

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN NUTRICIÓN



**“SELENOPROTEÍNAS Y CONTENIDO DE SELENIO EN CUYES EN
CRECIMIENTO SOMETIDOS A DIFERENTES NIVELES DE
SELENIO DIETARIO”**

Presentada por:

ADA DEL PILAR ALIAGA ROTA

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR

***DOCTORIS PHILOSOPHIAE* EN NUTRICIÓN**

Lima-Perú

2020

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
DOCTORADO EN NUTRICIÓN**

**“SELENOPROTEÍNAS Y CONTENIDO DE SELENIO EN
CUYES EN CRECIMIENTO SOMETIDOS A DIFERENTES
NIVELES DE SELENIO DIETARIO”**

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR

Doctoris Philosophiae en Nutrición

Presentada por:

Ada del Pilar Aliaga Rota

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Carlos Vílchez Perales
PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Gómez Bravo
ASESOR

Dra. María Elena Villanueva Espinoza
MIEMBRO

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco
MIEMBRO

Dra. Teresa Blanco Blasco
MIEMBRO EXTERNO

DEDICATORIA

A mis hijos, Luis Andrés, Nicolas y Mauricio, con amor.

A mis padres, Lucho y Cuqui, con amor.

AGRADECIMIENTOS

Al Vicerectorado de Investigación por el apoyo brindado para el financiamiento de esta tesis.

A mi asesor, Ph. D. Carlos Gómez por el apoyo durante el desarrollo de la tesis.

A los miembros del comité por su apoyo y sugerencias para la tesis.

A la facultad de Ciencias, a mis colegas del departamento de Química por el apoyo recibido para el desarrollo de esta tesis.

Al laboratorio de Química Biológica y Bioanálisis del Departamento de Química y al Laboratorio de Biotecnología y Micología Marcel Gutiérrez Correa por el apoyo para el desarrollo de los análisis de laboratorio del presente trabajo.

Al programa de Animales Menores de la Facultad de Zootecnia por el apoyo en el desarrollo de la parte experimental de este trabajo.

Al Dr. Marco García y la Ing. Teresa Montes por su constante apoyo durante la parte experimental de este trabajo.

A a la Dra. Gretty Villena y a la Dra. Ana Kitazono por su apoyo para el desarrollo de los análisis de laboratorio.

A mis hijos por su paciencia y ayuda durante el tiempo que requirió este trabajo.

A mi amiga, Carmen Rodríguez por su valioso y permanente apoyo durante mis estudios y desarrollo de la tesis.

A todas las personas que hicieron posible con su ayuda la culminación de este trabajo, Otto Huànuco, Bèlgica, Luis, Renzo, Alondra, entre otros.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. METABOLISMO DEL SELENIO.....	4
2.2. SÍNTESIS DE SELENOPROTEÍNAS.....	6
2.2.1 Regulación de la expresión de las selenoproteínas	9
2.3. SELENOPROTEÍNAS	10
a. Glutation peroxidasas (Gpxs).....	10
b. Tioredoxina reductasas (TrxRs).....	14
c. Iodo Tironina Deiodinasas (DIOs)	16
2.4. ESTATUS DE SELENIO	17
2.5. SELENIO EN CUYES	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN.....	21
3.2 TRATAMIENTOS	21
3.3 ANIMALES.....	22
3.4. ALIMENTACIÓN.....	23
3.5 MEDICIONES	27
3.5.1 Ganancia de peso y consumo	27
3.5.2 Análisis de laboratorio	28
a. Toma de Muestras.....	28

b. Determinación de Selenoproteínas	29
Preparación de homogeneizados de hígado y riñón	29
Actividad de glutatión peroxidasa.....	29
Actividad de tioredoxina reductasa.....	31
Determinación de Iodotironina deiodinasa tipo I.....	31
Determinación de contenido de selenio	32
3.6. DISEÑO ESTADÍSTICO	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
4.1. GANANCIA DE PESO CONSUMO Y CONVERSIÓN ALIMENTICIA	34
4.2. SELENOPROTEÍNAS.....	36
4.2.1 Actividad de glutatión peroxidasa (1.11.1.9)	36
4.2.2. Actividad de tioredoxina reductasa (1.8.1.9).....	41
4.2.3 Contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1 (1.21.99.4)	42
4.3 CONTENIDO DE SELENIO EN MÚSCULO, SANGRE Y CUERPO	44
V. CONCLUSIONES	48
VI. RECOMENDACIONES	49
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
X. Anexos	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 . Composición porcentual de la dieta basal	24
Tabla 2. Valor nutricional calculado de los alimentos utilizados.....	25
Tabla 3. Composición de las premezclas.....	26
Tabla 4. Análisis proximal de la dieta basal.....	27
Tabla 5. Contenido de selenio en los alimentos utilizados.....	27
Tabla 6. Ganancia de peso, consumo y conversión alimenticia de los animales.....	35
Tabla 7. Actividad de glutatión peroxidasa en plasma, eritrocitos, hígado y riñón.....	37
Tabla 8. Actividad de tioredoxina reductasa y contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1 en hígado.....	42
Tabla 9. Concentración de selenio en sangre, músculo y cuerpo.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rutas del metabolismo de selenio en animales.....	5
Figura 2. Mecanismo de biosíntesis de selenocisteína en eucariotas.....	7
Figura 3. Mecanismo de inserción de la selenocisteína (Sec) en eucariotas....	9
Figura 4. Esquema de la actividad catalítica de glutatión peroxidadas.....	11
Figura 5. Reacciones de actividad catalítica y funciones de tioredoxina reductasa en la célula.....	15
Figura 6. Reacciones catalizadas por las yodotironina deiodinasas.....	17
Figura 7. Jaulas utilizadas para alojar a los animales durante el período experimental.....	22

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I.	Especificaciones técnicas de insumos utilizados en la ración.....	61
Anexo II.	Curva estándar de albúmina para determinación de proteínas.....	67
Anexo III.	Curva estándar para análisis de iodotironina deiodinasa tipo 1....	68
Anexo IV.	Pesos de los animales en los tres tratamientos durante el periodo experimental.....	69
Anexo V.	Ganancia de peso, consumo y conversión alimenticia acumulada	70
Anexo VI.	Actividad enzimática de glutatión peroxidasa en plasma, hígado, riñón y eritrocitos.....	71
Anexo VII.	Actividad de tioredoxina reductasa y contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1	72
Anexo VIII.	Concentración de selenio en sangre, músculo y cuerpo.....	73

RESUMEN

Con el objetivo de determinar el efecto de tres niveles de selenio dietario sobre selenoproteínas y contenido de selenio en cuyes en crecimiento, se utilizaron 33 cuyes destetados, de 12 días de edad y peso promedio de 258 ± 35 gramos, que después de un período de adaptación de 14 días fueron distribuidos al azar en tres tratamientos (T1, T2 y T3) cuya única diferencia fue el contenido de selenio en el alimento: 0.10, 0.17 y 0.24mg Se/kg de alimento para T1, T2 y T3 respectivamente. Los animales recibieron una dieta sin suministro de forraje, con adición de vitamina C y fueron alojados en jaulas individuales provistas de comedero y bebedero individual, tuvieron libre acceso al alimento y agua, se registró el consumo de alimento diario y el peso semanal de los mismos. Al finalizar la quinta semana en las jaulas, los cuyes fueron sacrificados, tomándose las muestras necesarias para medir diversas selenoproteínas y contenido de selenio. No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos para ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia. Tampoco se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos en actividad de glutatión peroxidasa dependiente de selenio en plasma hígado y riñón ni en actividad de tioredoxina reductasa en hígado. Sin embargo, la actividad de glutatión peroxidasa en eritrocitos y el contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1 en hígado, fueron significativamente mayores ($P < 0.05$) para T2 y T3 con respecto a T1, pero no se encontraron diferencias entre T2 y T3 ($P > 0.05$). Los contenidos de selenio en sangre y selenio en cuerpo mantuvieron la misma tendencia, siendo significativamente mayores ($P < 0.05$) para T2 y T3 en comparación con T1, pero sin mostrar diferencias ($P > 0.05$) entre T2 y T3. En el contenido de selenio en músculo se observó una tendencia a incrementar conforme se incrementó el nivel de selenio en la dieta, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas entre tratamientos ($P > 0.05$). Diferentes niveles de selenio dietario en cuyes en crecimiento modifican la actividad de glutatión peroxidasa eritrocitaria y contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1 en hígado, así como el contenido de selenio en sangre y cuerpo.

Palabras clave: cuyes, selenio, selenoproteína, glutatión peroxidasa, tioredoxina reductasa, iodotironina deiodinasa.

ABSTRACT

The study aimed to determine the effect of three levels of selenium on the diet of growing guinea pigs. Thirty-three weaned guinea pigs of 12 days old and average weight of $258\text{g} \pm 35\text{g}$ were used, which after an adaptation period of 14 days were randomized into three treatments (T1, T2 and T3) whose only difference was the selenium content of the food: 0.10, 0.17 and 0.24mg Se/kg of food for T1, T2 and T3 respectively. The animals received a diet without forage supply, with addition of vitamin C and were individually housed in cages and had free access to food and water. The daily intake of food and weekly weight of the animals was registered. At the end of the fifth week in the cages, the guinea pigs were sacrificed, taking the necessary samples to measure selenoprotein and selenium content. No differences were found ($P>0.05$) between treatments for weight gain, feed intake and feed conversion. No significant differences were found ($P>0.05$) between treatments in selenium-dependent glutathione peroxidase activity in liver and kidney plasma or in thioredoxin reductase activity in liver. However, the activity of glutathione peroxidase in erythrocytes and the content of deiodinase in liver were significantly higher ($P<0.05$) for T2 and T3 with respect to T1, but no differences were found between T2 and T3 ($P>0.05$). The selenium contents in blood and selenium in the body maintained the same tendency as glutathione peroxidase in erythrocytes and deiodinase content in liver, being significantly higher ($P<0.05$) for T2 and T3 compared to T1, but without showing differences ($P>0.05$) between T2 and T3. In the selenium content in muscle a tendency to increase was observed as the level of selenium in the diet was increased, however, these differences were not significant between treatments ($P>0.05$). Different levels of dietary selenium in growing guinea pigs modify the activity of erythrocyte glutathione peroxidase and iodothyronine deiodinase type 1 content in the liver, as well as the selenium content in blood and body.

Key words: guinea pigs, selenium, selenoprotein, glutathione peroxidase, thioredoxin reductase, iodothyronine deiodinase.

I. INTRODUCCIÓN

El selenio es un micronutriente esencial cuya función está asociada a las funciones fisiológicas de una serie de selenoproteínas (Burk y Hill 2015) y cumple un rol importante en varias funciones bioquímicas en células humanas y animales. A medida que se van identificando y descubriendo las funciones de estas selenoproteínas, también crece la amplia gama de funciones en las cuales se involucra al selenio. Se han identificado alrededor de 30 selenoproteínas que intervienen en diversas funciones como defensa antioxidante, función inmune, efecto hepatoprotector, crecimiento (vía metabolismo de hormonas tiroideas) y reproducción (Kumar y Priyadarsini 2014). Las selenoproteínas glutatión peroxidasa, tioredoxina reductasa y deiodinasa son las más conocidas y sus contenidos cambian en sangre y tejidos de animales en respuesta a alimentación con diferentes niveles de selenio (Sunde et al. 2016)(Taylor et al. 2018) por lo tanto podrían proporcionar información relevante sobre la función fisiológica de selenio y pueden ser utilizadas como indicativos de estatus de selenio (Combs 2015).

En la mayoría de especies (ratas, ratones, ovinos, pollos, pavos) los biomarcadores más apropiados para estatus y ensayos de requerimientos de selenio son las medidas de actividad de glutatión peroxidasa en hígado y en plasma (Sunde et al 20106). Estas caen sustancialmente cuando el suministro de selenio es deficiente y alcanzan una meseta bien definida, cuando el suministro es adecuado (Sunde 2012). Sin embargo, el comportamiento de estas enzimas podría ser algo diferente en cuyes. Estudios iniciales en estos animales indicaron que , a diferencia de otras especies como ratas, ovinos, cerdos y pollos, la enzima Glutatión peroxidasa dependiente de selenio no se encontraba en hígado (Lawrence y Burk 1978; Igarashi et al. 1983; Shreve et al. 1979), y tampoco en plasma ni en riñón de cuyes (Tappel et al. 1982), llegando inclusive a sugerir que los cuyes, podrían no tener un requerimiento dietario de selenio. Trabajos posteriores detectaron la presencia de la enzima glutatión peroxidasa dependiente de selenio en cuyes, pero en comparación a otras especies

con muy pequeña actividad en la mayoría de tejidos (aproximadamente 6% de la actividad en hígado, observada para ratas) (Burk et al. 1981, Himeno et al. 1993).

