPS resulta en la expresión de óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS), que cataliza la producción de NO. El NO actúa como mensajero intracelular y regula funciones celulares tales como vasodilatación e inflamación. El NO tiene un papel importante en la eliminación de patógenos y células tumorales; sin embargo, el NO sobreexpresado se oxida a especies nitrógeno reactivas y resulta en la ruptura del señalamiento celular e inflamación sistémica descontrolada y choque séptico. La expresión de especies nitrógeno reactivas (NOS) es regulada por la vía que involucra a la proteína quinasa mitógeno-activada (MAPK) y al NF- $\kappa$ B en macrófagos. NF- $\kappa$ B es un factor de transcripción que modula la expresión de gran variedad de genes involucrados en la respuesta inmune e inflamatoria, incluyendo las NOS y el factor alfa de necrosis tumoral (*TNF*) (Kim y Mahan, 2001).

Sin embargo, la defensa contra el estrés estimulado por las ROS no solo consiste en dirigir la recolección de los desechos de las especies sino también en la iniciación de la prevención a largo plazo: es sabido que las ROS tal como peróxido de hidrógeno y peroxinitrato activan la vía de señalamiento que regulan la proliferación y muerte celular y en parte se considera antiapoptótico porque incluye la proteína quinasa mitógeno-activada (MAPK). La activación inducida por  $H_2O_2$  de hecho da más resistencia celular contra la oxidación. De manera similar, los iones metálicos activan las cascadas de señalización que se sabe protegen a las células contra el estrés oxidativo inducido por la apoptosis (Klotz *et al.*, 2003).

Por otro lado el sistema de generación de fagocitos oxidantes está basado en la producción de especies oxígeno reactivas inducibles (ROS) vía la reducción univalente de oxígeno molecular ( $O_2$ ) tras la exposición siguiente a un estímulo apropiado, ambos neutrófilos polimorfonucleares (PMNS) y monocitos macrófagos se activan e incrementan su consumo de  $O_2$  (el llamado estallido respiratorio). La cadena respiratoria mitocondrial representa la más poderosa fuente celular de oxidantes en el cuerpo. Oxidantes mitocondriales pueden ejercer efectos dañinos y envejecimiento celular, así como enfermedades neurodegenerativas (Locatelli *et al.*, 2003).



Las especies oxígeno y nitrógeno reactivas pueden atacar varios sustratos en el cuerpo incluyendo lípidos, ácidos nucleicos y proteínas. Si se desenfrena la oxidación de algunos de estos sustratos, se puede contribuir teóricamente al desarrollo de enfermedades crónicas (Mayne, 2003).

### **3.2.- ESTRÉS OXIDATIVO Y NITROSATIVO**

El estrés oxidativo es definido como el daño tisular resultante de un desequilibrio entre una excesiva generación de compuestos oxidantes e insuficientes mecanismos de defensa antioxidante (Locatelli *et al.*, 2003). Se define como "una perturbación en el balance prooxidante - antioxidante en favor del anterior". Así estrés oxidativo es esencialmente un desequilibrio entre la producción de varias especies reactivas y la habilidad de los mecanismos protectores naturales del organismo para cubrir con estos componentes reactivos y prevenir efectos adversos (Mayne, 2003).

El balance entre la producción y disposición de moléculas oxidantes es esencial para la homeostasis de los tejidos; por ejemplo, el incremento del rango de la producción de radicales libres o el decremento del rango de remoción primaria para la acumulación de radicales libres y daño celular (Paula-Lopes *et al.*, 2003).

### **3.3.- ANTIOXIDANTES**

Para prevenir los efectos dañinos de ROS, los sistemas antioxidantes enzimático y no enzimático, están naturalmente presentes y neutralizan los radicales libres. La superóxido dismutasa (SOD) acelera el rango de reducción de  $O_2$  a  $H_2O_2$  como la primera línea de defensa enzimática antioxidante. La catalasa reduce  $H_2O_2$  a agua (Locatelli *et al.*, 2003).

Muchos sistemas antioxidantes están presentes en la célula para asegurar la remoción de radicales libres. Entre estos sistemas, la glutatión peroxidasa es una enzima selenodependiente localizada en el citosol que utiliza el potencial de reducción del glutatión para reducir el peróxido de hidrógeno y los peróxidos orgánicos a agua (Paula-Lopes *et al.*, 2003). La glutatión



peroxidasa selenio contenedora (GPx) reduce todos los peróxidos de lípidos orgánicos y requiere glutatión (GSH) como un donador de hidrógeno. El antioxidante no-enzimático más activo está representado por el GSH, el cual es un basurero para  $H_2O_2$ ,  $OH^-$  y oxidantes clorinados (Locatelli *et al.*, 2003).

El estado antioxidante puede ser una determinante de la función reproductiva en vacas lecheras. Las consecuencia reproductivas del daño por radicales libres incluye mal funcionamiento de los espermatozoides y efectos adversos sobre la preimplantación embrionaria. Los efectos de los antioxidantes sobre la función reproductiva pueden ser más pronunciados durante el estrés calórico debido al incremento del rango metabólico asociado con hipertermia celular. La temperatura elevada incrementa la peroxidación hepática y la actividad de enzimas involucradas en la producción de radicales libres tal como la xantina oxidasa. La exposición de vacas lecheras a estrés calórico disminuye la actividad antioxidante total en la sangre. Como la mayoría de las células, la preimplantación embrionaria puede producir radicales libres. En ratones se ha observado que los efectos del deterioro por choque calórico sobre la viabilidad de la preimplantación embrionaria pueden ser reducidos por los antioxidantes incluyendo la vitamina E y el glutatión (Paula-Lopes *et al.*, 2003).

La vitamina E protege la membrana de la célula de la peroxidación lipídica formando un radical tocoferoxil reactivamente bajo. La vitamina C recoge la basura directamente de  $O_2$  y  $OH^-$ . Las proteínas de la inflamación tales como ferritina, transferrina e incluso albúmina ejecutan un efecto antioxidante no enzimático por secuestro de iones de metales de transición. El sistema NADPH-oxidasa, el cual está limitado a membranas celulares, reduce el  $O_2$  a anión súper oxido ( $O_2^-$ ), el cual es altamente inestable y, tan pronto como este es formado, es convertido en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Locatelli *et al.*, 2003).

Los elementos traza, cobre, zinc y selenio se unen en la defensa citolítica contra especies oxígeno reactivas y nitrógeno reactivas. Cobre, zinc y súper-oxido dismutasa catalizan la disminución de súper-oxido y peróxido de hidrógeno a oxígeno. Este último y otros hidroperóxidos son subsecuentemente



reducidos por la selenoenzima glutatión peroxidasa (GPx). La GPx citosólica puede también actuar como una peroxinitrato reductasa (Klotz *et al.*, 2003).

Las funciones antioxidantes de los minerales traza no están confinadas a ser constituyentes de enzimas: 1) Los iones cobre y zinc pueden estimular protección celular vía la señalización del estrés y pueden estabilizar proteínas haciéndolas menos propensas a la oxidación; y 2) El selenio no solo existe en las células como selenocisteína (como en GPX) sino también como selenometionina, la cual está regularmente presente en bajas cantidades en proteínas en lugar de metionina. La selenometionina cataliza la reducción de peroxinitrato a expensas del glutatión. También, organoselenio y organotelurio de bajo peso molecular, que son componentes de interés farmacológico catalizan la reducción de hidroperóxidos o peroxinitrato con varios equivalentes celulares reducidos (Klotz *et al.*, 2003).

Micronutrientes dietéticos y antioxidantes tal como las vitaminas A, C, y E, zinc, y el selenio están implicados como determinantes de la severidad del asma bronquial (Jeong *et al.*, 2002).

### **3.3.1.- El Selenio y la Vitamina E**

La vitamina E y el selenio son componentes importantes del sistema de defensa antioxidante de los tejidos vivos. La vitamina E tiene la capacidad para apagar los radicales libres capaces de iniciar y propagar la oxidación lipídica, y la enzima antioxidante glutatión peroxidasa contenedora de selenio (GPx) cataliza la descomposición de hidroperóxidos lipídicos en productos menos reactivos (O'Grady *et al.*, 2001).

Debido a que el selenio y la vitamina E a menudo aparecen trabajando juntos, se ha cuestionado si el selenio era de hecho un nutriente esencial en su propio derecho o meramente un adyuvante para la vitamina E. Investigaciones en suinos contribuyen a la evidencia de que el selenio era un nutriente esencial cuando se demostró que a niveles altos de vitamina E no se eliminaba la necesidad de selenio. Esto fue confirmado con referencia a la reproducción cuando una sola dosis subcutánea de 2.5 mg de selenio como selenito dado a



las cerdas justo antes del apareamiento dio como resultado un aumento significativo en los porcentajes reproductivos en puercos australianos. La dieta de alimento para estas cerdas era considerada adecuada en vitamina E (Oldfield, 2003).

El selenio es un componente esencial de varias enzimas que tienen funciones de defensa oxidante, e.g., la glutatión peroxidasa y la tioredoxin reductasa. La vitamina E se encuentra en membranas biológicas y funciona como un antioxidante. La deficiencia simultánea de selenio y vitamina E en ratas causa necrosis hepática, acompañada por peroxidación lipídica en este órgano. El selenio y la vitamina E proveen protección contra el estrés oxidativo y sus deficiencias tienen efectos patológicos en muchas especies (Hill *et al.*, 2001).