Existe poca información sobre estudios de selenio en cuyes. El National Research Council (1995) indica un requerimiento de 0.15mg/kg, deducido a partir de estudios realizados en ratas. Al respecto, Jensen y Pallauf (2008), utilizando selenato de sodio, recomiendan el empleo de un nivel de 0.08mg de selenio por kilogramo de alimento, para cubrir el requerimiento de estos animales. Asimismo, Chaudhary et al. (2012), indican que la suplementación con selenito de sodio para alcanzar un nivel de selenio dietario de 0.2mg/kg, no produce mejoras en el crecimiento ni utilización de nutrientes en cuyes en crecimiento, mientras que Chaudhary et al. (2010), recomiendan un nivel mayor o igual a 0.2mgSe/kg de alimento, cuando se utiliza selenio orgánico. Por último, Sirota (2010), menciona que la suplementación con selenio en cuyes (si no hay deficiencia), podría ser perjudicial al causar desarrollo de estrés oxidativo en riñón (Sirota, 2010).

Los estudios citados en líneas anteriores, han sido realizados en animales de laboratorio, cuyos parámetros de crecimiento son diferentes a aquellos con fines productivos (Aliaga et al., 2009), y aún en estos, no se muestra una conclusión definitiva sobre el requerimiento de selenio dietario en cuyes en crecimiento, recomendándose el empleo desde 0.08 a 0.2mg Se/kg de alimento. Al respecto, es importante considerar que solo un trabajo encontrado en la literatura revisada ha sido desarrollado en animales con fines productivos (Mullo, 2009) y se menciona en este, que en cuyes en crecimiento no mejoran los parámetros productivos como efecto de la suplementación con selenio, sin embargo, en este último trabajo no se han medido las concentraciones de selenio total en el alimento, indicando solo la cantidad suplementada. Por lo expuesto, se hace necesario un mayor entendimiento del efecto de niveles de selenio dietario sobre la actividad o contenido de selenoproteínas que pudieran utilizarse como biomarcadores de función de selenio, para estudios posteriores de requerimientos de selenio en cuyes en crecimiento.

El objetivo del presente estudio es determinar el efecto de tres niveles de selenio dietario sobre selenoproteínas y contenido de selenio en cuyes en crecimiento, planteándose como objetivos específicos:

- a) Determinar el efecto de tres niveles de selenio dietario sobre la actividad de glutatión peroxidasa dependiente de selenio en plasma, en eritrocitos, en hígado y en riñón, así como actividad de tioredoxina reductasa y contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1 en hígado.
- b) Determinar el efecto de tres niveles de selenio dietario sobre el contenido total de selenio en sangre, músculo y cuerpo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. METABOLISMO DEL SELENIO

Es importante considerar las fuentes de selenio de las cuales se puede disponer en los alimentos para entender como estas siguen una ruta metabólica específica. La selenometionina, es la principal forma química de selenio que se encuentra en muchas dietas de humanos y animales. Esta es sintetizada por las plantas e incorporada en posiciones de metionina. Alrededor del 90% del selenio de las plantas se encuentra en forma de selenometionina y el resto podrían ser cantidades muy pequeñas de selenocisteína y selenito (White 2016). Una vez ingerida la selenometionina es absorbida vía intestinal e ingresa al pool de metionina en el cuerpo. Uno de los destinos de ese pool en el cuerpo es una inserción al azar en proteínas, en la posición de metionina, en proporción de su concentración. Por lo tanto, la selenometionina se puede encontrar en cualquier secuencia proteica, a causa de que los animales son incapaces de distinguir metionina de selenometionina en el proceso de síntesis proteica. Una proteína que contiene selenometionina es denominada proteína que contiene selenio, en cambio una proteína que contiene selenocisteína es una selenoproteína (Mehdi et al. 2013). La razón de esta diferencia entre proteína que contiene selenio y selenoproteína es que, en esta última, la selenocisteína debe ser incorporada específicamente, utilizando un código y mecanismo especial, durante el proceso de síntesis de la estructura de la proteína. Casi todas las selenoproteínas son enzimas y en estas, el selenio es parte del centro activo, específicamente es requerido para la formación del grupo selenol (-SeH), el centro activo de un residuo de selenocisteína en la secuencia de una selenoproteína (Ogra 2016). Consumos altos de selenometionina, resultan, por lo tanto, en acumulación de selenio en tejidos (Bertín y Surai 2007), que puede ser mucho más elevado que el selenio contenido en selenoproteínas. La degradación de selenometionina contenida en proteínas, libera selenometionina que reingresa al pool de metionina (Mehdi et al. 2013).

La selenocisteína es un intermediario en la vía de transulfuración reversa que produce selenometionina en plantas. Es mucho menos abundante en proteínas de las plantas que la selenometionina. A causa de que la selenocisteína es la forma de selenio en selenoproteínas animales, está presente en dietas que contienen productos animales. Se conoce poco acerca de su absorción en comparación a selenometionina y sobre el destino después de su absorción, pero es probable que sea reducida e ingrese al pool metabólico de selenio en células intestinales (Weekley y Harris 2013). Otras formas inorgánicas de selenio son utilizadas como suplementos, las dos más utilizadas son selenito y selenato. Ambas son absorbidas eficientemente, pero la absorción de selenito varía en un rango de 50-60% y es afectada por constituyentes dietarios, mientras que la absorción de selenato es casi completa. Sin embargo, una vez que el selenato es absorbido debe ser convertido a selenito antes de que pueda ser metabolizado (Figura 1) y una cantidad de selenato es perdido en la orina, lo cual hace la disponibilidad de selenato y selenito cercanamente equivalente (Burk y Hill 2015).

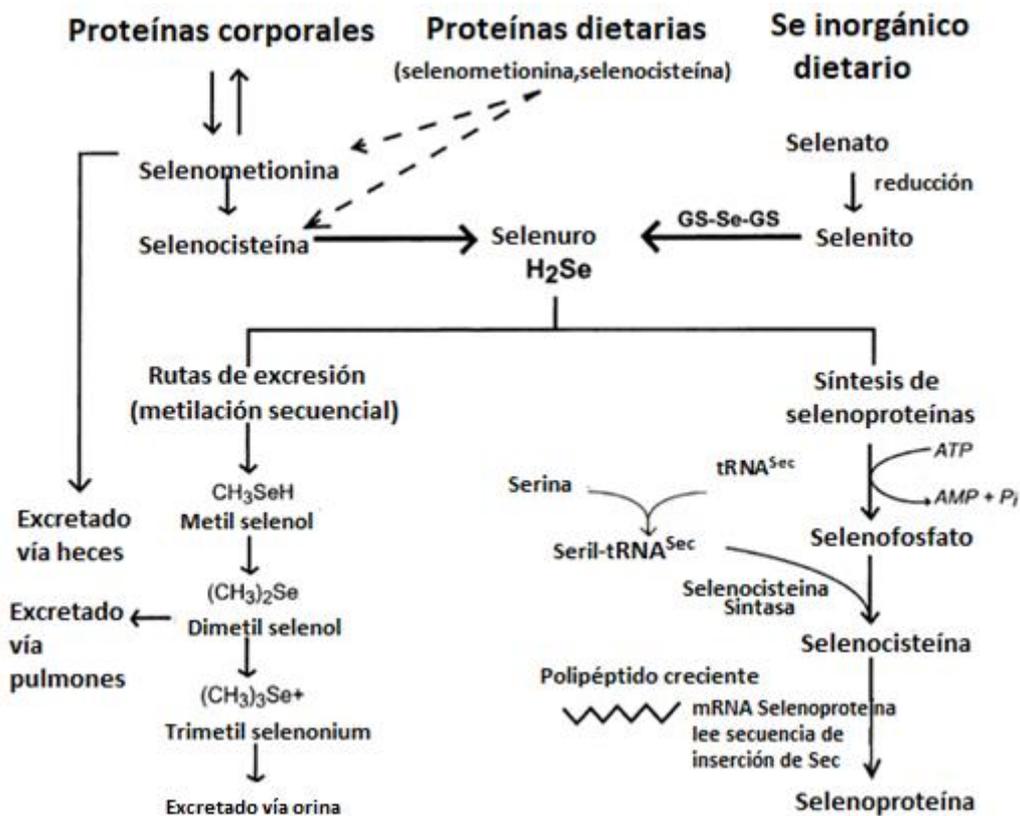


Figura 1: Rutas del metabolismo de selenio en animales

FUENTE: modificado de Schrauzer (2003).

Las especies inorgánicas pueden ser reducidas a selenuro, aunque el selenato no es rápidamente reducido a selenito por glutatión y se requieren condiciones reductoras más rigurosas, comparado a selenito. Los iones de selenito son rápidamente tomados por las células rojas sanguíneas, lo cual no sucede con los iones de selenato, que son tomados por los hepatocitos y parcialmente excretados directamente en la orina (Schrauzer 2003). El selenito tomado por células rojas es reducido a selenuro y transportado, unido a albúmina, vía sanguínea al hígado. De esta forma el selenuro de selenato o selenito es tomado por el hígado y utilizado para la síntesis de selenoproteínas: selenoproteína P y glutatión peroxidasa citosólica, la primera siendo más eficientemente sintetizada que la segunda y liberada a la sangre. Las formas orgánicas, principalmente como selenometionina, son transformadas a selenuro a través de una liberación reductiva del selenio por reacciones catalizadas por una enzima β -liasa. Una vez que el selenio es tomado por el cuerpo, este es principalmente excretado en la orina (mono y trimetilselenonium) y si es excesivo también a través de la respiración (dimetilselenuro). La forma monometilada es un seleno azúcar (seleno metil acetil galactosamina). Como las selenoproteínas son sintetizadas y degradadas en cada célula, los seleno azúcares se producen en cada célula y son eliminados a través de la sangre hacia la orina para su excreción (Figura 1) (Suzuki 2005).

2.2. SÍNTESIS DE SELENOPROTEÍNAS

Para iniciar el proceso de síntesis de proteínas se requiere la unión de aminoácidos a sus respectivos ARNt, igualmente para la síntesis de las selenoproteínas se requiere que selenocisteína se encuentre unida a su respectivo ARNt. El ARNt de selenocisteína ($\text{ARNt}^{(\text{Ser})\text{Sec}}$) se ha descrito como la molécula clave y componente central en la síntesis de selenoproteínas. La selenocisteína es el único aminoácido en el que la biosíntesis ocurre en su propio RNAt (no existe la síntesis del aminoácido libre) (Bulteau y Chavatte 2015). El primer paso en la biosíntesis de selenocisteína consiste en la amino acilación del $\text{ARNt}^{(\text{Ser})\text{Sec}}$ con serina por la enzima seril ARNt sintetasa (SerS). Seguidamente actúa la enzima fosfo seril ARNt quinasa (PSTK) que cataliza una fosforilación de serina, dependiente de ATP, formando el sustrato específico sobre el que actúa la selenocisteína sintasa (SecS). La conversión de $\text{ARNt}^{(\text{Ser})\text{Sec}}$ en selenocisteinil- $\text{ARNt}^{(\text{Ser})\text{Sec}}$ es catalizada entonces por la enzima SecS, la cual incorpora seleno fosfato, la forma activa de selenio, al esqueleto del

aminoácido y forma el selenocisteinil-ARNt. El donador de selenio, el mono seleno fosfato, es sintetizado a partir de seleniuro y ATP por la selenofosfato sintetasa (conocida como SelD en bacterias o SFS2 en eucariotas) (Figura 2) (Labunskyy et al. 2014, Vindry et al. 2018).

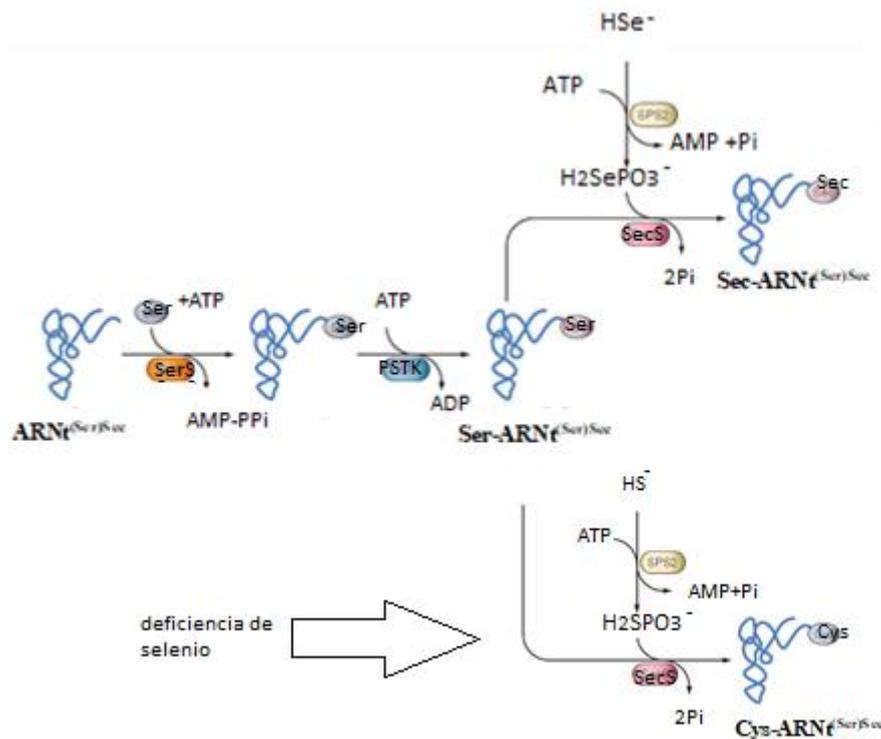


Figura 2: Mecanismo de biosíntesis de selenocisteína en eucariotas

FUENTE: modificado de Labunskyy et al. (2014) y Vindry et al. (2018).

Durante la deficiencia de selenio, la cisteína podría sustituir a la selenocisteína en las selenoproteínas, presumiblemente, sintetizándose Cys-ARNt^{(Ser)Sec}, tal como se indica en la Figura 2, cuando el tiofosfato es utilizado por la SPS2 en lugar del seleno fosfato. Aunque la frecuencia y eficiencia de este fenómeno no ha sido medida, se ha detectado en células en crecimiento en medios con deficiente contenido de selenio para tioredoxina reductasa 1, tioredoxina reductasa 3 y selenoproteína P. Estos hallazgos revelan que en ARNm de selenoproteínas de mamíferos, el codón UGA puede ser decodificado como Sec, Cys o término de síntesis proteica, dependiendo esto de la disponibilidad de selenio (Vindry et al. 2018).

Para continuar con la síntesis proteica, los ARNm de las selenoproteínas deben identificar a Sec y en estos, la inserción de selenocisteína está codificada por el codón UGA, que normalmente es utilizado como un codón de terminación de la síntesis proteica, en otros ARNm. Por esta razón, la selenocisteína se reconoce como el 21^{avo} aminoácido. En el genoma humano se han identificado 25 genes de selenoproteínas, en las cuales el codón UGA especifica la inserción de selenocisteína (Vindry et al. 2018). La selenocisteína se incorpora a las cadenas polipeptídicas en crecimiento en el ribosoma, porque el codón UGA es reprogramado para codificar selenocisteína por un elemento de incorporación de selenocisteína, presente exclusivamente en los ARNm de las selenoproteínas. El elemento de incorporación de selenocisteína (SECIS) es el que desambigua el significado del codón UGA y se localiza después de 10 o más nucleótidos del mismo, dependiendo de la selenoproteína que se sintetice, hacia el extremo 3' del ARNm en bacterias y en la región 3' no traducida en archaeas y eucariotas. Aunque varían en secuencia, todos poseen una estructura de “tallo-bucle” conservada de aproximadamente 100 nucleótidos (Salinas 2010).

Para la incorporación de la selenocisteína a la proteína naciente, también se hace necesaria la presencia de la proteína de unión a selenocisteína (SBP2), que recluta al factor de elongación de Sec (EFSec) y al ARNt^{Sec}. Luego de la asociación con el ribosoma, SBP2 es desplazada del elemento SECIS por la proteína ribosomal L30. El cambio conformacional del elemento SECIS promueve la hidrólisis de GTP y la liberación del ARNt^{Sec} al sitio A del ribosoma (Figura 3). La proteína ribosomal L30 ha sido identificada como una proteína que participa en la unión del elemento de inserción SECIS, sin embargo, el rol exacto de L30 en la síntesis de selenoproteínas aún permanece en estudio. Otra proteína involucrada en la eficiencia de traducción de UGA es la fosfoproteína nucleolín, localizada en el núcleo e involucrada en síntesis de ARNr y en biogénesis del ribosoma. Esta proteína juega un rol importante en la regulación de la transcripción y remodelación de cromatina. Aunque las funciones de los elementos necesarios para la síntesis de selenoproteínas, ha sido establecida, los mecanismos por los cuales la selenocisteína es incorporada en las selenoproteínas aún no están completamente entendidos (Labunskyy et al. 2014, Dubey y Copeland 2016).

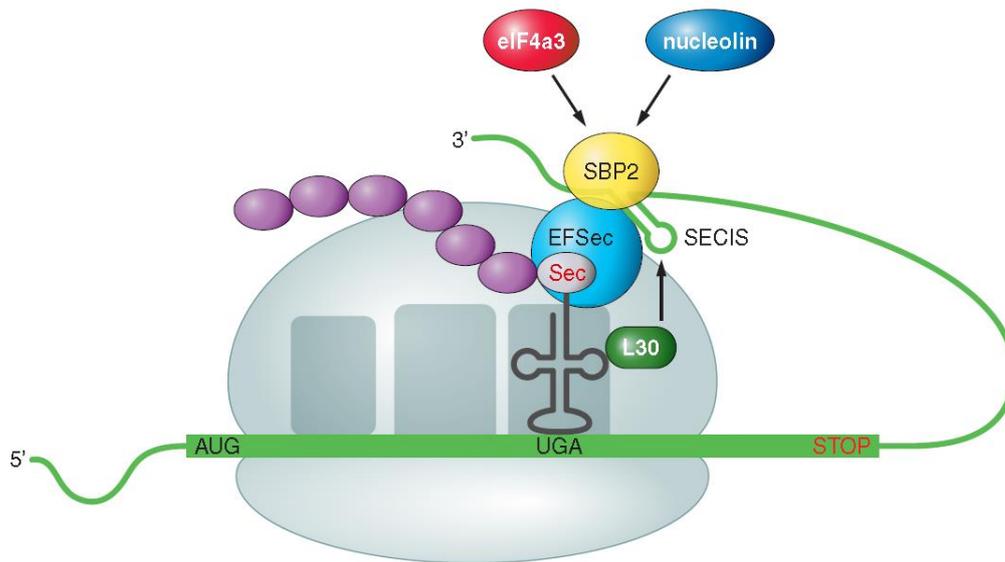


Figura 3: Mecanismo de inserción de la selenocisteína (Sec) en eucariotas

FUENTE: Labunsky et al. (2014).

2.2.1 Regulación de la expresión de las selenoproteínas

La expresión de las selenoproteínas está regulada por la disponibilidad de selenio, sin embargo, esta expresión está sujeta a una **jerarquía**. El concepto de jerarquía implica que cuando el suministro de selenio es insuficiente para soportar la expresión total de todas las selenoproteínas, la síntesis de algunas de ellas se regula más lentamente en comparación a otras que pueden ser expresadas en su totalidad. Un ejemplo de este concepto está dado por la comparación de las actividades de glutatión peroxidasa 1 (Gpx1) y glutatión peroxidasa 4 (Gpx4) en hígado, riñón y corazón. En deficiencia de selenio la actividad de Gpx1 disminuye bruscamente, mientras que la de Gpx4 se mantiene (Sunde 2012). Algunos tejidos y órganos son más efectivos que otros en mantener los niveles de selenio y en sintetizar ciertas selenoproteínas durante la deficiencia de selenio. Este hecho es un indicador de las diferencias en los roles biológicos y en los requerimientos de las diferentes selenoproteínas en los diferentes tejidos. La jerarquía durante deficiencia de selenio revela la importancia de selenoproteínas particulares y a la vez determina la prioridad de los niveles de ARNm y la expresión de proteínas. En estados de deficiencia de selenio, las actividades de muchas selenoproteínas en el riñón, hígado y pulmón disminuyen, mientras que en el cerebro

permanecen en niveles similares a los encontrados durante consumos normales de selenio (Zoidis et al. 2018).

Aun cuando este concepto de jerarquía también involucra a los tejidos, no es posible enlistar a todas las selenoproteínas desde el primer al último lugar, pues las investigaciones en jerarquía han revelado una cierta cantidad de variabilidad, posiblemente relacionada al estudio de diferentes tipos de células y diferentes condiciones fisiológicas. La jerarquía es un fenómeno celular a causa de que cada célula sintetiza sus propias selenoproteínas y para entenderla es necesario considerar la regulación de la síntesis de las selenoproteínas. Definitivamente se ha demostrado que hay dos procesos fisiológicos que definen la jerarquía de las selenoproteínas, evidenciando que el estatus de selenio afecta a la misma. El primero asociado a regulación de los niveles de RNAm de las selenoproteínas y el segundo relacionado a la eficiencia de inserción de la selenocisteína, este último asociado a una inhibición de la lectura del código para selenocisteína (UGA) en algunos RNAm más que en otros (Burk y Hill 2015). Así mismo, se ha demostrado que ciertos estímulos, además de disponibilidad de selenio, tales como estrés oxidativo e hipoxia, alteran la expresión de selenoproteínas, pero aún no se conoce el mecanismo de acción exacto por el cual ejercen ese control (Dubey y Copeland 2016). Por lo tanto existen múltiples niveles en los que se puede afectar la expresión de las selenoproteínas, incluyendo la eficiencia en la traducción, sin embargo, los detalles de los mecanismos involucrados en la regulación aún no son del todo claros (Sunde y Raines 2011).

2.3. SELENOPROTEÍNAS

a. Glutation peroxidasas (1.11.1.9) (Gpxs)

Dentro de este grupo de enzimas tenemos a las Gpxs1, Gpx2, Gpx3 y Gpx4, que son selenoproteínas con un residuo de selenocisteína en el centro catalítico. La Gpx5 contiene una cisteína en el centro activo y se ha caracterizado como una proteína segregada en el epidídimo. La Gpx6 es una selenoproteína solo en humanos. También las Gpx7 y 8 contienen cisteína y muy baja actividad (Brigelius-flohé y Maiorino 2013). Estas enzimas pueden catalizar la reducción de peróxido de hidrógeno e hidroperóxidos lipídicos, utilizando

glutación como un cofactor reductor. Entre las selenoproteínas tenemos a Gpx citosólica (cGpx, Gpx1), Gpx gastrointestinal (Gpx2, GI-Gpx), Gpx plasmática (Gpx3, pGpx), fosfolípido hidroperóxido Gpx (Gpx4, PHGpx) y epitelio olfatorio Gpx (Gpx6). La jerarquía característica en las Gpxs en términos de incorporación de selenio, que depende de su relativa importancia biológica es Gpx2>Gpx4>Gpx3= Gpx1 (Roman et al. 2014).

La Figura 4, esquematiza el modo de acción de estas enzimas. El residuo de selenocisteína es oxidado por el peróxido con la formación de ácido selenénico (Se-OH) en el selenol (Se-H) del sitio activo. Una molécula de glutatión reducido (GSH) reduce el ácido selenénico, conduciendo a la formación de un intermedio selenol glutatiolado (Se-SG). Una segunda molécula de GSH permite la reducción del Se-SG, resultando en la restauración del sitio activo con la formación de glutatión oxidado (GSSG). Para regenerar el GSH a partir del GSSG se requiere la acción de Glutatión reductasa dependiente de NADPH. El reciclaje de NADP⁺/NADPH se produce a través de la reacción catalizada por glucosa-6 fosfato deshidrogenasa en la vía de las pentosas fosfato (Lubos et al. 2011).

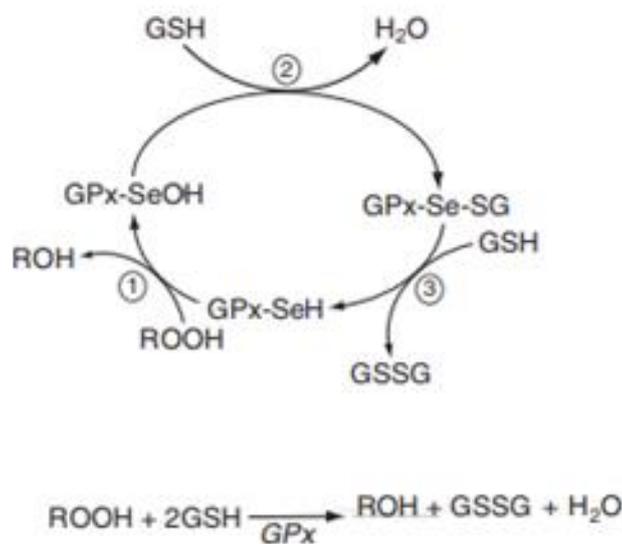


Figura 4: Esquema de la actividad catalítica de glutatión peroxidasa. La secuencia de la reacción se identifica por los números 1, 2 y 3 y la reacción global se escribe en la parte baja de la figura

FUENTE: Lubos et al. (2011).