Se ha reportado que en vacas la administración de vitamina E o la combinación de vitamina E y selenio reduce la incidencia de desordenes reproductivos post-parto tales como la retención de membranas fetales, metritis, y quistes ováricos y la mejora reproductiva. En otros estudios, sin embargo, no hubo efecto benéfico de la administración de suplemento de vitamina E sola o en combinación con selenio sobre la función reproductiva (Paula-Lopes *et al.*, 2003).

Está bien establecido que la suplementación con vitamina E en las dietas de los animales que producen carne elevan efectivamente los niveles de vitamina E muscular, y disminuye la susceptibilidad del músculo y, en última instancia, la de los productos cárnicos a la oxidación lipídica y a la presencia de defectos de sabor (O'Grady *et al.*, 2001).

La vitamina E (alfa-tocoferol), un fuerte agente reductor que puede donar electrones a lípidos sufriendo peroxidación, es un antioxidante importante presente en las membranas plasmáticas (Paula-Lopes *et al.*, 2003). Es un antioxidante liposoluble recolector de radicales de desecho, bloquea completamente la muerte celular inducida por deficiencia de selenio, a pesar de que el alfa-tocoferol (biológicamente la forma más activa de la vitamina E) no



puede conservar la actividad de las enzimas selenio-dependientes (Saito *et al.*, 2003).

En carne, se ha reportado una mejora significativa en la estabilidad del color después de una suplementación dietética de vitamina E y se atribuye a una reducción mediada por la vitamina E de la oxidación de lípidos y la mioglobina. En las carnes rojas, la oximioglobina se oxida en presencia de la oxidación de los lípidos y da como resultado una indeseable decoloración café. Como la mioglobina, la GPx es una proteína citosólica, pero el efecto potencial de GPx muscular elevada sobre la oxidación de la mioglobina y la decoloración de la carne no ha sido establecido (O'Grady *et al.*, 2001).

### **3.3.2.- Función Antioxidante del Selenio**

El efecto antioxidante y otros efectos benéficos del Se han sido reconocidos por mucho tiempo (Kim y Mahan, 2001).

El selenio está involucrado en los sistemas antioxidantes celulares, principalmente vía enzimas peroxidasas, metabolismo de la tiroxina, y metabolismo del ácido araquidónico (Ivancic y Weiss, 2001).

En tejido muscular, las funciones antioxidantes de la vitamina E y el Se persisten después de la matanza y la tardanza del ataque de las reacciones de oxidación en la carne y productos cárnicos. Estas funciones antioxidantes son importantes porque la oxidación de los lípidos musculares, después de la matanza, pueden afectar adversamente el sabor y el valor nutritivo de la carne y productos cárnicos frescos, congelados y cocidos (O'Grady *et al.*, 2001).

### **3.3.3.- Glutación (GSH) y Glutación Peroxidasa (GPx)**

La primera selenoproteína animal en ser identificada fue la glutación peroxidasa celular (GPx-1) en 1973. Desde entonces, 3 miembros más de la familia glutación peroxidasa han sido caracterizadas. Todas estas enzimas catalizan hidroperóxidos a expensas de glutación (GSH) y por eso tienen funciones antioxidantes. Ellas difieren en sus especificidades de localización y sustrato. Variantes empalmadas de glutación peroxidasa hidroperoxidada (GPx-



4) son conocidas y son importantes en la dirección de proteínas a la mitocondria o al núcleo. En adición a la glutatión peroxidasa y tioredoxin reductasa, la metionina sulfóxido reductasa B, la selenoproteína P y selenoproteína W se considera que sirven como defensa antioxidante (Burk *et al.*, 2003).

Glutatión (GSH) es el mayor antioxidante intracelular con múltiples funciones biológicas. Aunque es conocido que ROS y GSH están cerradamente involucrados en el metabolismo de Se y bioactividad de varias células, el mecanismo exacto permanece incierto (Kim y Mahan, 2001).

Se ha sugerido que los efectos antioxidantes del selenio son mediados a través de la glutatión peroxidasa (GPx) que elimina potencialmente el daño de hidroperóxidos lipídicos y peróxido de hidrógeno. Por lo menos 5 de esas peroxidases han sido ahora identificadas como operadoras en diferentes componentes de las células y los tejidos. Así, el selenio puede actuar como un antioxidante en el espacio extracelular, el citosol celular, en asociación con las membranas celulares y específicamente en el tracto gastrointestinal, todos con potencial para influir en los procesos inmunes. Adicionalmente, la tioredoxin reductasa que contiene selenio puede también actuar como antioxidante (Arthur *et al.*, 2003).

Como una parte integral de la enzima glutatión peroxidasa (GPx), el selenio funciona para la prevención del daño oxidativo a los tejidos corporales (Gunter *et al.*, 2003), pues como un constituyente esencial de GPx, juega un papel importante en recolectar desechos de ROS (Kim y Mahan, 2001). Así, el selenio juega una parte vital en muchas funciones metabólicas como un componente clave de la GPx, la cual esta involucrada en la remoción de peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos generados en células durante el proceso oxidativo (Cases *et al.*, 2001).

Por su parte la selenoproteína GPx es capaz de reducir eficientemente el peroxinitrato y prevenir oxidación y nitración, así como nitración de proteínas. El sistema de GPx más GSH trabaja catalíticamente en una manera que se parece a la detoxificación de hidroperóxidos por GPX a la expensa de GSH. El residuo de selenocisteína en el sitio activo de la enzima es oxidado por peroxinitrito (o



ácido peroxinítrico) a ácido selénico y reduce el residuo atrasado al selenol a expensas de dos equivalentes reducidos proveídos por GSH (Klotz *et al.*, 2003).

A nivel celular, la eliminación del peróxido de hidrógeno y de hidroperóxidos orgánicos es catalizada por catalasa y GPx. En la cardiomiocitis, una forma selenodependiente de GPx (Se-GPx) es la enzima principal responsable de la eliminación de ROS (Tanguy *et al.*, 2003).

Al menos 6 isoenzimas mamíferas GPX han sido descritas. La enzima citosólica (GPX-1) está expresada en todos los tipos celulares en mamíferos. La GPX extracelular (GPX-3) es una glicoproteína secretada que es la segunda más abundante selenoproteína en plasma, mientras el fosfolípido hidroperóxido de GPX (GPX-4) puede reducir específicamente hidroperóxidos de fosfolípidos y puede estar involucrada en la moderación de muerte celular apoptótica y maduración de los espermatozoides. Los tejidos endocrinos están bien adaptados para mantener la expresión de selenoproteína aún con deficiencias de Se y dentro de cualquier tejido la expresión de las deiodinasas, GPX-4 y TRx's se mantienen a expensas de GPX-1, la cual se pierde rápidamente. El estrés oxidativo induce TRx-1 y GPX isotiocinatos tal como el sulforafano induce TRx-1. El camino de la activación del segundo mensajero también modifica la expresión de selenoproteínas específicas en un tejido de manera específica. GPX-4 provee el eslabón giratorio entre Se, calidad de espermatozoides y fertilidad en fémbras subsecuentemente GPX-4 es esencial para permitir la producción de la estructura correcta de la parte media de los espermatozoides. En testículos GPX-4 está presente como tres isoformas que son derivadas del mismo gen y son encontradas en el citosol, mitocondria y núcleo. En el desarrollo de los espermatozoides GPX-4 probablemente brinda protección de especies oxígeno reactivas dañinas pero durante la maduración del espermatozoides la selenocisteína toma un papel estructural (Beckett y Arthur, 2005).



## 4.- BIOQUÍMICA DEL SELENIO

### **4.1.- BIODISPONIBILIDAD DEL SELENIO**

La mayoría de los estudios indican que la biodisponibilidad de selenio como selenito y selenato es similar en rumiantes. La selenometionina y la levadura de selenio fueron aproximadamente dos veces más biodisponibles, basándose en la actividad de la glutatión peroxidasa de los eritrocitos, que el selenito cuando se alimentaron vaquillas con deficiencia de selenio (Spears, 2003).

La mayoría de las formas de selenio que se encuentran en los comestibles son las orgánicas, las formas asociadas a proteínas, la selenometionina (SeMet de fuentes de plantas y animales) y la selenocisteína (SeCis de fuentes animales). El selenato está también presente en algunos comestibles, y en áreas selenio deficientes las sales de selenio inorgánicas (selenito, selenato) son adicionadas a la comida (Cases *et al.*, 2001).

La forma de Se encontrada en carne es altamente biodisponible. La carne de regiones donde el suelo y plantas contienen mayores cantidades de Se que la carne de regiones bajas en Se (Lawler *et al.*, 2004).

La asociación de minerales con fracciones de fibra en los alimentos y/o minerales ligados a constituyentes de fibra no digerible en el tracto gastrointestinal puede alterar la biodisponibilidad de algunos minerales traza en los rumiantes. El pH en el medio ambiente del rúmen es sólo ligeramente ácido (6.0 - 6.8), y en el rúmen, muchos minerales traza existen en una forma insoluble. Por lo menos algunos de los complejos metálicos que son formados en el rúmen permanecen insolubles aún bajo las condiciones ácidas encontradas en el abomaso (Spears, 2003).

Los selenocomponentes se encuentran en diferentes tipos y cantidades dependiendo del recurso alimenticio y el contenido de selenio del sustrato sobre el cual el alimento creció (Whanger, 2002).