La **Gpx1** es una enzima tetramérica, de subunidades idénticas, se encuentra tanto en citosol como en mitocondria. La Gpx1 regula el estatus oxidante celular directamente a través de la eliminación de hidroperóxidos y vía de oxidación de glutatión, el mayor tiol de bajo peso molecular en las células. La estructura cristalográfica de la Gpx1 eritrocitaria identifica a los aminoácidos glutamina y triptófano, junto con selenocisteína formando una triada catalítica que es crucial para las interacciones enzima sustrato. Estos residuos son altamente conservados en todas las glutatión peroxidases que contienen selenocisteína (Lubos et al. 2011). Esta enzima utiliza hidroperóxidos libres como sustratos, no puede reducir hidroperóxidos de ácidos grasos esterificados, hasta que estos hayan sido liberados por fosfolipasas. Reacciona con peróxido de hidrógeno e hidroperóxidos de bajo peso molecular como t-butil hidroperóxido, cumene hidroperóxido, hidroperóxidos de ácidos grasos, pero no con lípidos más complejos. Debido a esta capacidad para reducir hidroperóxidos la Gpx1 ha sido denominada como la enzima que contraresta el estrés oxidativo. Ratones que no expresan el gen de Gpx1, desarrollan normalmente, lo cual indica que la carencia en la defensa antioxidante puede ser compensada por otras proteínas o que durante el estrés oxidativo normal no se causa ningún daño. En contraste, un severo estrés oxidativo mata a ratones que no expresan el gen de Gpx1, independientemente de la suplementación con selenio, mientras que ratones que si expresan el gen responden a la suplementación con selenio en estas condiciones de severo estrés oxidativo y sobreviven (Brigelius-flohé y Maiorino 2013).

Estos estudios claramente muestran que la Gpx1 no puede ser reemplazada por ninguna otra selenoproteína, para brindar protección en un estrés oxidativo generalizado y por lo tanto tiene una función primaria antioxidante in vivo. Al parecer es la única Gpx que se encuentra en eritrocitos, en los cuales remueve el peróxido de hidrógeno. La actividad varía considerablemente entre tejidos y entre especies. Como una enzima que contiene selenocisteína, la expresión está sujeta a formas únicas de regulación que envuelven la incorporación de selenio y selenocisteína durante la traducción. Entre todas las Gpx 1, la Gpx hepática es la más sensitiva a suministro de selenio, en comparación a otras selenoproteínas. (Burk y Hill 2010).

La expresión y actividad de Gpx1 en tejidos es más sensitiva a deficiencia dietaria de selenio que otras selenoproteínas. La deficiencia en ratas, resulta en un 90% de pérdida de RNAm de Gpx1 en hígado y 99% en pérdida de actividad. El suministro de selenio en animales deficientes resulta en una restauración rápida de RNAm y de la actividad. Sin embargo, la restauración de la actividad de Gpx1 parece ser saturable en un gran número de animales y células. A causa de la naturaleza sensitiva y saturable de la actividad de Gpx1, se utiliza como un biomarcador de estatus de selenio. Además, la jerarquía baja de esta enzima ha determinado la hipótesis de que la Gpx1 funciona como una especie de buffer, es decir que se comporta como una especie de almacén de selenio en lugar de una importante enzima antioxidante, liberando selenio para mantener la expresión de selenoproteínas esenciales, durante la deficiencia de selenio y guardando el mismo en etapas de abundancia de selenio para evitar la toxicidad del mismo (Lei et al. 2007). Sin embargo, los efectos en la expresión de Gpx1 por deficiencia de selenio no son debidos a alteraciones en la transcripción, sino que se cree que son debidos en parte a una disminución sin sentido del RNAm y/o una supresión de la traducción. El mecanismo exacto aún no es del todo entendido, pero al parecer el selenio limita directamente la traducción al inducir durante su deficiencia a un factor de iniciación que interactúa con el elemento de unión de la selenocisteína, evitando la incorporación de la misma a la proteína (Lubos et al. 2011).

La Gpx2 es una enzima tetramérica, con subunidades iguales, cercanamente relacionada a Gpx1. No se conoce aún la preferencia de sustratos de la enzima. Se expresa en el sistema gastrointestinal, incluyendo el epitelio del esófago y en humanos también en el hígado. Actúa como una barrera contra la absorción de hidroperóxidos que ingresan con la comida y probablemente sea su principal función. Esta enzima sostiene un delicado balance entre proliferación y apoptosis en el epitelio intestinal. Ratones que no expresan el gen de Gpx2, muestran un incremento en la apoptosis del epitelio gastrointestinal y son más susceptibles a inflamación mediada por carcinogénesis y actúa sinérgicamente con Gpx1 en prevención de tumores (Flohé y Brigelius-Flohé 2016). La Gpx2 se encuentra en el lugar más alto de la jerarquía entre las Gpxs, seguida por la Gpx4, Gpx3 y finalmente la Gpx1 (Brigelius-flohé y Maiorino 2013).

La **Gpx3** es una enzima tetramérica, glicosilada. Se encuentra en el plasma y en líquido intersticial. Es la única enzima extracelular de la familia de las glutatión peroxidasas, producida en las células del epitelio tubular proximal y en las células parietales de la cápsula de Bowman del riñón. Parte de la Gpx3 es segregada al plasma, donde constituye aproximadamente 15 a 20% del total de selenio, pero una mayor fracción permanece unida a las membranas basales en riñones. La Gpx3 también se encuentra en varios tejidos, particularmente corazón y glándula tiroidea, en la que puede tener un rol como una fuente local de capacidad antioxidante extracelular (Burk y Hill 2010). Ratones que no expresan el gen de Gpx3 son viables, no muestran un fenotipo característico. La función de Gpx3 como una glutatión peroxidasa no ha sido del todo entendida desde su detección. La posibilidad de responder a daños serios de hidroperóxidos, a pesar de su alta eficiencia antioxidativa, es limitada, debido a que las concentraciones de glutatión en el plasma son muy pequeñas (Brigelius-flohé y Maiorino 2013).

La **Gpx4** es una enzima monomérica a diferencia de las tres anteriores, también conocida como fosfolípido hidroperóxido glutatión peroxidasa. Es la única enzima de la familia de las glutatión peroxidasas que puede utilizar equivalentes reductores obtenidos desde glutatión para reducir los hidroperóxidos lipídicos en la membrana celular (Toppo et al. 2009, Diamond 2015). Se producen tres formas de Gpx4, citosólica, mitocondrial y nuclear, que tienen la misma secuencia y difieren solo en la localización subcelular. La forma nuclear parece participar en la condensación de la cromatina. La Gpx4 mitocondrial participa en la formación de la cápsula mitocondrial de los espermatozoides. La supresión del gen de Gpx4 resulta en letalidad embrionaria. Por lo tanto, considerando lo que se conoce hasta ahora, la Gpx4 es importante en desarrollo embrionario, espermiogénesis y protección contra estrés oxidativo (Burk y Hill 2010).

b. Tioredoxina reductasas (1.8.1.9) (TrxRs)

La enzima TrxR de mamíferos es una piridina dinucleótido disulfuro óxidoreductasa que utiliza el aminoácido selenocisteína en la catálisis de la reducción de la tioredoxina y una variedad de moléculas pequeñas. La figura 5 indica las funciones en las cuales se involucran

a las TrxRs. Son proteínas diméricas, en las que cada monómero incluye un grupo prostético FAD, un sitio de unión para el NADPH. Las TrxRs utilizan NADPH para catalizar la conversión de tioredoxina oxidada a tioredoxina reducida y para reducir las formas oxidadas de ascorbato en ascorbato reducido. La tioredoxina reducida proporciona equivalentes reductores para tioredoxina peroxidasa, las cuales degradan peróxido de hidrógeno a agua, para ribonucleótido reductasa, que a su vez reduce ribonucleótidos a desoxirribonucleótidos para síntesis de ADN y para factores de transcripción, lo cual conduce a su incrementada unión al ADN y alterada transcripción de genes. Adicionalmente las tioredoxinas incrementan el crecimiento celular e inhiben la apoptosis (Mustacich y Powis 2000).

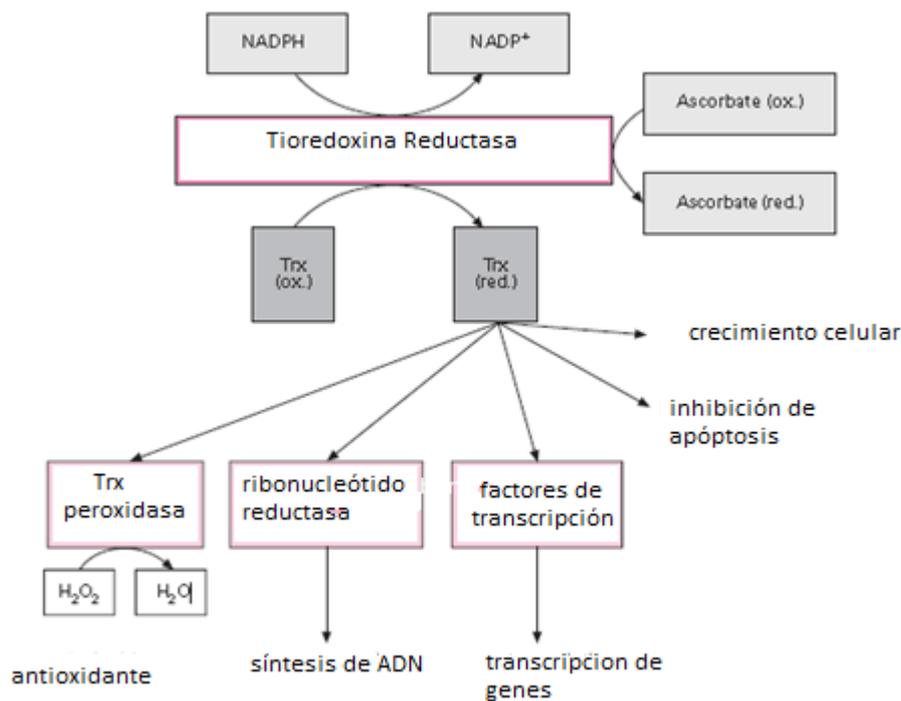


Figura 5: Reacciones de actividad catalítica y funciones de TrxR en la célula

FUENTE: Modificado de Mustacich y Powis (2000).

Son tres TrxRs las que se encuentran en mamíferos. La TrxR1 citosólica, TrxR2 mitocondrial y una específica en el testículo: tioredoxina glutatión reductasa. Las dos subunidades de la enzima participan en la actividad de la enzima de una forma coordinada.

Los electrones son transferidos desde NADPH vía FAD al sitio activo disulfuro de TrxR, el cual entonces reduce al sustrato. La TrxR1 y TrxR2 son esenciales para embriogénesis. La función de la TrxR2 mitocondrial envuelve la protección del estrés oxidativo mitocondrial y apoptosis durante la embriogénesis. La TrxR3 está compuesta de dos subunidades con un dominio adicional de glutaredoxina. Esta enzima es expresada principalmente en células germinales masculinas y se ha sugerido que tiene un rol en la maduración del espermatozoide ya que influye en la formación de uniones disulfuro en proteínas estructurales (Roman et al. 2014). La selenocisteína en la TrxR se ubica en la región carboxilo terminal de la proteína, en el sitio activo en una secuencia de Gly-Cys-Sec-Gly.

c. Iodo Tironina Deiodinasas (1.21.99.4) (DIOs)

Las iodotironina deiodinasas (o triyodotironina deiodinasas) son tres enzimas diméricas, con dos subunidades idénticas. La DIO1 y la DIO3, se encuentran en membrana citosólica, mientras que la DIO2 se encuentra en el retículo endoplasmático. También se ha reportado una localización nuclear de las DIO2 y DIO3. Todas conservan un sitio activo de aproximadamente 15 aminoácidos y entre estos el aminoácido selenocisteína, son oxidoreductasas que participan en el metabolismo de hormonas tiroideas al catalizar la activación (DIO1, DIO2) o inactivación (DIO3) de la tetraiodotironina (T4), triyodotironina (T3) y triyodotironina reversa (rT3) (Figura 6). Estas hormonas tiroideas regulan varios procesos metabólicos como metabolismo de lípidos, termogénesis, crecimiento, que son esenciales para homeostasis, pero también para el desarrollo normal del cerebro fetal. Las tres exhiben diferente distribución en tejidos. La DIO1 se expresa principalmente en hígado, riñón, tiroides y glándula pituitaria. La DIO2 se expresa en tiroides, sistema nervioso central, glándula pituitaria y músculo esquelético. La DIO3 se expresa en tejidos embriogénicos y neonatales, por lo que es considerada una enzima fetal. Se asume que la DIO1 es responsable de los niveles circulantes de T3, mientras que las DIO2 y DIO3 están involucradas en la regulación local de procesos de deiodinación. Sin embargo el rol relativo en estos mecanismos aún no es entendido totalmente y parece variar dependiendo del estatus de selenio y etapas de desarrollo (Roman et al. 2014).

Actualmente está claro que para mamíferos las DIO1 y DIO2 contribuyen a la producción de T3 plasmática, pero su contribución relativa varía entre especies. En ratas el 50% de T3 plasmática deriva de T4 extra tiroidal. En humanos 80% es producida periferalmente, DIO2 podría explicar la mayor producción, en el músculo esquelético. En aves y reptiles probablemente la DIO1 y DIO2 son responsables de los niveles circulantes de T3. Sin embargo, la cantidad circulante de T3 es controlada no solo por su producción, sino también por su degradación y en este proceso DIO3 juega el principal papel. Asimismo, se sugiere que el mayor rol de DIO1 podría ser liberar rT3 e iodotironinas sulfatadas de la circulación y como tal funcionaría como una enzima que remueve iodotironinas inactivas y recicla yodo dentro del organismo (Darras y Herck 2012).

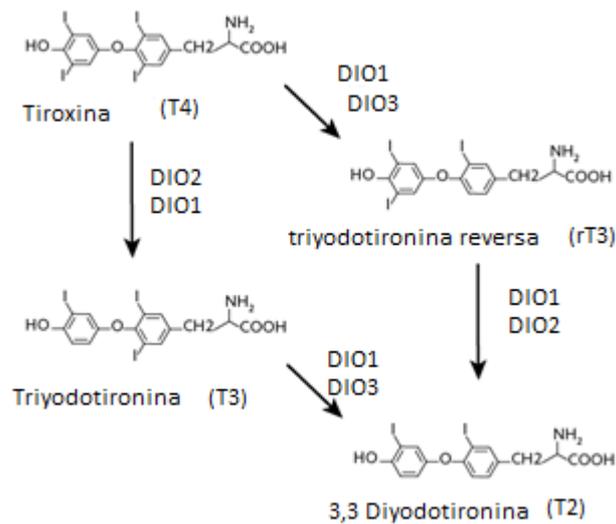


Figura 6: Reacciones catalizadas por las yodotironina deiodinasas

2.4. ESTATUS DE SELENIO

El estatus es un término que se refiere a la cantidad del nutriente biológica o potencialmente activo en el cuerpo. El estatus nutricional se obtiene como producto del consumo, retención y metabolismo del nutriente. El estatus de selenio tiene cuatro componentes: consumo de selenio, selenio en tejidos, excreción y función de selenio. Los biomarcadores de selenio pueden ser de dos tipos, marcadores que proporcionan información indirecta, basada en el

nivel de selenio en el alimento, tejidos, orina o heces. Estos indicadores pueden indicar cantidad de selenio potencialmente disponible para uso funcional, la probabilidad de deficiencia o la probabilidad de efectos adversos de selenio, pero no evidencia directa de estos estados. El segundo tipo de biomarcadores de selenio está asociado a aquellos que proporcionan información directamente de la función, por ejemplo actividad o concentración de enzimas (Combs 2015). Al respecto, Sunde y Raines (2011), distinguen tres tipos de biomarcadores de estatus de selenio: moleculares, bioquímicos y químicos. Un biomarcador molecular puede ser un transcrito de ARNm, un biomarcador bioquímico la actividad o concentración de una enzima y un marcador químico la concentración de un elemento, vitamina o metabolito.

Concentraciones de selenio en suero o plasma, reflejan el nivel actual de suplementación y son más sensibles a cambios en administración de selenio en periodos cortos de tiempo en comparación a concentraciones de selenio en sangre, que refleja el estatus de un período más largo de tiempo a causa de que el selenio es incorporado en los eritrocitos (en Gpx) durante su formación (eritropoyesis). La sangre total responde lentamente a cambios en la suplementación, con suplementación se incrementa más lentamente, sin suplementación, disminuye más lentamente. Sin embargo, siempre la concentración de selenio en sangre o suero será influenciada por el contenido de selenio en la dieta y la forma de selenio recibida. Además, el contenido de selenio en sangre también difiere dependiendo de la edad y especie animal y área geográfica, la cual está relacionada al contenido de selenio en el suelo y por lo tanto en las plantas (Hosnedlova et al. 2017).

Respecto a los biomarcadores asociados a función de selenio, las mejor entendidas y más estudiadas son las selenoproteínas: glutatión peroxidasa, tioredoxina reductasa, iodotironina deiodinasa y selenoproteína P. En principio la medida de cualquiera de estas selenoproteínas podría brindar información inmediatamente relevante sobre la función fisiológica de selenio como un nutriente esencial. Las que se han utilizado con mayor frecuencia en estudios animales son las Gpx1 y Gpx3., las TrxRs y DIOs (Combs 2015). La jerarquía en estas selenoproteínas indica que son susceptibles a deficiencia de selenio dietario y que la Gpx1 y Gpx3 son menos jerárquicas que las DIOs y estas a su vez menos jerárquicas que las TrxRs (Schomburg y Schweizer 2009). Sin embargo, se debe tener

especial cuidado en la interpretación y comparación entre estudios de los resultados al medir la actividad de estas selenoproteínas. Por ejemplo, la medida de actividad de Gpx en sangre es un útil biomarcador de estatus de selenio, pero se puede encontrar sustancial heterogeneidad en diversas publicaciones, esto debido al uso de varias unidades de medida y en particular por una amplia variedad de métodos analíticos utilizados, por esta razón usualmente los datos en la literatura no pueden ser comparados. Aproximadamente 98% de la actividad de glutatión peroxidasa en sangre está asociada a eritrocitos y cerca del 73% del selenio en sangre está contenido en componentes celulares de la sangre (Hosnedlova et al. 2017).

2.5. SELENIO EN CUYES

Un nivel dietario de selenio de 0,15 mg/kg ha sido recomendado para cuyes, pero basado en concentraciones establecidas para ratas (National Research Council 1995). Sin embargo, Chaudhary et al. (2010), después de hacer una determinación del efecto de la suplementación de 0,1, 0,2, 0,3 y 0,4 mSe/Kg de alimento de selenio orgánico, en cuyes crecimiento, recomiendan un nivel mayor o igual a 0,2mg Se/kg de alimento, los autores mencionan que la utilización de este nivel permitió un incremento en la tasa de crecimiento y una mejora en la utilización de proteína. Posteriormente, Chaudhary et al. (2012), utilizando los mismos niveles de selenio dietarios que Chaudhary et al. (2010), indica que la suplementación con selenito de sodio para alcanzar un nivel de 0,2mg Se/kg, no produjo mejoras en el crecimiento ni utilización de nutrientes.

Al respecto, Mullo (2009), después de suministrar a cuyes en crecimiento que recibían una ración comercial, 0,1, 0,2 y 0,3 mgSe/kg en forma de selenio orgánico suplementario, recomienda el empleo de 0.1ppm de selenio orgánico (como suplemento), aun cuando no se observaron mejores ganancias de peso, considerando que se obtendría una mayor rentabilidad en comparación con los otros niveles suministrados. Al respecto, Jensen y Pallauf (2008), después de estimar los requerimientos de selenio en cuyes en etapa de crecimiento, suministrando niveles de 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 y 0,25 mgSe/kg de dieta en forma de selenato de sodio, indicaron que no se encontraron diferencias significativas en

ganancia de peso ni conversión alimenticia entre los animales de los diferentes grupos al final del experimento, pero se tomaron en cuenta marcadores funcionales como actividad de glutatión peroxidasa en corazón y de tioredoxina reductasa en riñón, para recomendar el empleo de un nivel de 0,08 mg de selenio por kilogramo de alimento, para cubrir los requerimientos de cuyes en crecimiento.

Los autores Jensen y Pallauf (2008), Mullo (2009), Chaudary *et al.* (2010) y Chaudhary *et al.* (2012), recomiendan niveles de selenio dietario entre 0,08 y 0,2mg Se/kg de alimento, para cuyes en crecimiento, considerando fuentes orgánicas y/o inorgánicas., pero solo Chaudary *et al.* (2010), indica que la utilización del nivel de 0,2 mg Se/kg como selenio orgánico, permitió un incremento en la tasa de crecimiento y una mejora en la utilización de proteína. Así mismo, Mullo (2009), menciona que en otras etapas no es recomendable la suplementación con selenio, pues además de no mejorar parámetros evaluados, afecta la vitalidad de crías lactantes y la rentabilidad. Sin embargo, la autora menciona que los niveles empleados de proteína en las raciones fueron bajos (14% para crecimiento y 16% para gestación-lactancia) y pudieron repercutir en los resultados obtenidos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

La prueba con animales se realizó entre los meses de abril a junio del año 2018, en la Granja de Animales Menores, perteneciente al Programa de Investigación y Proyección Social en Animales Menores de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Los análisis de selenoproteínas se realizaron entre los meses de junio a octubre del mismo año en el Laboratorio de Bioanálisis y Química Biológica del Departamento de Química y el Laboratorio de Micología y Biotecnología “Marcel Gutierrez Correa”, ambos de la facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

El análisis proximal de la dieta fue realizado por el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la Universidad Nacional Agraria “La Molina”. Los análisis de selenio total en alimento, sangre, músculo y cuerpo fueron realizados por la empresa Intertek Testing services Perú (A.O.A.C. 2006).

La temperatura y humedad relativa fueron anotadas diariamente con un termohigrómetro colocado cerca de las jaulas de los animales. Durante el período experimental la temperatura mínima fue de 18,3 °C y la máxima de 24 °C, la humedad relativa mínima fue 64,3 % y la máxima 78,7%.

3.2 TRATAMIENTOS

El experimento se realizó con tres tratamientos.

- Tratamiento 1 (T1), control, dieta basal, con un contenido de 0,1 mg de selenio/kg de alimento.

- Tratamiento 2 (T2) constituido por la dieta basal y adición de selenio levadura (0,07 mg Se/ kg) de tal forma que el alimento alcanzó una concentración de 0,17 mg de selenio/kg.
- Tratamiento 3 (T3) constituido por la dieta basal y adición de selenio levadura (0,14 mg Se/ kg) de tal forma que el alimento alcanzó una concentración de 0,24 mg de selenio/kg.

3.3 ANIMALES

Se utilizaron 33 cuyes machos de la granja de Cieneguilla, destetados de 12 días de edad, con peso promedio de 258 ± 35 g. El período de adaptación tuvo una duración de 14 días, durante esta etapa, los animales fueron alojados en 3 pozas de cemento (11 animales en cada una) y recibieron el alimento sin suplemento de selenio y agua envasada La Molina. Al término de este período, los animales fueron distribuidos al azar en los tratamientos, colocándose en sus respectivas jaulas individuales (Figura 7), utilizando la técnica del muestreo estratificado (Otzen y Manterola 2017). En las jaulas individuales contaron con comedero tipo tolva y bebedero automático. Los animales tuvieron libre acceso al alimento correspondiente y al agua. Las bandejas colectoras de heces y orina se limpiaron diariamente. Al finalizar la quinta semana en las jaulas, fueron sacrificados y se procedió a tomar muestras para hacer las mediciones.



Figura 7: Jaulas utilizadas para alojar a los animales durante el período experimental

3.4. ALIMENTACIÓN

La dieta basal se preparó como con adición de vitamina C, de manera que no fue necesario proporcionar forraje a los animales. El alimento para cada tratamiento se preparó en la Planta de Alimentos del Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Los insumos fueron pesados en una balanza digital (precisión 0,01 g). Inicialmente se preparó el alimento sin premezcla de vitaminas y minerales y se dividió en tres partes iguales. A cada una de estas partes se le agregó la premezcla de vitaminas y minerales correspondiente, se mezcló y separó en sacos diferenciados para obtener pellets de 4,5mm de diámetro y 12mm de longitud. En la Tabla 1 se indica la composición porcentual de la dieta basal, en la Tabla 2 el valor nutricional calculado de los alimentos utilizados para cada tratamiento, en la Tabla 3 la composición de las premezclas y en la Tabla 4 el análisis proximal de la dieta basal (A.O.A.C 2005). Este último fue realizado por el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) del Departamento Académico de Nutrición de la Facultad de Zootecnia, de la UNALM.

La Tabla 5 indica los contenidos de selenio logrados en cada alimento utilizado en cada tratamiento. Para la obtención de las muestras a analizar se tomaron en cuenta las consideraciones mencionadas por Wong (2016). El contenido analizado en el alimento fue el esperado de acuerdo a la cantidad de selenio agregada. La fuente de selenio utilizada fue una levadura selenizada (Anexo Ia) y se agregó en cantidad necesaria a cada premezcla de vitaminas y minerales. Las premezclas fueron preparadas en la planta de producción de premezclas de Montana S.A., situada en Santa Anita. Durante toda la etapa experimental se les proporcionó agua envasada La Molina, la misma que fue colocada en los envases que abastecían los bebederos y cuyo contenido de selenio fue menor al límite de detección (0,018 mg/Kg).