La actividad de las selenoproteínas depende de un adecuado suministro en la dieta. Porque el Se entra a la comida a través de las plantas, esta



disponibilidad puede variar con las condiciones climáticas y de fertilización del suelo (Cases *et al.*, 2001).

El selenio dietético influye en la concentración de selenio en el músculo comestible de ganado de carne. Existen datos limitados disponibles para describir los efectos que los alimentos naturalmente altos en Se tienen sobre la producción, las características esqueléticas, y distribución de Se en tejidos terminales (Lawler *et al.*, 2004).

La cantidad de Se en el suelo puede variar sustancialmente, y la comida del mismo puede tener diferencias >10 veces en el contenido de Se. Por estas razones, la estimación de Se a través de la valoración de la dieta se considera generalmente inestable, y la mayoría de los estudios epidemiológicos confían en biomarcadores para la valoración del estado de Se (Mayne, 2003).

La conjugación de selenio con diferentes aminoácidos altera la biodisponibilidad y el metabolismo (Whanger, 2002).

La eficiencia de absorción de muchos minerales traza y factores dietéticos que afectan la biodisponibilidad de los minerales difiere grandemente entre rumiantes y no rumiantes. En rumiantes, la digestión microbiana en el rúmen y el retículo preceden la digestión mamífera en el abomaso e intestino delgado. Las dietas de los rumiantes son usualmente altas en fibra, y la digestión considerable de fibra ocurre vía la fermentación microbiana en el rúmen. La biodisponibilidad del selenio es reducida por el alto azufre dietético y la presencia de glicósidos carcinogénicos en ciertas legumbres (Spears, 2003).

Investigaciones limitadas sugieren que alto o bajo calcio dietético puede reducir la absorción de selenio. En vacas lecheras no lactantes, la absorción de selenio fue maximizada con 8.0 g de calcio/kg de dieta. Las vacas jóvenes alimentadas con calcio dietético extremadamente bajo (1.7 g de calcio/kg de dieta) o alto (23.5 g de calcio/kg de dieta) no se afectó significativamente la absorción de selenio (Spears, 2003).

Los novillos castrados Holstein que pastaron en herbaje fertilizado tenían mas baja actividad de glutatión peroxidasa (GPx) que aquellos pastados en



herbaje sin fertilizar. Sin embargo, las vacas Herford alimentadas con heno al libre acceso (0.17% S) y concentrado a 1.6% de PC que contenía 0.2% o 0.75% S de sulfato de calcio tenían similar actividad de GPx de eritrocitos y concentraciones de Se en plasma (Ivancic y Weiss, 2001).

Los glicósidos cianogénéticos se encuentran en ciertas legumbres y pueden ser metabolizadas a cianuro en el rúmen. Las ovejas alimentadas con una variedad del trébol blanco que es alta en los glicósidos cianogénéticos tienen un estado mucho menor de selenio, evaluando la actividad de la glutatión peroxidasa, que en ovejas alimentadas con una variedad de trébol blanco bajo en glicósidos cianogénéticos. Los corderos nacidos de borregas alimentadas con trébol que es alto en glicósidos cianogénéticos también tienen altamente reducida la actividad de la glutatión peroxidasa de eritrocitos. Es incierto como los glicósidos cianogénéticos afectan el metabolismo del selenio. Sin embargo, en ratas, el cianuro puede mostrar incrementado en la excreción urinaria de selenio (Spears, 2003).

Es muy importante saber la biodisponibilidad de selenio presente en la dieta para establecer el estado nutricional de Se en relación a la ingesta dietética y para intervenir rápidamente en casos de deficiencia de Se (Cases *et al.*, 2001).

#### **4.1.1.- Influencia del Azufre en la Biodisponibilidad del Selenio**

El selenio y el azufre son miembros de la Familia IV de la tabla periódica y ellos comparten muchas propiedades físicas y químicas (Ivancic y Weiss, 2001; Spears, 2003). Por esas similitudes, la relación nutricional entre Se y S ha sido investigada, pero los resultados han sido mezclados. La literatura es consistente con respecto a los efectos del sulfato sobre las diferentes medidas del estado de Se en rumiantes. Los efectos posibles del sulfato sobre el estado del Se tienen aplicaciones prácticas porque el agua puede contener altas concentraciones de sulfatos, y las dietas formuladas para pre-parto con ciertas sales aniónicas pueden contener altas concentraciones de sulfatos (Ivancic y Weiss, 2001).



Un gran número de estudios indican que el incremento de azufre dietético reduce la biodisponibilidad de selenio (Spears, 2003). La adición de sulfato a las dietas de ovejas preñadas (dieta total 0.33%) que eran bajas en selenio incrementaba la incidencia de la enfermedad del músculo blanco en sus corderos (Ivancic y Weiss, 2001; Spears, 2003).

En estudios de 1965 las dietas con 2% de sulfato de sodio no indujeron signos clínicos de degeneración muscular nutricional en ovejas. En 1977 no se reportó efecto sobre la concentración de Selenio en sangre cuando las ovejas fueron alimentadas con dietas (0.12 mg de Se/kg de MS) que contenían de 0.16 a 0.75% de S. En un estudio más reciente con ovejas, en 1998 se informó que el incremento del S dietético de 0.2 a 0.4% reduce el Se hepático. La suplementación de 0.4% de S dietético de sulfato a vacas durante los últimos 21 días de gestación no tenía efecto sobre la concentración en plasma y sangre entera durante la lactación temprana (Ivancic y Weiss, 2001).

Las concentraciones de selenio en hígado y bacterias del rúmen fueron también reducidas en ovejas cuando su alimentación con azufre fue incrementada de 2.2 a 4.0 g de azufre/kg de dieta. Después de la administración oral de selenio como selenato de sodio, las ovejas alimentadas con dieta baja en azufre (0.5 g de azufre/kg) excretaron menos radioactividad en orina y tenían la actividad de selenio más alta que las ovejas alimentadas con una dieta que contenía 2.4 g de azufre/kg. El incremento de azufre dietético de 2.1 a 4.0 o 7.0 g de azufre/kg de dieta resulta en un decremento lineal de selenio en plasma y la aparente absorción de selenio en vacas lecheras lactantes (Spears, 2003).

#### **4.2.- METABOLISMO DEL SELENIO**

En la mayoría de los estudios, el selenio de metionina y el selenito fueron absorbidos con eficiencia similar. Sin embargo, la excreción urinaria de selenio fue mayor en borregas y cabras alimentadas con selenito comparadas con aquellas alimentadas con selenometionina (Spears, 2003).



La bioquímica celular del selenio es también un sistema complejo que involucra la expresión de una gama amplia de proteínas que contienen selenio muchas de las cuales aún no son caracterizadas (Arthur *et al.*, 2003). La reacción de  $Se^{3+}$  con varios tioles produce selenotrisulfidos. Un selenotrisulfido derivado se ha postulado como un posible intermediario en la biconversión de Se dietético inorgánico a los selenocompuestos bioactivos (Ogasawara *et al.*, 2005).

Este elemento ocurre primariamente en animales en proteínas contenedoras de selenio que contienen el aminoácido selenocisteína (Sec) (Jin *et al.*, 2004). Las selenoproteínas son ciertamente más responsables de muchos de los beneficios del selenio. El selenio hace esta función dentro de la proteína como el aminoácido selenocisteína (Carlson *et al.*, 2004) y es incorporado durante la traducción de la estructura primaria (Burk *et al.*, 2003). Las selenoproteínas son la única clase de proteínas conocidas para las cuales la expresión es determinada por la presencia de un solo tRNA (Carlson *et al.*, 2004).

La absorción de selenio y cobre es mucho más baja en rumiantes que en no rumiantes. La baja absorción de esos minerales en rumiantes es debido a las modificaciones que ocurren en el medio ambiente del rúmen. La baja absorción de selenio en rumiantes se cree que resulta de la reducción de selenio dietético a formas insolubles tales como selenio elemental o seleniuros en el medio ambiente del rúmen (Spears, 2003). Las formas dietéticas y tisulares de selenio son convertidas a seleniuro o una forma estrechamente relacionada (Burk *et al.*, 2003).

Comparando a los no rumiantes, los rumiantes absorben pobremente el selenio de sodio; esta diferencia es parcialmente el resultado de la fuerte reducción medioambiental en el rúmen, el cual en parte convierte los componentes de selenio a selenio insoluble elemental o seleniuros (Gunter *et al.*, 2003).

La absorción de selenio administrado oralmente es de sólo 34% en ovejas comparado con 85% en cerdos. La absorción de selenio y la retención



fueron incrementadas en ovejas alimentadas con un concentrado (cebada) de dieta base que en aquellas alimentadas con un forraje (heno de alfalfa) como dieta base (Spears, 2003).

#### **4.3.- MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SELENIO**

Una gran variedad de métodos de análisis pueden ser aplicados para la determinación de trazas de selenio a partir de diversos materiales (Bem, 1981; Sabe *et al.*, 2001). En los años comprendidos entre 1975-1977 se incluyeron principalmente: Análisis de activación neutrónica NAA (35%); espectroscopía de absorción atómica (AAS) (22%); cromatografía de gases GLC (12%); espectrofotometría; análisis de fluorescencia de rayos-x y otros entre ellos fluorimetría y potenciometría (Bem, 1981), pero en la actualidad se cuenta con métodos mas sensibles, incluyendo principalmente: la espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (GF-AAS), la espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros (HG-AAS), la espectrometría de fluorescencia atómica por generación de hidruros (HG-AFS), la espectrometría de masas inductivamente acoplada a plasma (ICP-MS) y la fluorescencia molecular (Sabe *et al.*, 2001).