Tabla 1: Composición porcentual de la dieta basal (tal como ofrecido)

Componentes (por ciento)	
Almidón	22,00
Maíz molido	32,00
Aceite de girasol	5,00
Harina de alfalfa	18,00
Caseinato de calcio	14,00
Celulosa solka floc	4,93
Carbonato de calcio	0,20
Fosfato monobásico de calcio	1,60
Arginina	0,60
Premezcla sin selenio	0,10
Anti micótico ^a	0,20
Anti oxidante ^b	0,20
Vitamina C ^c	0,07
Cloruro de colina	0,10
Sal común	1,00
Total	100,00

^a Zoamicost

^b Antoxplus

^c Rovimix (ácido ascórbico mínimo 35%)

Tabla 2: Valor nutricional calculado de los alimentos utilizados

Nutrientes	TRATAMIENTOS		
	T1	T2	T3
Energía digestible cuyes, Mcal/kg	3 181	3 181	3 181
Proteína, %	17,64	17,64	17,64
Fibra, %	9,78	9,78	9,78
Calcio, %	0,80	0,80	0,80
Fósforo total, %	0,40	0,40	0,40
Sodio, %	0,20	0,20	0,20
Metionina, %	0,60	0,60	0,60
Treonina, %	0,60	0,60	0,60
Lisina, %	1,20	1,20	1,20
Arginina, %	1,20	1,20	1,20
Ácido ascórbico, mg/100g	24,50	24,50	24,50
Selenio, mg/kg	0,10	0,17	0,24

Tabla 3: Composición de las premezclas

TRATAMIENTOS				
Elemento	Unidades	T1	T2	T3
Vitamina A	UI	5 000 000,000	5 000 000,000	5 000 000,000
Vitamina D	UI	650 000,000	650 000,000	650 000,000
Vitamina E	UI	15 000,000	15 000,000	15 000,000
Vitamina B1 (tiamina)	g	1,000	1,000	1,000
Vitamina B12 (cianocobalamina)	g	0,006	0,006	0,006
Vitamina B2 (riboflavina)	g	2,000	2,000	2,000
Vitamina B3 (niacina)	g	15,000	15,000	15,000
Vitamina B5 (ácido pantoténico)	g	6,000	6,000	6,000
Vitamina B6 (piridoxina)	g	1,500	1,500	1,500
Vitamina B9 (ácido fólico)	g	0,500	0,500	0,500
Vitamina H (Biotina)	g	0,050	0,050	0,050
Vitamina K3	g	1,500	1,500	1,500
Cobre	g	5,000	5,000	5,000
Hierro	g	25,000	25,000	25,000
Manganeso	g	50,000	50,000	50,000
Yodo	g	0,500	0,500	0,500
Zinc	g	50,000	50,000	50,000
Antioxidante veterinario	g	20,000	20,000	20,000
Selenio levadura*	g	0	33,050	66,100
Excipientes csp	kg	0,500	0,500	0,500

*Selplex (1 059 mg Se/kg)

FUENTE: Montana SA

Tabla 4: Análisis proximal de la dieta basal

Componentes	Porcentaje
Humedad	10,41
Proteína total	16,67
Extracto etéreo	2,91
Fibra cruda	5,06
Ceniza	5,42
Extracto libre de nitrógeno	59,53

FUENTE: Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos de la Facultad de Zootecnia. UNALM

Tabla 5: Contenido de selenio en los alimentos utilizados (mg/kg)

Tratamientos	Selenio estimado mg/Kg (tal como ofrecido)	Selenio analizado mg/Kg (tal como ofrecido) *
T1	0,1	0,103 ± 0,0083
T2	0,17	0,170 ± 0,007
T3	0,24	0,243 ± 0,014

FUENTE: Intertek Perú (A.O.A.C. 2006)

*Valores promedio ±SD. n=3

3.5 MEDICIONES

3.5.1 Ganancia de peso y consumo

Cada animal recibió en forma individual el alimento correspondiente y el residuo se pesó diariamente en una balanza digital (precisión 0,1 g). Los animales se pesaron cada siete días a las 8 am (previo al suministro de alimento) en una balanza digital (precisión 0,1 g), durante las cinco semanas que permanecieron en las jaulas.

3.5.2 Análisis de laboratorio

a. Toma de Muestras

Los animales fueron adormecidos con cloroformo en una cabina y una vez dormidos se les tomó muestras de sangre a través de una punción al corazón. Seguidamente, se procedió con una dislocación cervical. Una vez muertos, se procedió a tomar muestras de hígado, riñón y músculo (Nogales et al. 2013, Behne et al. 2009).

Se colectaron dos muestras de aproximadamente 2ml de sangre por animal, en tubos heparinizados, una para análisis de contenido de selenio y la otra para determinación de actividad de glutatión peroxidasa. Para la determinación de contenido de selenio, las muestras fueron refrigeradas a 4 °C y transportadas a Intertek para su análisis. Para la determinación de actividad de glutatión peroxidasa en plasma, las muestras fueron inmediatamente centrifugadas a 1000 g a 4 °C por 20 minutos (Bertinato et al. 2007). Las muestras de plasma así obtenidas, fueron separadas de los componentes celulares en viales criogénicos y almacenadas a -80 °C para su posterior análisis. Los componentes celulares se diluyeron con agua destilada en proporción de 1:4 y se centrifugaron a 4 500 g por 15 min (Pleban et al. 1982), el hemolizado obtenido se almacenó en crioviales a -80 °C hasta su análisis.

Se aislaron el lóbulo hepático, riñón y cuádriceps femoral derecho de cada animal. Se sumergieron en ClNa 0,9% para remover sangre residual y seguidamente se guardaron en viales criogénicos. Las muestras de hígado y riñón se almacenaron a -80 °C para su posterior análisis (Jensen y Pallauf 2008).

El cuerpo (en bolsas selladas) y la muestra de tejido muscular de cada animal (cuádriceps femoral), fueron congeladas a 4 °C e inmediatamente transportadas a Intertek para el análisis de selenio.

b. Determinación de Selenoproteínas

Preparación de homogeneizados de hígado y riñón

Para preparar los homogeneizados de hígado y riñón para la determinación de actividad enzimática de glutatión peroxidasa, se descongelaron las muestras sobre hielo, una vez descongeladas, se pesó 0.5 g de tejido al cual se agregó 4ml de buffer triz 20 mM, de pH 7,4 conteniendo 0,25 moles por litro de sacarosa. Se utilizó un homogeneizador de vidrio tipo Potter-Elvehjem. El homogeneizado se centrifugó a 10 000 g por 15 minutos a 4 °C (Lei et al. 1995), el sobrenadante se separó y procedió inmediatamente a realizar las medidas respectivas de actividad enzimática y concentración de proteínas.

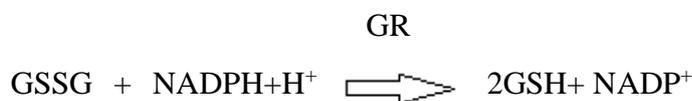
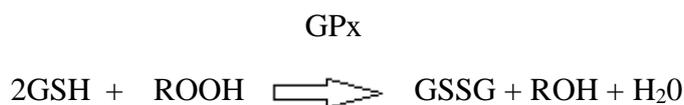
El homogeneizado para la determinación de actividad de tioredoxina reductasa en hígado se preparó descongelando el tejido sobre hielo, se pesó 0,5 g de hígado, se agregó 4 ml de buffer fosfato 100 mM de pH 7, EDTA 10 mM, conteniendo inhibidor de proteasa sigma (número de catálogo P8340), se utilizó un homogeneizador de vidrio tipo Potter-Elvehjem, el homogeneizado se centrifugó a 10 000 g por 15 minutos a 4 °C (adaptado de Lei et al. 1995, Arnér et al. 1999, Hill et al. 1997).

Para la preparación de los homogeneizados de hígado para la determinación de iodotironina deiodinasa tipo I, se descongeló el tejido sobre hielo, se pesó 0,5 g de tejido al cual se agregó 4ml de buffer fosfato 10 mM de pH 7,4, conteniendo 137 mM Cl_2Ca y 2,7 mM ClK . se homogeneizó en un homogeneizador de vidrio tipo Potter-Elvehjem, centrifugándose a 10000g por 15 minutos a 4 °C (adaptado de Cammack et al. 1995).

Actividad de glutatión peroxidasa

La actividad de glutatión peroxidasa dependiente de selenio, fue determinada utilizando un kit comercial de Sigma Aldrich (número de catálogo CGP1), el mismo que utiliza una determinación indirecta, basada en la oxidación de glutatión catalizada por la enzima

glutación peroxidasa y la regeneración de glutación reducido (GSH), utilizando glutación reductasa (GR) y nicotinamida dinucleótido fosfato reducido (NADPH).



La formación de GSH es monitoreada mediante la disminución en absorbancia a 340nm producida por el consumo de NADPH a 25 °C. La diferencia en el consumo de NADPH entre el blanco y la muestra determinan la actividad enzimática de glutación peroxidasa. Se utilizó un espectrofotómetro Genesys 10s UV- Visible con Peltier, el mismo que permitió medir la disminución en absorbancia a través de un programa cinético. Una unidad de glutación peroxidasa causa la formación de 1 umol de NADP⁺ a partir de NADPH por minuto a 25 °C (Lawrence y Burk 1976).

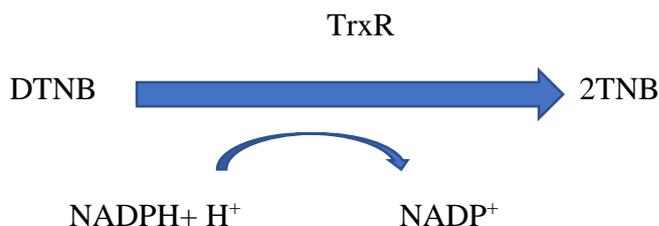
Para la determinación de actividad de glutación peroxidasa dependiente de selenio en plasma y hemolizado se utilizó como sustrato el hidroperóxido de terc-butilo y buffer Triz de pH 8. Para la determinación de actividad de glutación peroxidasa dependiente de selenio en hígado y riñón se utilizaron los sobrenadantes respectivos de cada homogeneizado y H₂O₂ como sustrato. En este caso se inhibió la actividad de catalasa al agregar NaN₃ 1mM. Asimismo, el pH del buffer fue ajustado a 7 con HCl ya que a un pH mayor a 7 podría haber una reacción espontánea entre el peróxido de hidrógeno con el glutación reducido (Lawrence y Burk 1978).

La actividad de glutación peroxidasa en plasma hígado y riñón se expresó en términos de actividad específica (unidades de enzima por miligramo de proteína), para lo cual se determinó la concentración de proteína en las muestras empleando el método de Biuret, utilizando albúmina sérica bovina como estándar (Anexo II) (Peters, Biamonte y Doumas 1982). Para expresar la actividad de Glutación peroxidasa en eritrocitos se hizo la determinación de hemoglobina en el Laboratorio de Química Biológica y Bioanálisis del

Departamento de Química de la Universidad Nacional Agraria La Molina, mediante el kit de la empresa Valtek Diagnostics (181122).

Actividad de tioredoxina reductasa

La actividad de Tiorredoxina Reductasa (TrxR) fue determinada utilizando un kit comercial de Sigma Aldrich (número de catálogo CS0170), basado en la reducción de 5,5'-Di Tiobis (2- Nitro Benzoico (DTNB) al ácido 5- Tionitro Benzoico (TNB) a expensas de la oxidación de NADPH. El TNB es de color amarillo y se puede medir a 412 nm. Se utilizó un espectrofotómetro Genesys 10s UV- Visible con Peltier, el mismo que permitió medir la absorbancia a través de un programa cinético. Una unidad de tioredoxina reductasa es equivalente a una micromol de DTNB oxidado por minuto, cuando se mide a 412 nm, 25 °C y pH 7 (Hill et al. 1997).



La actividad de tioredoxina reductasa en hígado se expresó en términos de actividad específica (unidades de enzima por miligramo de proteína). La concentración de proteínas en las muestras, se determinó empleando el método de Biuret, (Peters, Biamonte y Doumas 1982) (curva estándar, anexo II).

Determinación de Iodotironina deiodinasa tipo I

La determinación de Iodotironina Deiodinasa tipo I (DIO1) se realizó mediante un kit comercial de MyBiosource (número de catálogo MBS064571). La determinación se basa en

una técnica de Elisa Sandwich que permite determinar el nivel de deiodinasa tipo I en la muestra de homogeneizado de hígado. La cantidad de iodotironina deiodinasa tipo I se expresó en picogramos por miligramo de proteína. Para el análisis se utilizó un espectrofotómetro para microplacas Epoch 2 de Biotek. La curva estándar preparada y utilizada para este análisis se presenta en el Anexo III.

c. Determinación de contenido de selenio

Los análisis de selenio en alimento, sangre, músculo y cuerpo, se realizaron en Intertek Testing Services Peru, utilizando un espectroscopio de absorción atómica (AAS), marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 400 y Sistema de Análisis por Flujo de Inyección (FIAS) para AAS, marca Perkin Elmer, modelo FIAS 100 (A.O.A.C. 2006).