En la literatura encontramos que en la actualidad los métodos mas empleados para medir niveles de selenio en plasma y sangre son la espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros por inyección de flujo (FI-HG-AAS) previa digestión en seco del material biológico con una mezcla de ácidos oxidantes (Meglia *et al.*, 2001) y la espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros (HG-AAS). (Ortman y Pehrson, 1999; Pehrson *et al.*, 1999).

La técnica de AAS con hidruros sólo puede ser usada para un número limitado de elementos (Bodenseewerk Perkin-Elmer and Co GMBH/Überlingen, 2000) La fluorescencia molecular es barata y de buena precisión y sensibilidad, sin embargo, el tratamiento de la muestra es largo y tedioso ya que todas las especies de selenio deben ser convertidas a selenito para formar un complejo



fluorescente. La ICP-MS también ha sido empleado, pero requiere tratamiento previo para evitar interferencias (Sabe *et al.*, 2001).

La técnica de espectrometría de absorción atómica por horno de grafito (HG-AAS) se aplica a elementos que forman hidruros gaseosos, principalmente antimonio, arsénico, bismuto, selenio, telurio y estaño. Una comparación de los límites detectados demuestra que los valores absolutos son mucho menores para el horno de grafito. No obstante, los límites de detección en las concentraciones, son iguales para ambas técnicas o aún mejores para la de generación de hidruros, ya que se pueden utilizar volúmenes de muestra. En la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica por hidruros, los elementos bajo estudio son separados de los materiales acompañantes por volatilización. Las interferencias químicas pueden ser controladas adicionando un agente liberador apropiado a la muestra. Por lo tanto, la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica con generación de hidruros es preferida cuando se tienen concentraciones muy bajas de los elementos que tienen que ser determinados con presencia de altas concentraciones de materiales acompañantes y cuando se tiene suficiente muestra en solución. La técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica con hidruros no puede manejar muestras sólidas y además, los elementos bajo estudio deben estar presentes en un estado de oxidación bien definido (Bodenseewerk Perkin-Elmer and Co GMBH/Überlingen, 2000)

En la espectrometría de absorción atómica con horno de grafito, la calidad de la determinación, la interferencia observada y la facilidad de los métodos desarrollados, dependerán del tipo de horno de grafito y del instrumento utilizado. Con un "horno de temperatura estabilizada" que ofrezca un poder de calentamiento máximo, la plataforma L'bove y una alta flexibilidad de programación, los métodos desarrollados se han vuelto sumamente fáciles y eficientes en comparación con otros hornos de grafito que no ofrecen estas ventajas. Un lector de espectrómetro que permita la observación y el registro de las señales provenientes del horno, con alta resolución es otra ayuda importante en la AAS con horno de grafito.



En el horno de grafito tubular tipo MASSMAN, la muestra se dispensa en un tubo de grafito que puede ser calentado eléctricamente. Si se incrementa la temperatura prudentemente, los procesos de secado, pre-tratamiento térmico de la matriz y la disociación de átomos libres (atomización) se pueden separar. Durante las etapas de secado y pre-tratamiento térmico, una corriente de gas purgado inerte es pasada a través del tubo para eliminar los vapores de solvente y la matriz. La principal diferencia con la absorción atómica de flama es que algunos de los componentes de la matriz son eliminados antes de la atomización, ya que ésta última tiene lugar en una atmósfera de gas inerte.

Durante la atomización, la corriente de gas a través del tubo de grafito debe ser detenida ("gas stop") o en algunas aplicaciones reducida ("mini flow"), para que los átomos liberados permanezcan en la cámara de radiación el mayor tiempo posible. Para un tubo de 28 mm de longitud en posición de "gas stop", el tiempo de residencia es del orden de varias décimas de segundo, lo cual es cerca de 100 veces más largo que en la de flama, en la cual los átomos atraviesan en unos cuantos milisegundos por el flujo de la flama. Por consiguiente, un número considerablemente grande de átomos quedan disponibles para la absorción por radiación, lo cual permite el uso de alícuotas de muestra muy pequeñas o la determinación de cantidades sumamente pequeñas de los elementos.

En la absorción atómica con horno, alícuotas discretas de muestra se dispensan en el tubo de grafito. Por tanto, para muestras con concentraciones muy bajas, el dispensar grandes volúmenes en el tubo permite aumentar la señal, mientras que para muestras con alta concentración se requieren sólo volúmenes muy pequeños.

Además, como no se emplea un nebulizador neumático en la absorción atómica con horno, las propiedades físicas de la muestra, tales como la viscosidad y la tensión superficial tienen poca influencia en la determinación, en contraste con las técnicas de flama. En el tubo de grafito las muestras son dispensadas con una micropipeta o alguna herramienta similar. Más aún, como las muestras no tienen que ser nebulizadas en un fino aerosol en el horno de



grafito, no existe pérdida de muestra, lo cual resulta otro factor importante en la eficiencia de la atomización. Finalmente, el análisis en horno de tubo de grafito no se limita a muestras en fase líquida, ya que muestras sólidas también pueden ser dispensadas en el tubo.

La técnica de absorción atómica con horno de grafito empleando el HGA (atomizador calentado de grafito) proporciona los medios para determinar metales y metaloides en un rango de picogramos (Bodenseewerk Perkin-Elmer and Co GMBH/Überlingen, 2000).

Los ensayos espectroscópicos y fluorométricos involucran con frecuencia una digestión completa de la materia orgánica, una reducción del analito Se (IV). El estado de oxidación del Se es de vital importancia: sólo Se (IV) es reducido a  $H_2Se$ , y por lo tanto, cualquier selenato [Se (VI)] debe ser reducido cuantitativamente a selenito antes de la determinación. Esta pre-reducción generalmente se hace calentando la solución analizada con HCl (3 a 6 M) durante 5 a 30 min a  $100^\circ C$ . Un calentamiento prolongado puede ocasionar pérdidas parciales del analito en formas volátiles como  $SeOCl_2$ ,  $SeO_2$ ,  $2HCl$ , etc. Menciona Tsalev que las pérdidas se evitan calentando las muestras de agua ambiental con HCl 5 M durante 10 min a  $80^\circ C$  en una autoclave cerrada. Algunos autores prefieren reducir el selenato a selenito con  $H_2O_2$  y subsiguientemente  $NH_2OH-HCl$ , se cree que esta reducción previene las pérdidas por volatilización y es una práctica mas exitosa previa a la extracción líquido-líquido del Se(IV) (Tsalev, 1985).

Uno de los principales problemas en la determinación de cantidades pequeñas de selenio en las muestras biológicas es la posibilidad de errores sistemáticos debidos a las dificultades asociadas con la mineralización completa de los compuestos de organoselenio. En años recientes, las técnicas de digestión asistidas por microondas han sido usadas ampliamente, logrando una rápida mineralización de la muestra con un estricto control sobre el poder y el tiempo de calentamiento. Más aún, los reactivos como el ácido perclórico pudieran ser evitados bajo ciertas circunstancias. Se ha reportado la digestión de la muestra con microondas utilizando una mezcla de ácido



bromhídrico/bromo, cuando se emplea inyección de flujo. Otros autores emplean mezclas ácidas tales como HCl-HNO<sub>3</sub> y otros HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, como se ha mencionado antes, reportando recuperación cuantitativa en la determinación de selenio a partir de muestras biológicas (Sabe *et al.*, 2001).

Existen varios métodos de descomposición para la determinación de selenio. Los métodos más populares involucran la digestión con mezclas de HNO<sub>3</sub>, HClO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, la selección del método de descomposición apropiado deberá ser hecha tomando en cuenta el método que se va a emplear para la determinación. (Bem, 1981).

## **5.- EFECTOS DEL SELENIO DIETÉTICO**

### **5.1.- TOXICIDAD POR SELENIO**

El primer interés en el selenio se relacionó con su toxicidad. Cuando niveles dietéticos altos de selenio orgánico o inorgánico fueron comparados, la selenosis parecía ser más severa cuando se utilizó la forma inorgánica (Kim *et al.*, 2004). Se ha encontrado que altas concentraciones de selenio inducen apoptosis en células de mamíferos (Savaskan *et al.*, 2003). Niveles dietéticos de selenio > 5 ppm son tóxicos cuando se alimenta a puercos en etapa final de crecimiento (Kim *et al.*, 2004). En 1856 se describió una enfermedad fatal entre caballos (Whanger, 2002).

La NRC en 1983 indicaba que el selenio ha sido reportado como el agente tóxico causal de cojera y muerte en el ganado que pasta en ciertos plantíos de Dakota y Wyoming. Los signos clínicos de la enfermedad alcalina que resultan del consumo de granos que contienen de 5-40 ppm de Se, incluyen cirrosis hepática, cojera, malformaciones de las pezuñas, pérdida de pelo y emaciación y la NAS de 1971 agrega degeneración y necrosis del miocardio (Cristaldi y McDowell, 2005).

Un nivel dietético alto de selenio en combinación con una gran reserva tisular puede contribuir a la concentración de selenio en el cuerpo y podría exacerbar la condición selenótica. Sin embargo, sería anticipado que una vez



que el crecimiento del tejido se retarde y se produzcan los aumentos del catabolismo o del volumen del tejido, un nivel dietético más alto de selenio conjuntamente con mayores depósitos de selenio en el tejido pueda contribuir a la concentración del selenio en el cuerpo y podría exacerbarse la condición selenótica (Kim *et al.*, 2004).