3.6. DISEÑO ESTADÍSTICO

Se utilizó un Diseño Completamente Randomizado con 3 tratamientos y 11 réplicas por tratamiento, para determinar el efecto de la suplementación con selenio sobre ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, contenido de selenio y las diferentes selenoproteínas, en la etapa de crecimiento de cuyes, descrito por (Kuehl 2001).

El análisis de varianza de los datos se realizó con el programa Statistical Analysis System (SAS 2002) y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey (Kuehl 2001).

El modelo aditivo lineal fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ij} = observación experimental.

μ = media general.

α_i = efecto del i-ésimo tratamiento

ϵ_{ij} = efecto de la j-ésima unidad experimental a la que se aplicó el i-ésimo tratamiento (error experimental)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. GANANCIA DE PESO, CONSUMO Y CONVERSIÓN ALIMENTICIA

La Tabla 6 muestra los resultados obtenidos para ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia. No se encontraron diferencias ($p > 0,05$) entre tratamientos. Los resultados obtenidos para ganancia de peso y conversión alimenticia son similares o mejores a los reportados en otros trabajos en cuyes en crecimiento de la granja de Cieneguilla y de otras granjas (Reynaga 2018, Bernaola 2018, García 2017, Huamaní 2015, Carbajal 2015, Condori 2014, Nakandakari 2013, Vignale 2010), de manera que las dietas empleadas permitieron un crecimiento acorde a lo esperado para cuyes en crecimiento.

Estos resultados coinciden con los reportados por Jensen y Pallauf (2008), quienes no encontraron diferencias significativas en consumo, ganancia de peso y conversión alimenticia en cuyes en crecimiento, que recibieron por 10 semanas, dietas con diferentes niveles de selenio en forma de selenato de sodio (basal < 0,02, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 y 0,25 mg Se/kg alimento). Asimismo, Chaudhary et al. (2012), utilizando dietas con 0,1, 0,2, 0,3 y 0,4 mg Se/kg, (como selenito de sodio), no encontraron diferencias significativas en ganancia de peso y consumo de alimento. Igualmente, en cuyes en crecimiento que recibieron selenio orgánico suplementario en niveles de 0,1, 0,2 y 0,3 mg Se/kg, tampoco se encontraron diferencias en consumo, ganancia y conversión alimenticia (Mullo 2009). Sin embargo, Chaudhary et al. (2010) al proporcionar a cuyes en crecimiento, durante 10 semanas dietas con cuatro diferentes niveles de selenio (0,1, 0,2, 0,3 y 0,4 mg Se/kg alimento) como selenio orgánico (selenio levadura), no encontraron diferencias significativas en consumo de alimento y conversión alimenticia entre tratamientos, pero las ganancias de peso promedio total y diarias, fueron significativamente más altas en los grupos que recibieron 0,2 y 0,3 mg Se/kg comparadas al grupo control (0,1 mg Se/kg).

Tabla 6: Ganancia de peso, consumo y conversión alimenticia de los animales

	T1 0,1 mgSe/kg	T2 0,17 mgSe/kg	T3 0,24 mgSe/kg
Peso inicial promedio g (edad:26días)	406,3 ^a ±38,6	404,0 ^a ±38,1	408,9 ^a ±37,4
Peso final promedio g (edad: 61días)	902,0 ^a ±163,2	942,5 ^a ±174,9	859,1 ^a ±150,7
Ganancia de peso total por animal g	495,7 ^a ±151,3	538,4 ^a ±162,1	450,2 ^a ±151,2
Ganancia de peso diaria por animal g	14,6 ^a ±4,4	15,8 ^a ±4,8	13,2 ^a ±4,4
Consumo total por animal g	1394,9 ^a ±267,6	1569,7 ^a ±306,7	1317,5 ^a ±255,2
Consumo diario por animal g	41,0 ^a ±7,9	46,2 ^a ±9,0	38,7 ^a ±7,5
Conversión Alimenticia	2,8 ^a ±0,6	2,9 ^a ±0,8	2,9 ^a ±1,8

Valores promedio± SD, n = 11

^a Promedios con letras iguales en las filas indican que no existen diferencias estadísticas (P>0,05)

Resultados en otras especies, muestran una tendencia similar, es decir se observan diferencias significativas entre animales que reciben dietas con diferentes niveles de selenio dietario solo en el caso que entre las dietas utilizadas se encuentren aquellas sin selenio o con niveles menores o iguales a 0.01 mg Se/kg. Entre estas especies podemos encontrar, ovinos (Kumar et al. 2008), pavos (Fischer et al. 2008, Taylor y Sunde 2016, Taylor et al. 2018), pollos (Bakhshalinejad et al. 2017, Liu et al. 2015, Boostani et al. 2015, Wang y Xu 2008, Wang et al. 2016, Choct et al. 2010) y terneros (Wichtel et al. 1996).

En términos generales, puede afirmarse que, a diferencia de estudios iniciales con selenio, los requerimientos actuales, tomando en cuenta solo crecimiento o prevención de enfermedades, son menores a 0,01 mgSe/kg dieta, pues se utilizan crías de madres alimentadas con dietas que contienen un adecuado suministro de selenio, suplementadas con vitamina E y aminoácidos azufrados. Sin embargo, los requerimientos de selenio obtenidos con marcadores bioquímicos son más altos que los requerimientos basados en prevención de

enfermedades o mantenimiento del crecimiento (Sunde y Raines, 2011). Por lo tanto, la respuesta a diferentes niveles selenio dietario, depende del estatus inicial del mismo (bajo o alto) y el crecimiento puede ser influenciado indirectamente por la deficiencia de selenio. Asimismo, los diferentes efectos de selenio sobre el rendimiento animal podrían estar relacionados al alimento, medio ambiente, nivel, si cubre o no el requerimiento y fuente de selenio (Mehdi y Dufrasn 2016). Adicionalmente, las condiciones de producción podrían afectar, es decir, si se trata de un experimento en el cual la temperatura, humedad y patógenos medio ambientales, son estrictamente controlados (es decir, condiciones experimentales donde hay poco o nada de estrés), o condiciones de campo, en las que siempre los requerimientos deberían ser mayores a causa de los mayores factores de estrés (Han et al. 2018).

4.2. SELENOPROTEÍNAS

4.2.1 Actividad de glutatión peroxidasa

La Tabla 7 muestra la actividad de glutatión peroxidasa (Gpx) dependiente de selenio en plasma, eritrocitos, hígado y riñón. No se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$) entre tratamientos en actividad de Gpx en plasma (glutatión peroxidasa 3), Gpx en hígado (glutatión peroxidasa 1), Gpx en riñón (glutatión peroxidasa 1). La actividad de glutatión peroxidasa en eritrocitos fue significativamente mayor ($P<0,01$) para los Tratamientos 2 y 3 con respecto al 1, pero no se encontraron diferencias entre los Tratamientos 2 y 3 ($P>0,05$).

Aunque la medida de actividad de glutatión peroxidasa es un biomarcador útil del estatus de selenio, existe diversidad en varias publicaciones y variabilidad considerable en los valores inclusive dentro de una misma especie. Esto debido al uso de varias unidades de medida y en particular a la variedad de métodos analíticos utilizados. Por esta razón, los datos en la literatura usualmente no pueden ser comparados (Hosnedlova et al. 2017). Aunque no se puede comparar valores de actividad de Gpx entre publicaciones, si es notorio que existe una respuesta similar entre especies, es decir la actividad se incrementa en respuesta a la suplementación de selenio, en comparación a dietas deficientes del mismo. Este incremento es notorio hasta alcanzar una meseta, en actividades de Gpxs dependientes de selenio en

hígado, riñón y plasma en pavos, pollos, ratas, ratones y ovinos (Sunde et al. 2016).

Tabla 7: Actividad de Glutación peroxidasa en plasma, eritrocitos, hígado y riñón

	T1 0,1 mg Se/kg	T2 0,17 mg Se/kg	T3 0,24 mg Se/kg
Actividad Gpx Plasma* mU/mg	44,9 ^a ± 13,4	40,3 ^a ± 13,5	39,5 ^a ± 7,0
Actividad Gpx eritrocitos** mU/mg	222,9 ^b ± 14,1	273,3 ^a ± 50,2	275,6 ^a ± 22,5
Actividad Gpx Hígado* mU/mg	21,7 ^a ± 3,0	22,7 ^a ± 3,9	22,5 ^a ± 4,1
Actividad Gpx Riñón* mU/mg	52,9 ^a ± 8,7	55,7 ^a ± 9,5	57,1 ^a ± 7,7

*Valores promedio ± SD, n = 11

**Valores promedio ± SD, n = 7

^{a,b} Promedios con letras diferentes en las filas expresan diferencias altamente significativas (P < 0,01)

Unidad es 1umol NADPH oxidado/min-mg proteína

Resultados similares a los reportados en el presente trabajo obtuvieron Gu et al. (1998), en cuyes en crecimiento, que recibieron diferentes niveles de selenio dietario en forma de selenometionina (0,7, 1,2, 1,7, 2,7, 4,7, 6,7 y 8,7 mgSe/kg) no encontrando diferencias significativas en la actividad de glutatión peroxidasa en hígado, riñón y plasma y reportando tan solo diferencias significativas a un nivel de suplementación (2,7 mg Se/Kg) para glutatión peroxidasa en eritrocitos. Asimismo, Jensen y Pallauf (2008), con el objetivo de determinar el requerimiento de selenio, probaron en cuyes en crecimiento dietas conteniendo 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,20 y 0,25 mgSe/kg, observando diferencias significativas para actividad de glutatión peroxidasa en plasma, hígado y riñón solo entre las dietas sin selenio 0 mgSe/kg y aquella conteniendo 0,05 mgSe/kg., esta última y las otras dietas con mayores contenidos de selenio permitieron un comportamiento similar para la actividad de las enzimas antes mencionadas. Al respecto, cuyes en crecimiento que recibieron dietas con diferentes niveles

de selenio en forma de selenato de sodio (deficiente < 0,02; 0,05 y 0,2 mg Se/kg) no presentaron diferencias significativas ($P>0,05$) entre dietas, para actividad de glutatión peroxidasa en plasma, pero si ($P<0,05$) para actividad de glutatión peroxidasa en hígado y solo entre los niveles 0,02 y 0,05 mgSe/kg de dieta (Bertinato et al. 2007).

Asimismo, en cuyes alimentados con dietas deficientes en selenio (0 mgSe/kg dieta) y suplementados con selenato de sodio (0,5 mgSe/kg dieta) se observaron diferencias significativas en actividad de Gpx en hígado (Hill et al. 2009) y en plasma ($P<0,05$) (Hill et al. 2001). Sin embargo Sirota, (2010), no encontró diferencias significativas en Gpx en hígado en cuyes recibiendo una dieta no deficiente en selenio y suplementada a dos niveles (0,012 y 0,025mg Se/kg de dieta como selenio levadura) pero si para actividad de Gpx de riñón, la misma que fue menor para los animales suplementados con selenio ($P<0,05$).

En el presente experimento, no se observaron diferencias entre tratamientos en la actividad de las enzimas glutatión peroxidadas en plasma, hígado y riñón por que el nivel de selenio del Tratamiento 1 (0,1 mgSe/kg alimento) aparentemente, permite que alcancen su máxima actividad. En estudios anteriormente citados para cuyes se observa efecto significativo en respuesta a la suplementación solamente al comparar raciones sin selenio con aquellas suplementadas (Burk et al. 1981, Hill et al. 2001, Hill et al. 2009). Al respecto, en un meta-análisis de 15 artículos científicos, acerca del efecto de la suplementación con selenio sobre la actividad de Gpx en distintas especies como ratas y aves, se pudo observar que cuando se parte de una dieta basal con aporte normal de selenio no hay efecto de la suplementación sobre la actividad de la Gpx, probablemente debido a que con el aporte normal de selenio se obtiene una mejor estabilidad oxidativa y no hay mayor necesidad de síntesis de la enzima antioxidante. Sin embargo, cuando se parte de una dieta deficiente en selenio, se ve claramente el efecto de la suplementación de la dieta sobre la actividad de glutatión peroxidasa (Alberro 2013). Resultados en este mismo sentido son reportados para para caballos (Calamari et al. 2009), para ovinos (Humann-ziebank et al. 2013), pollos (Bakhshalinejad et al. 2017, Wang y Xu 2008, Wang et al. 2011), gallinas (Han et al. 2018, Meng et al. 2018), pavos (Taylor et al. 2018, Taylor y Sunde 2016, Fischer et al. 2008), vacas (Gong y Xiao 2018), cabras (Chung et al. 2007), cerdos (Chavez 1979) e inclusive para humanos (Thomson 2004).