En 1842 se obtuvo evidencia sobre la toxicidad del selenio, aparentemente el primer registro escrito auténtico de envenenamiento con selenio en ganado fue el reportado en 1856. En 1929, las investigaciones fueron iniciadas sobre los 'granos tóxicos' en la Estación Experimental de Dakota del Sur y en 1933 se sugirió que el principal tóxico en esos granos era el selenio, lo cual fue confirmado un año después. Se reportó como cancerígeno en 1943 (Whanger, 2002).

En 1959 se demostraron rangos reducidos de concepción, tallas pequeñas, y cerdos pesados al nacimiento cuando las cerdas fueron alimentadas con 10 ppm de Se de 15 kg PV a lo largo de un periodo reproductivo. En 1989 alimentando con niveles de 16 ppm de Se a cerdas durante la gestación y la lactación se reportaron cerdos con pesos reducidos al destete pero ningún efecto sobre la el rango de concepción o talla pequeña (Kim *et al.*, 2004).

## **5.2.- DEFICIENCIAS DE SELENIO**

Alteraciones de la salud así como de la función inmune, infecciones virales, problemas reproductivos, desordenes humorales, miopatías esqueléticas, macrocitosis, cojeras, cáncer, y enfermedades cardiovasculares han sido ligadas a la deficiencia de selenio (Savaskan *et al.*, 2003).

En parte incierto, sin embargo, es que una baja ingesta dietética de selenio y actividad reducida de GPx están asociadas con un incremento en el riesgo de inflamación asmática (Jeong *et al.*, 2002).

Una deficiencia en el selenio dietético da como resultado un decremento de los niveles de selenoproteínas, comprometiendo así los procesos biológicos que son mantenidos por esas proteínas (Martin-Romero *et al.*, 2001).



Las deficiencias dietéticas que llevan al estrés oxidativo en el hospedero [e.g., deficiencia de selenio (Se)] pueden alterar el genoma viral, de tal modo que un virus normalmente benigno o ligeramente patógeno se vuelve altamente virulento en la deficiencia del hospedero oxidativamente estresado. Una vez que la mutación viral ocurre, incluso el hospedero con nutrición normal puede ser afectado por la cepa nuevamente patógena (Beck *et al.*, 2003).

La deficiencia de selenio es también acompañada por una pérdida de la inmunocompetencia, y la inmunidad mediada por células y la función de las células B pueden ser alteradas (Saito *et al.*, 2003). También, puede inhibir la respuesta de IgG a retos *in vivo* con células rojas de ovejas y la detoxificación de ciertas toxinas. Otros estudios han indicado que las vacas pueden estar severamente deficientes en Se y GPx selenodependiente, aunque no exhiban deficiencias clínicas a menos que estén sujetas a un oxidante u otro tipo de estrés (Gunter *et al.*, 2003).

En vacas, la deficiencia de selenio está asociada con la enfermedad del músculo blanco, alta mortalidad de terneros, e incremento en la prevalencia de la retención de las membranas fetales y mastitis (Ivancic y Weiss, 2001). En ovejas, la incidencia de la enfermedad de músculo blanco fue más alta en ovejas alimentadas con heno de alfalfa bajo en selenio que en ovejas alimentadas con heno de césped de contenido similar de selenio (Spears, 2003). Los estudios limitados de deficiencia de selenio en puercos de guinea no tienen evidencia incluida de debilidad o miopatía, en deficiencia de selenio exclusivamente o en deficiencia de selenio con simultánea deficiencia de vitamina E (Hill *et al.*, 2001).

### **5.3.- SELENIO ORGÁNICO CONTRA INORGÁNICO**

Los beneficios llevados por el selenio para la salud animal y la productividad estimulan los esfuerzos en investigaciones dentro de la forma más efectiva de selenio para usar. La mayoría de la atención fue enfocada en las comparaciones de las fuentes orgánicas contra las inorgánicas; la forma orgánica fue proporcionada por levadura de selenio y las formas inorgánicas



fueron sales de sodio. Aparentemente, las diferentes formas de selenio actúan diferentemente a varios niveles en la dieta. Estudios de 1873 y de 1978 no encontraron diferencias en los efectos de selenio orgánico o inorgánico en cerdos cuando se dio a niveles debajo de 0.1 ppm en la dieta usando como criterio la retención en tejidos. En contraste, cuando el contenido de selenio de la comida excedía 0.1 ppm, las formas inorgánicas de selenio fueron claramente mejor utilizadas. Interesantemente, la disponibilidad de selenio inorgánico demostró ser superior que el de las formas orgánicas para la glutatión peroxidasa (Oldfield, 2003).

Hasta donde pudo ser determinado, el selenito fue usado primero como un componente control de selenio en estudios con ratas con trigo tóxico en 1935, y este fue subsecuentemente usado en estudios con cerdos, caballos, mulas y ganado. Esto no fue indicado en ninguno de estos estudios por que el selenito fue seleccionado como el selenocompuesto, y la asunción es que era la fuente más prontamente disponible y más barata (Whanger, 2002).

El alimento con selenio orgánico de selenometionina o de levadura de selenio da como resultado mayor concentración en tejido y leche que la que se obtiene con selenito (Spears, 2003).

Investigaciones recientes con selenio orgánico, selenolevadura, han demostrado que las vacas suplementadas con esta fuente de selenio son más efectivas al transferir el selenio a becerros por vía de transferencia placentaria y leche que las vacas suplementadas con selenito de sodio. Estudios más recientes han mostrado que el Se de selenito de sodio es pobremente transferido a la leche y que es incapaz de mantener el estado de selenio en terneros lactantes (Gunter *et al.*, 2003).

Más selenio fue retenido en tejidos corporales cuando se alimento con fuente de selenio orgánico, el cual pudo reducir la disponibilidad del selenio que precipitaría la respuesta selenótica (Kim *et al.*, 2004)

El selenio orgánico en levadura de selenio resulta en un incremento mucho mayor de la concentración de selenio en sangre y leche que selenito. Las ovejas alimentadas con selenometionina también tenían elevada



concentración de selenio en músculo esquelético y un número de otros tejidos como las borregas alimentadas con selenito. La selenometionina es la forma predominante de selenio que naturalmente se encuentra en los alimentos y en levadura de selenio. La incorporación de selenometionina dentro del cuerpo no específico de las proteínas en lugar de metionina probablemente explique la alta concentración de selenio en tejidos y leche de rumiantes que fueron alimentados con orgánico comparado con selenito de sodio (Spears, 2003).

El Se en comestibles no está siempre disponible para la absorción intestinal, y hay diferencias entre y dentro de las especies. El metabolismo del selenio varía de acuerdo a la forma de selenio ingerida. Se ha demostrado que la SeMet y el selenato están más diseminados que la selenocisteína y el selenito bajo condiciones gastrointestinales estimuladas, contribuyendo esto a su alta absorción *in vivo*. Es más, la reutilización de selenio orgánico es una de las diferencias más importantes en el metabolismo de SeMet y selenito (Cases *et al.*, 2001).

El selenito no debe ser usado como un selenocompuesto representativo porque es diferente del selenato o de las formas orgánicamente limitadas (Whanger, 2002).

#### **5.4.- SUPLEMENTACIÓN CON SELENIO**

El selenio es encontrado en diversas cantidades en las rocas y los suelos de diferentes regiones del mundo. En cada área, esto se refleja en las cantidades diferentes de selenio en forrajes cosechados y dietas y en los humanos y animales que consumen los alimentos producidos localmente (Arthur *et al.*, 2003).

El nivel de Se sugerido como tolerable de 2 ppm no es diferente entre monogástricos y rumiantes según las indicaciones de la NRC de 1980, ésta estima como falla considerar que los microorganismos del rúmen pueden reducir el Se a selenito, que es insoluble y que los monogástricos absorben 2.5 veces más Se que los rumiantes; sin embargo, los resultados de investigaciones recientes en porcinos sugieren que el nivel máximo tolerable de



Se es superior a las 2 ppm. Los signos de toxicosis no se observaron en los puercos sino hasta que fueron alimentados con niveles de 8.4 ppm de selenio en una dieta de trigo por 5 semanas. Se carece de estudios de toxicidad controlada para niveles máximos tolerables en rumiantes. El nivel de Se máximo tolerable sugerido por la NRC para rumiantes ha sido subestimado y necesita ser re-evaluado (Cristaldi y McDowell, 2005).

La suplementación con selenio tiene marcados efectos inmunoestimulantes, incluyendo una mejora de la actividad de proliferación de las células T (Saito *et al.*, 2003). En 1981 se observó que el suplemento de selenio y vitamina E tenían un efecto positivo y aditivo en el refuerzo de la respuesta inmune en cerdos destetados. La FDA reconoció el selenio como un nutriente esencial, y entonces aprobó la adición de 0.3 ppm de selenio a las dietas de preiniciación e iniciación de puercos (Oldfield, 2003).

La suplementación de las dietas de vacas lecheras con 0.3 mg de Se/kg de MS usualmente mantiene las concentraciones de plasma de selenio dentro de los rangos normales y generalmente se considera adecuada (Ivancic y Weiss, 2001). La suplementación con Se en dietas de rumiantes se restringe a menos de 0.3 ppm (base de MS) y utilizando solamente el selenato de sodio o selenito. (FDA, 2003). Sin embargo, el uso de alimento naturalmente alto en selenio no está regulado y puede ser usado para elevar el selenio dietético (Lawler *et al.*, 2004).

O'Grady *et al.*, (2001) mencionan que, en puercos, ganado de carne, y en aves, los niveles de Se muscular responden a una suplementación dietética de Se, y que, se ha mostrado que la GPx muscular responde al Se dietético en un gran número de especies (Ogasawara *et al.*, 2005).

Varios autores Jukola *et al.*, (1996); Knowles *et al.*, (1999); Ortman y Pehrson, (1999); Pehrson *et al.*, (1999); Meglia *et al.*, (2001); Cristaldi y McDowell, (2005) han hecho determinaciones de los niveles de selenio plasmático demostrando que hay una relación directa entre los niveles encontrados y los niveles de suplementación.



## **6.- HIPÓTESIS**

Al suplementar ovejas de manera oral con selenio orgánico, esperamos observar un aumento en los niveles plasmáticos de selenio en los animales.

## **7.- OBJETIVO**

En este trabajo se pretende determinar los niveles de selenio plasmáticos que se obtienen cuando se suplementa ovejas jóvenes con 2 ppm de selenio orgánico (Sel Plex®) durante un período de 60 días.

## **8.- MATERIALES Y MÉTODOS**

### ***8.1.- DEFINICIÓN DE LOS ANIMALES E INSTALACIONES***

El experimento se realizó, durante los meses de mayo y junio de 2005, en el centro ovino del Dpto. de Ciencias Médico Veterinarias de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – UL, ubicada al oriente de la ciudad de Torreón Coahuila, México (altitud 25°05' y 26°54' Norte, longitud 101°40' y 104°45' Oeste y 1139 msnm) dentro de la Comarca Lagunera, con dirección Periférico y Carretera a Santa Fe.

Se llevó a cabo con un número de 10 ovejas jóvenes seleccionadas al azar, todas hembras, de entre 10 y 11 meses, nulíparas, obtenidas de la cruce de tres razas (Dorper, Tabasco y Black belly), con pesos de entre 20 y 40 kg. Todos estos datos fueron obtenidos antes de iniciar el experimento. Los animales pertenecen a la institución antes mencionada y están bajo el cuidado y responsabilidad del M. V. Z. Jorge Iturbide Ramírez.



El experimento fue dirigido a determinar los niveles plasmáticos de selenio en suero sanguíneo de los citados animales con un número de 5 ovejas para el grupo de PRUEBA (n=5) y otro tanto igual para el grupo TESTIGO (n=5).

Las ovejas fueron repartidas dentro de los grupos testigo y de prueba al azar; no se usó ningún método de selección dado que todos los animales tenían los mismos hábitos alimenticios, las mismas horas luz y demás factores externos; en cuanto a los factores propios de los animales, con el apoyo del M. V. Z. Jorge Iturbide se obtuvo un diagnóstico negativo a las enfermedades más comunes en estos animales y por lo tanto se les consideró sanos. De tal suerte que, después de lo anterior se tomó la decisión de usar este grupo de animales para realizar el experimento. El número de arete de los animales del grupo de prueba eran 2, 5, 7, 8 y 9, y para el grupo testigo los números de arete eran 1, 3, 4, 6 y 10.

Las instalaciones destinadas para la realización fueron acondicionadas, de tal manera que, los animales en cuestión estuvieran lo más cómodos posibles, tanto para facilitar el manejo requerido para el experimento, como para evitar cualquier situación estresante para las borregas. Cada jaula tenía un bebedero, un recipiente para dar alimento y otro para proporcionar concentrado, y cada una de ellas contaba con una puerta para permitir la entrada al momento de proporcionar el alimento y demás componentes de la dieta de los animales. Se colocó una sombra en sobre las jaulas para evitar el posible estrés que el calor pudiera provocar en los animales. Se contaba con una manguera conectada a una fuente de agua, de tal suerte que siempre fuera posible proporcionar agua fresca a los animales.

El espacio destinado para la estancia de las borregas tenía un total de 90 m<sup>2</sup>, y para cada una de las borregas se destino un espacio de aproximadamente de 1.5 m x 1.5 m cercados. Durante la realización del experimento no se permitió el ingreso del semental a ninguna de las jaulas, pero, se mantuvo siempre a la vista de las borregas sin que este interfiriera con la alimentación y la suplementación de las mismas.



La dieta base para ambos grupos constaba de 1 kg de heno de alfalfa (14.6% de PC., 1.14 Mcal kg Enm) al día aproximadamente – dividido en dos tomas, una por la mañana (8:00 a 9:00 a.m.) y la otra por la tarde (6:00 a 7:00 p.m.) –, el concentrado que se les proporcionaba era un ensilaje de maíz (8.1% de PC y 1.62 Mca. Kg Enm), se acondicionaron los animales para el consumo del mismo iniciando con una cantidad de 50 g, los primeros 2 días, los siguientes 2 días se elevó el nivel de concentrado de 50 g a 75 g/día, aumentando 25 g cada 2 días, hasta llegar a darles una cantidad de 250 g/día por animal (alrededor de 20 días para tal efecto), y el agua proporcionada a los animales era al libre acceso – con cambio regular de por lo menos 2 veces al día –.

La cantidad de forraje ofrecido era la suficiente para cubrir el 100% de los requerimientos nutricionales (NRC, 1988).

La dieta base fue mantenida a lo largo de todo el experimento, la cual fue complementada con una suplementación.

La suplementación se llevó a cabo con una solución preparada a base de glucosa al 45%, para el grupo de prueba la solución fue enriquecida con una cantidad de 2.0 mg del producto de levadura de selenio [Sel-Plex\* de Lab. Altech de México] proporcionándoles una cantidad de 20 ml diarios de esta solución a cada uno de los animales de este grupo, y para el grupo control única y exclusivamente se le proporcionó una cantidad de 20 ml de solución de glucosa la 45% como suplementación.

La suplementación se realizó al momento de proporcionarles el alimento que se les daba por la tarde, tanto para el grupo de prueba como para el testigo.

## **8.2.- EQUIPO**

Para la realización del experimento se utilizaron los siguientes aparatos:

1) Una Balanza Analítica de marca Mettler – modelo AB204.

La cual fue empleada para la determinación del peso de cada una de las muestras a estudiar.



2) Un Horno de Microondas de marca CEM – modelo MDS 2000 (920150)

El cual se empleó para realizar la digestión de las muestras a estudiar, la cual debía ser realizada como parte integral del proceso de determinación de las concentraciones de selenio en las muestras especificadas para el experimento y para que estas pudieran ser determinadas con el aparato de espectrofotometría de absorción atómica.

El horno de microondas estaba equipado con una base para 12 tubos, para someter a digestión un número igual de muestras por sesión, cada tubo contaba con una tapa y cada una de ellas se conectaba a una manguera, la cual iba conectada al regulador de presión.

3) Un Espectrofotómetro de Absorción Atómica de marca Perkin-Elmer modelo 2280.

El cual estaba equipado con un horno de grafitos marca Perkin-Elmer modelo PROGRAMER HGA-400, el cual iba conectado a un aparato que le suministraba agua, la cual se empleaba para enfriar el horno de grafito después de realizadas las lecturas de cada una de las muestras a estudiar, ya que para hacer las lecturas el aparato tenía que alcanzar una temperatura de hasta 2100°C para llegar al grado de atomización, temperatura indicada por el manual de operación del aparato para la determinación de selenio; y una lámpara de Selenio (SELENIUM SYSTEM 2 ELECTRODELESS-DISCHARGE LAMP) de la marca Perkin-Elmer con número de identificación p/n = N305-0672, de dos electrodos y con un máximo de 16 mamp.

El espectrofotómetro se usó para la determinación de las concentraciones finales de selenio en cada una de las muestras, después de haber sido sometidas a la digestión por el método del horno de microondas.

### **8.3.- REACTIVOS**

Para la realización del presente experimento se usaron los siguientes reactivos:

Ácido nítrico al 69.0 – 70.0 % (J. T. Baker), de grado analítico.



00117

Ácido Clorhídrico al 36.5 – 38.0 % (J. T. Baker), de grado analítico.

Agua tridestilada.

Selenio concentrado a una proporción de 1000 ppm.

#### **8.4.- OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS**

Las muestras de sangre a estudiar se obtuvieron de cada una de las 10 borregas a través de la punción de la vena yugular. Se extrajeron 5 ml de sangre que fueron colocados en tubos Vacutainer<sup>®</sup> con EDTA, los cuales se centrifugaron a 2500 revoluciones por minuto durante 15 minutos, para la separación del suero sanguíneo, en el que se hicieron las determinaciones de selenio. Una vez centrifugadas las muestras se colocaron en tubos "eppendorf" y se conservaron a una temperatura de -20 °C.

El muestreo se realizó el día previo al comienzo de la suplementación para tener los datos basales y posteriormente a los 15, 30, 45 y 60 días posteriores al inicio de la suplementación.

Las muestras fueron tomadas de la manera siguiente: se sujetaron los animales uno por uno y se colocaron en una posición adecuada para poder extraerles la sangre sin lastimarlos, se les frotó la zona donde se hizo la punción con una torunda de algodón impregnada con alcohol, para prevenir infecciones, se tomó la muestra con jeringas estériles con una capacidad de 5 ml cada una.

Además se tuvo el cuidado de dar el mejor manejo a cada una de las muestras, evitando en lo posible que el medio ambiente y las condiciones medioambientales pudieran afectar las muestras; así mismo se trató de evitar la contaminación de las mismas, para este fin siempre se tuvo el cuidado de realizar el trabajo entre 2 o más personas con el fin de garantizar que quien realizara la punción no tocara, más que en lo razonable, al animal y a cada una de las personas que realizaron las punciones se les facilitó un par de guantes de hule látex para evitar así la posible contaminación.



- e) Se colocó el plato ya preparado dentro del horno de microondas cuidando que estuviera bien equilibrado y colocado para evitar accidentes.
- f) Se definió el método de funcionamiento del horno de microondas. Al inicio de este paso se introdujeron los datos de los estadios, tanto el tiempo de duración del cambio de uno a otro (en este caso 20 minutos) como la presión a la cuál se realizaría el estadio.
- 2) A lo largo del proceso de la digestión de microondas las presiones van aumentando, iniciando con 20 lbs y terminando con 150 lbs; en cada estadio la presión fue de: estadio 1 =20 lbs, estadio 2 =40 lbs, estadio 3 =80 lbs y estadio 4 =150 lbs.
  - 3) Una vez que se terminó con el proceso de digestión, después de terminado el estadio 3, se procedió a retirar el plato completo del horno de microondas, dejando que se enfriara a temperatura ambiente.
  - 4) Una vez enfriado a temperatura ambiente se empezaron a retirar los inyectores de presión, teniendo cuidado de no permitir que los gases producidos se liberaran muy de prisa porque esto podría provocar que parte del selenio se volatilizara y por ende se perdiera.
  - 5) Una vez realizado lo anterior se destaparon los tubos por completo, con el mismo cuidado que el paso anterior, y se procedió al aforo, teniendo cuidado de limpiar completamente las paredes y tapas de cada uno de los tubos para evitar que parte de la cantidad de selenio se perdiera.
  - 6) Una vez colocados los 50 ml de solución dentro de los matraces se dejaron enfriar completamente, para después colocarlos en recipientes que se pudieran sellar bien para ser refrigerados.



## 9.- RESULTADOS

Los resultados del experimento se ven expresados en el cuadro No. 2, en donde se observa que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $P > 0.1$ ), aunque dentro del grupo suplementado si se aprecia una diferencia entre el primer y último muestro, a pesar de que esta no es estadísticamente significativa ( $P = 0.06$ ).

Podemos observar también que para el grupo suplementado los niveles de selenio se elevaron de manera lineal un 363.3% aproximadamente, al comparar los niveles plasmáticos de selenio del muestreo 1 con el muestreo 4.

Para el grupo control se observa un aumento lineal de 271.4% aproximadamente, al comparar el muestreo 1 con el muestreo 3, pero al comparar el muestreo 3 con el muestreo 4 se aprecia una disminución de 11.5% aproximadamente.

Se aprecia que al momento de iniciar el estudio el grupo control tenía niveles plasmáticos de selenio un poco más elevados que el grupo suplementado, y se mantiene así hasta el muestreo 3.

Cuadro No. 2: Niveles plasmáticos de selenio (ppm) de los grupos de ovejas testigo y con suplementación oral

MUESTREOS	SELENIO	TESTIGO	N S O	E. E.
1	0.06505	0.077464	0.8798	0.058
2	0.08546	0.121698	0.6592	0.058
3	0.12776	0.193482	0.4255	0.058
4	0.218276	0.172155	0.5970	0.058



## 10.- DISCUSIÓN

Nosotros esperábamos encontrar una elevación de los niveles de Se plasmáticos en las ovejas suplementadas oralmente con Se orgánico, sin embargo los resultados muestran una diferencia no significativa entre el grupo suplementado y el grupo control. No obstante, dentro del grupo suplementado se puede observar una diferencia que nos indica un efecto acumulativo en los niveles de selenio plasmático, ya que la diferencia entre el nivel obtenido al empezar la suplementación es marcadamente menor del obtenido en la cuarta semana, aunque no hay una diferencia estadísticamente significativa ( $P=0.06$ ).

Cristaldi y McDowell, (2005), reportan una diferencia significativa de los niveles de selenio plasmático entre grupos ( $n=7$ ) cuando suplementan por vía oral a ovejas con selenito de sodio en forma oral a razón de 2 ppm durante 365 días.

katamoto *et al.*, (1998), al suplementar cabras ( $n=6$ ) no preñadas, ni lactantes, con selenio a razón de 0.1 mg/kg por vía intramuscular, 8 días antes del reto a estrés calórico, reportan una diferencia significativa de los niveles de selenio en el plasma, los cuales aumentaron a lo largo del periodo de estudio en el grupo de animales suplementados.

Gunter *et al.*, (2003) al suplementar grupos de vacas lecheras preñadas ( $n=20$ ) por vía oral con levadura de selenio (Sel-Plex; Alltech, Inc., Nicholasville, KY) a razón de 26 mg/kg/día durante 42 semanas, reportaron una diferencia significativa entre los grupos.

Ortman y Pehrson, (1999) reportaron al suplementar vacas lecheras lactantes primíparas ( $n=11$ ) con levadura de selenio a razón de 3 mg/kg una diferencia significativa de los niveles de selenio plasmático entre los grupos. Y observaron un aumento lineal hasta la cuarta semana de los niveles de selenio plasmático, el cual se mantuvo a lo largo del periodo experimental que fue de 12 semanas.

Nuestros resultados comparados con los de Cristaldi y McDowell, (2005), son diferentes debido tal vez a que el periodo de suplementación fue mucho



más prolongado (365 días) que el nuestro (8 semanas). Ya que, el número de animales, la vía de administración, la dosis de suplementación y demás factores son los mismos.

Comparando nuestros resultados con los de katamoto *et al.*, (1998), las diferencias se pueden deber a que ellos expusieron a los animales a un estrés calórico después de suplementar y a una dosis mayor de suplementación (de  $2.2 \pm 1.3$  ppm).

En comparación con Gunter *et al.*, (2003), las diferencias se pueden deber a la dosis de suplementación usada, al periodo de estudio, al número de animales y al estado de preñez de los animales y con Ortman y Pehrson, (1999), las diferencias se pueden deber a la dosis de suplementación, al número de animales y al estado de lactación.

La principal función del selenio es como antioxidante ayudando a prevenir el daño celular cuando se generan radicales libres. Durante la preñez, el estrés calórico y otras situaciones de estrés hay una producción elevada de radicales libres, y el organismo reacciona tratando de evitar el daño oxidativo, por ende, se eleva la concentración de selenio en sangre, el cual es movilizado para ayudar a esto. Esto hace probable que debido a la ausencia de tales situaciones o condiciones de estrés en nuestro experimento los niveles de selenio plasmático no manifiestan un aumento. Otro aspecto importante a considerar en nuestro trabajo, es el tiempo o periodo de suplementación, ya que en estudios como el de Cristaldi y McDowell, (2005) los niveles se elevaron al máximo, cuando se hizo la determinación correspondiente a la semana número 40 del estudio. No obstante, no debemos dejar pasar por alto que si hubo un efecto acumulativo de la primera a la cuarta semana, lo cual indica que de haber continuado el experimento un tiempo mayor pudimos haber observado una diferencia significativa.



En nuestros resultados no se obtuvieron diferencias significativas probablemente debido al bajo número de animales por grupo, a la ausencia de estrés (ya que la mayoría de los estudios han sido realizados en época de parto o en estrés calórico) y al nivel de suplementación que se usó, ya que según Cristaldi y McDowell, (2005) los mejores efectos se consiguen a niveles de hasta 10 ppm, a pesar de que a otros autores estas cantidades les parecen excesivas. Sería conveniente hacer un estudio comparativo para ver si se obtienen mayores niveles de selenio plasmáticos con mayores niveles de suplementación a pesar de la ausencia de factores estresantes.

Downloaded from *Journal of Animal Science* on 05/11/14 by guest. See the Terms and Conditions (<http://www.asn.org/publications/authors>) for IP address.

Bohmer, R. E., K. E. Miller, and A. K. Mody. 2013. "Telomerase activation and length increase in mice that are deficient for telomerase P." *J. Natl. Acad. Sci.* 110: 19173-203.

Carson, G. A., S. V. Navarrete, E. Kuruwandy, A. J. Lee, M. P. Amey, V. A. Murgatroy, and D. S. Threlkeld. 2014. "Specific oxidation of the  $\alpha$ -hydroxy ketone of 2-thiothiazolidine-4-carboxylic acid by a selenoenzyme in the presence of a selenocysteine in their reaction." *J. Biol. Chem.* 289: 3011-7.

Chen, J. Y., M. J. Wang, A. Rappasano, B. Caporaso, P. Benincasa, E. Todorova, and M. Napolitano. 2001. "Selenium from selenium-rich biomass as feed supplement: high selenium from beetroot seaweed and selenium from *Spirulina platensis*." *J. Natl. Acad. Sci.* 98: 2353-57.

Chen, J. Y., and L. R. McDowell. 2005. "Tolerance of inorganic selenium by growing sheep." *Small Rumin. Res.* 35: 102-101.

Chen, J. Y., R. J. Johnson, and R. P. Stevens. 2004. "Selenium selenocysteine selenoprotein 2 is a selenoenzyme that is associated with a cluster of oxidative stress-related genes, nuclear factor-kappaB, and inhibitor of kappaB protein." *J. Biol. Chem.* 279: 204-14.



## 12.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arthur, J. R., R. C. McKenzie y G. J. Beckett 2003. "Selenium in the immune system." *J Nutr* 133: 1457S-9S.
- Beck, M. A., O. A. Levander y J. Handy 2003. "Selenium deficiency and viral infection." *J Nutr* 133: 1463S-7S.
- Beckett, G. J. y J. R. Arthur 2005. "Selenium and endocrine systems." *J Endocrinol* 184: 455-65.
- Behne, D. y A. Kyriakopoulos 2001. "Mammalian selenium-containing proteins." *Annu Rev Nutr* 21: 453 - 473.
- Bem, E. M. 1981. "Determination of selenium in the environment and in biological material." *Environ Health Perspect* 37: 183-200.
- Bjorkhem-Bergman, L., U. B. Torndal, S. Eken, C. Nystrom, A. Capitanio, E. H. Larsen, M. Bjornstedt y L. C. Eriksson 2005. "Selenium prevents tumor development in a rat model for chemical carcinogenesis." *Carcinogenesis* 26: 125-31.
- Bodenseewerk Perkin-Elmer and Co GMBH/Überlingen (2000). Manual de Procedimientos. Germany.
- Burk, R. F., K. E. Hill y A. K. Motley 2003. "Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P." *J Nutr* 133: 1517S-20S.
- Carlson, B. A., S. V. Novoselov, E. Kumaraswamy, B. J. Lee, M. R. Anver, V. N. Gladyshev y D. L. Hatfield 2004. "Specific excision of the selenocysteine tRNA[Ser]Sec (Trsp) gene in mouse liver demonstrates an essential role of selenoproteins in liver function." *J Biol Chem* 279: 8011-7.
- Cases, J., V. Vacchina, A. Napolitano, B. Caporiccio, P. Besancon, R. Lobinski y J. M. Rouanet 2001. "Selenium from selenium-rich Spirulina is less bioavailable than selenium from sodium selenite and selenomethionine in selenium-deficient rats." *J Nutr* 131: 2343-50.
- Cristaldi, L. A. y L. R. McDowell 2005. "Tolerance of inorganic selenium in wether sheep." *Small Rum. Res.* 56: 205-213.
- Gopee, N. V., V. J. Johnson y R. P. Sharma 2004. "Sodium selenite-induced apoptosis in murine B-lymphoma cells is associated with inhibition of protein kinase C-delta, nuclear factor kappaB, and inhibitor of apoptosis protein." *Toxicol Sci* 78: 204-14.



- Gromer, S., L. Johansson, H. Bauer, L. D. Arscott, S. Rauch, D. P. Ballou, C. H. Williams, Jr., R. H. Schirmer y E. S. Arner 2003. "Active sites of thioredoxin reductases: why selenoproteins?" *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 12618-23.
- Gunter, S. A., P. A. Beck y J. K. Phillips 2003. "Effects of supplementary selenium source on the performance and blood measurements in beef cows and their calves." *J Anim Sci* 81: 856-64.
- Hill, K. E., A. K. Motley, X. Li, J. M. May y R. F. Burk 2001. "Combined selenium and vitamin E deficiency causes fatal myopathy in guinea pigs." *J Nutr* 131: 1798-802.
- Hill, K. E., J. Zhou, W. J. McMahan, A. K. Motley y R. F. Burk 2004. "Neurological dysfunction occurs in mice with targeted deletion of the selenoprotein P gene." *J Nutr* 134: 157-61.
- Ivancic, J., Jr. y W. P. Weiss 2001. "Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance of lactating Holstein cows." *J Dairy Sci* 84: 225-32.
- Jeong, D. W., M. H. Yoo, T. S. Kim, J. H. Kim y I. Y. Kim 2002. "Protection of mice from allergen-induced asthma by selenite: prevention of eosinophil infiltration by inhibition of NF-kappa B activation." *J Biol Chem* 277: 17871-6.
- Jin, J. S., S. Baek, H. Lee, M. Y. Oh, Y. E. Koo, M. S. Shim, S. Y. Kwon, I. Jeon, S. Y. Park, K. Baek, M. A. Yoo, D. L. Hatfield y B. J. Lee 2004. "A DNA replication-related element downstream from the initiation site of *Drosophila* selenophosphate synthetase 2 gene is essential for its transcription." *Nucleic Acids Res* 32: 2482-93.
- Jukola, E., J. Hakkarainen, H. Saloniemi y S. Sankari 1996. "Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and beta-carotene concentrations and udder health, fertility treatments, and fertility." *J Dairy Sci* 79: 838-45.
- katamoto, H., H. Fukuda, I. Oshima, N. Ishikawa y Y. Kanai 1998. "Nitroblue tetrazolium reduction of neutrophils in heat stressed goats is not influenced by selenium and vitamina E injection." *J V Med Sci* 60: 1243 - 1249.
- Kim, S. H., V. J. Johnson, T. Y. Shin y R. P. Sharma 2004. "Selenium attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative stress responses through modulation of p38 MAPK and NF-kappaB signaling pathways." *Exp Biol Med (Maywood)* 229: 203-13.



- Kim, Y. Y. y D. C. Mahan 2001. "Prolonged feeding of high dietary levels of organic and inorganic selenium to gilts from 25 kg body weight through one parity." *J Anim Sci* 79: 956-66.
- Klotz, L. O., K. D. Kroncke, D. P. Buchczyk y H. Sies 2003. "Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress." *J Nutr* 133: 1448S-51S.
- Knowles, S. O., N. D. Grace, K. Wurms y J. Lee 1999. "Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows." *J Dairy Sci* 82: 429-37.
- Lawler, T. L., J. B. Taylor, J. W. Finley y J. S. Caton 2004. "Effect of supranutritional and organically bound selenium on performance, carcass characteristics, and selenium distribution in finishing beef steers." *J Anim Sci* 82: 1488-93.
- Locatelli, F., B. Canaud, K. U. Eckardt, P. Stenvinkel, C. Wanner y C. Zoccali 2003. "Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome." *Nephrol Dial Transplant* 18: 1272-80.
- Martin-Romero, F. J., G. V. Kryukov, A. V. Lobanov, B. A. Carlson, B. J. Lee, V. N. Gladyshev y D. L. Hatfield 2001. "Selenium metabolism in *Drosophila*: selenoproteins, selenoprotein mRNA expression, fertility, and mortality." *J Biol Chem* 276: 29798-804.
- Mayne, S. T. 2003. "Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research." *J Nutr* 133 Suppl 3: 933S-940S.
- Meglia, G. E., A. Johannisson, L. Petersson y K. P. Waller 2001. "Changes in some blood micronutrients, leukocytes and neutrophil expression of adhesion molecules in periparturient dairy cows." *Acta Vet Scand* 42: 139-50.
- Ogasawara, Y., G. M. Lacourciere, K. Ishii y T. C. Stadtman 2005. "Characterization of potential selenium-binding proteins in the selenophosphate synthetase system." *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 1012-6.
- O'Grady, M. N., F. J. Monahan, R. J. Fallon y P. Allen 2001. "Effects of dietary supplementation with vitamin E and organic selenium on the oxidative stability of beef." *J Anim Sci* 79: 2827-34.
- Oldfield, J. E. 2003. "Some recollections of early swine research with selenium and vitamin E." *J Anim Sci* 81: E145 - E148.



- Ortman, K. y B. Pehrson 1999. "Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast." *J Anim Sci* 77: 3365-70.
- Paula-Lopes, F. F., Y. M. Al-Katanani, A. C. Majewski, L. R. McDowell y P. J. Hansen 2003. "Manipulation of antioxidant status fails to improve fertility of lactating cows or survival of heat-shocked embryos." *J Dairy Sci* 86: 2343-51.
- Pehrson, B., K. Ortman, N. Madjid y U. Trafikowska 1999. "The influence of dietary selenium as selenium yeast or sodium selenite on the concentration of selenium in the milk of Suckler cows and on the selenium status of their calves." *J Anim Sci* 77: 3371-6.
- Sabe, R., R. Rubio y L. García-Beltrán 2001. "Selenium determination in urine with atomic fluorescence detection." *Anal. Chim. Acta* 436: 215-221.
- Saito, Y., Y. Yoshida, T. Akazawa, K. Takahashi y E. Niki 2003. "Cell death caused by selenium deficiency and protective effect of antioxidants." *J Biol Chem* 278: 39428-34.
- Savaskan, N. E., A. U. Brauer, M. Kuhbacher, I. Y. Eyupoglu, A. Kyriakopoulos, O. Ninnemann, D. Behne y R. Nitsch 2003. "Selenium deficiency increases susceptibility to glutamate-induced excitotoxicity." *Faseb J* 17: 112-4.
- Spears, J. W. 2003. "Trace mineral bioavailability in ruminants." *J Nutr* 133: 1506S-9S.
- Tanguy, S., M. C. Toufektsian, S. Besse, V. Ducros, J. De Leiris y F. Boucher 2003. "Dietary selenium intake affects cardiac susceptibility to ischaemia/reperfusion in male senescent rats." *Age Ageing* 32: 273-8.
- Tsalev, D. L. (1985). Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice. Boca Ratón, Florida, CRC Press, Inc.
- Whanger, P. D. 2002. "Selenocompounds in plants and animals and their biological significance." *J Am Coll Nutr* 21: 223-32.