Aunque la actividad de las enzimas analizadas es sensible a contenido dietario de selenio, está asociada a una jerarquía. Así, la enzima Gpx citosólica (Gpx 1) dependiente de selenio es más sensible a cambios dietarios de selenio, porque se encuentra en el menor nivel de jerarquía de las selenoproteínas. La jerarquía implica que el suministro de selenio para los tejidos y dentro de cada tejido para las selenoproteínas es diferente, especialmente cuando hay deficiencia de selenio. Algunas selenoproteínas desaparecen rápidamente, mientras que otras permanecen estables, hasta que la deficiencia se vuelve más seria. Por lo tanto, aquellas selenoproteínas que desaparecen rápidamente se encuentran en un nivel bajo en la jerarquía, mientras que las que permanecen estables se encuentran en niveles más altos (Behne y Kyriakopoulos 2001, Sunde 2012). La enzima Gpx 1 se expresa en el citosol y se encuentra en hígado, riñón, eritrocitos entre otros en el nivel más bajo de jerarquía. La Gpx plasmática (Gpx 3) también se encuentra en un nivel jerárquico bajo, pero antes que la Gpx1.

De acuerdo a lo descrito en artículos anteriormente mencionados y tomando en cuenta los resultados obtenidos, la carencia en incremento en la actividad de Gpx en hígado y riñón y plasma al incrementar el nivel de selenio en la dieta, podría ser un indicativo de que la cantidad de selenio en la dieta del tratamiento 1 fue suficiente para reunir las necesidades de selenio en la dieta de estos animales. Sin embargo, es necesario considerar que la carencia de selenio en cuyes (contenido menor o igual a 0,02 mgSe/kg dieta), causa una caída en la actividad de glutatión peroxidasa dependiente de selenio en hígado y en riñón, no tan pronunciada como en ratas u otras especies, porque el contenido de estas enzimas en cuyes representan solo el 6% de las que se encuentran en ratas (Burk et al. 1981; Himeno et al. 1993), o es casi imperceptible o nulo cuando se mide en hígado y riñón, comparada a ratas, ratones y hamsters (Igarashi et al. 1983, Tappel et al. 1982), asimismo, la actividad de glutatión peroxidasa dependiente de selenio en plasma, podría ser más resistente a la reducción en deficiencia de selenio que en ratas (Cammack et al. 1995) y la medida de esta enzima en hígado podría no ser una medida tan sensitiva de deficiencia de selenio en cuyes (Burk et al. 1981).

Al analizar los resultados obtenidos para Gpx en eritrocitos, observamos diferencias significativas entre el tratamiento 1 en comparación con los tratamientos 2 y 3 ($P < 0,05$). Los resultados indicarían que un nivel de selenio dietario de 0,17 mgSe/kg de alimento, permitiría cubrir las necesidades para función de esta enzima. Resultados similares son

reportados por Jensen y Pallauf (2008), para Gpx en eritrocitos, quienes indican diferencias ($P < 0,01$) entre cuyes en crecimiento que recibieron 0.1 con los que recibieron 0,15 y 0,20 mgSe/kg dieta, sin encontrar diferencias entre estos dos últimos niveles (niveles y resultados muy parecidos a los utilizados en el presente trabajo). Contrariamente a lo que ocurre con Gpx de hígado y riñón, la actividad de Gpx de eritrocitos en cuyes, es similar a la que se encuentra en ratas o ratones (Himeno et al. 1993). Una posible explicación podría ser la necesidad de un antioxidante en los eritrocitos, que transportan oxígeno, que son susceptibles por lo tanto a estrés oxidativo y no cuentan con un sistema compensatorio como ocurre en el caso de hígado y riñón en cuyes, en los que se encuentra la enzima Gpx no dependiente de selenio con una actividad tan alta como en ratas o ratones, que puede actuar como una defensa contra hidroperóxidos orgánicos. Adicionalmente en hígado de estos animales, la enzima catalasa es 2 a 3 veces más alta comparada a ratas y se encuentra en el citosol principalmente, a diferencia de ratas en las que se encuentra en peroxisomas; permitiendo por lo tanto, un rol compensatorio para eliminación del peróxido de hidrógeno específico y diferente a otras especies (Himeno et al. 1993).

Al respecto, Sunde et al. (2016), mencionan que la actividad de Gpx dependiente de selenio en eritrocitos podría ser difícil de interpretar, a causa de su continuo incremento con selenio dietario, por encima del punto de quiebre en las curvas de respuesta comparadas a Gpx plasmática o de hígado o riñón., en especies como aves, pollos, ratas, ratones, ovinos a diferencia de pavos en los que la respuesta si muestra una meseta bien definida. Sin embargo, en ovinos, la actividad de Gpx en eritrocitos representa el 97,3 % de la actividad total en sangre, por lo que representa un análisis más significativo comparado a la actividad de Gpx plasmática (2,7% de la actividad sanguínea total) (Humann-ziebank et al. 2013). En el mismo sentido, Mass et al. (1992), mencionado por (Hosnedlova et al. 2017) afirman que considerando que aproximadamente el 98% de la actividad de Gpx en sangre está asociada a eritrocitos, que el 73 % de selenio está contenido en componentes celulares sanguíneos y que los eritrocitos bovinos contienen solo Gpx dependiente de selenio, la actividad en sangre o eritrocitos son excelentes indicadores de estatus de selenio a largo tiempo en vacunos. Aparentemente, los cuyes serían una especie con características relativamente similares en cuanto a contener mayor contenido de Gpx dependiente de selenio en eritrocitos que en plasma y adicionalmente al tener la particularidad que el contenido de Gpx dependiente de selenio en hígado y riñón es muy pequeño comparado a otras especies, podría considerarse

a la actividad en eritrocitos una medida más sensitiva del estatus de selenio en cuyes, en comparación a Gpx dependiente de selenio en hígado y riñón y plasma.

4.2.2. Actividad de tioredoxina reductasa

Los resultados para actividad de tioredoxina reductasa (TrxR) en hígado no muestran diferencias ($P > 0,05$) entre tratamientos (Tabla 8). Solamente se ha encontrado un trabajo en cuyes en crecimiento sometidos a diferentes niveles de selenio ($<0,02, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25\text{mgSe/kg}$ dieta), en el cual mide actividad de TrxR en hígado y riñón. Los resultados en hígado, similares a los reportados en el presente trabajo, mencionan que no hay diferencias entre tratamientos ($P > 0,05$) (Jensen y Pallauf 2008). No existe información en la literatura respecto a diferencias en contenido de esta enzima en cuyes respecto a otras especies, sin embargo, en jerarquía respecto a niveles dietarios de selenio en hígado se encuentra antes de Gpx1 y DIO1, por lo que sería menos sensible que estas enzimas en hígado a deficiencia de selenio (Hadley y Sunde 2001). La regulación de la expresión de las selenoenzimas se realiza por la elección entre la incorporación de la selenocisteína o terminación de la síntesis de proteína, existe una jerarquía para la expresión bajo condiciones de limitada disponibilidad de selenio, la TrxR es menos sensible a la suplementación de selenio que la DIO1, sugiriendo que los niveles de TrxR se mantienen mejor cuando el suministro de selenio es bajo en comparación a DIO1 (Mustacich y Powis 2000). Al respecto, Lu et al. (2009), mencionan que, durante la deficiencia de selenio, curiosamente el RNAm para TrxR se mantiene en una forma menos activa, con una cisteína sustituyendo a la selenocisteína. Esto indica que ocurre un mecanismo único adaptativo para decodificar el código UGA (que indica término de la síntesis proteica), insertando cisteína para preservar, en algún grado, las funciones de TrxR.

Probablemente la TrxR en hígado de cuy requiera un nivel de selenio menor a $0,1\text{mg/kg}$ para manifestar una caída en su actividad, en el caso de Jensen y Pallauf (2008), se observa una disminución en la actividad en niveles entre 0 y $0,05\text{ mg/kg}$, a mayores niveles de selenio en alimento no se encuentran diferencias. En el caso de ratas, Hadley y Sunde (2001), indican que el requerimiento mínimo dietario para una máxima actividad de TrxR en hígado es $0,07\text{ mgSe/kg}$ de alimento, mientras que, Crosley et al. (2007), indican que entre niveles $0,06$ y

0,11 se encuentran diferencias, pero posteriores a este último no. En el presente trabajo, la actividad de TrxR se mantiene en el hígado, a los niveles de selenio utilizados, probablemente se requiere un menor nivel para que se pueda ver una caída en su actividad.

4.2.3 Contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1

Los resultados para el contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1 (DIO1) en el hígado de cuyes en crecimiento indican diferencias ($P < 0,01$) entre el tratamiento 1 con respecto a los tratamientos 2 y 3, sin diferencias entre estos dos últimos ($P > 0,05$) (tabla 8). Se confirma en este trabajo que los niveles de selenio influyen en el contenido de DIO1 en hígado, aparentemente un nivel dietario de selenio de 0.1mg/kg no permite una total expresión de la enzima, la misma que se alcanza y mantiene a partir de 0.17mgSe/kg alimento.

Tabla 8: Actividad de tioredoxina reductasa y contenido de deiodinasa en hígado

	T1	T2	T3
	0,1 mg Se/kg	0,17 mg Se/kg	0,24 mg Se/kg
Actividad TrxR en Hígado* mU/mg	2,08 ^a ± 0,70	2,53 ^a ± 1,07	2,78 ^a ± 0,54
Contenido DIO 1 en Hígado pg/mg	103,7 ^b ± 23,2	140,7 ^a ± 37,6	168,9 ^a ± 30,3

Valores promedio ± SD, n = 11

^{a,b} Promedios con letras diferentes en las filas expresan diferencias significativas ($P < 0,05$)

*Iumidad es 1umol DTNB oxidado/min-mg proteína

Con referencia a contenido de la enzima iodotironina deiodinasa tipo 1 (que es la forma medida en este trabajo), se ha demostrado que la disminución en la actividad de DIO1 en ratas alimentadas con dietas deficientes en selenio, en comparación con aquellas alimentadas con niveles adecuados de selenio, se produce por una disminución en el contenido de proteína de la enzima DIO1 (Depalo et al. 1994). Los niveles de selenio afectan la actividad

y expresión de DIO1 en ratones alimentados con diferentes niveles del mismo (Yang et al. 2006). Al respecto, Kohrle et al. (2005), mencionan que una severa deficiencia de selenio reduce el contenido proteico de la DIO1 y la actividad en tejidos específicos y la suplementación incrementa ambos por mecanismos que se relacionan a estabilidad del RNAm y regulación postranscripcional.

Al respecto, Papp et al. (2007), mencionan que es probable que los niveles reducidos en las selenoproteínas sean debidos a efectos en la traducción, ya que existe evidencia que la traducción global de proteínas en cuerpos en crecimiento se reduce en respuesta a muchos tipos de estrés celular, para permitir a las células conservar fuentes e iniciar una reconfiguración de la expresión génica para manejar efectivamente las condiciones de estrés. A causa de que la proteína de unión a Sec (SBP2, figura 3), es un factor limitante en la síntesis de selenoproteínas, Papp et al. (2007), han propuesto un modelo en el cual la inhibición traduccional de la síntesis durante estrés oxidativo, que podría ser ocasionado por deficiencia de selenio, se produciría por un secuestro de SBP2 desde los ribosomas al interior del compartimento nuclear como producto de eventos oxidativos, evitando de esta manera el proceso de síntesis de la selenoproteína. Durante la fase de recuperación (suplemento de selenio), SBP2 sería potencialmente reducida por los sistemas tioredoxina y glutaredoxina, facilitando su reubicación en los ribosomas y reiniciando la traducción de la selenoproteína. Según este modelo, un nivel de selenio dietario en el alimento de 0,1mg/kg, habría generado de algún modo un estrés oxidativo produciendo una inhibición de la síntesis de la DIO1, que se revierte con el nivel de 0,17mgSe/kg de alimento. Por lo tanto, en el caso de DIO1, que es más sensible y menos jerárquica que la TrxR, los niveles de selenio del tratamiento 1 no son suficientes para permitir su máxima expresión en el hígado.

Sin embargo, aun cuando se ve afectada la expresión de la enzima DIO1 en hígado, que se encarga de pasar a la tiroxina a su forma activa triyodotironina, no se aprecia un efecto directo en la ganancia de peso en los animales. Jensen y Pallauf (2008), reportan diferencias ($P < 0,05$) en actividad de DIO1 en hígado, entre cuyes en crecimiento que recibieron 0 y 0,05mgSe/kg alimento, pero no entre estos y los que recibieron mayores niveles (0,1, 0,15, 0,2 y 0,25 mgSe/kg alimento). De la misma forma que en el presente trabajo, en estos animales tampoco se observaron diferencias en ganancia de peso entre tratamientos. Sin

embargo, en un estudio realizado en cuyes en crecimiento, solo con dos niveles de selenio dietario (<0,02 y 0,5 mgSe/kg alimento), además de encontrarse una disminución significativa de la actividad de DIO1 entre los dos grupos de animales, también se encontraron diferencias en el crecimiento de los mismos ($P<0,05$)(Cammack et al. 1995).

El hecho de no encontrar diferencias en ganancia de peso en animales alimentados con dietas deficientes en selenio, podría estar asociado a que los niveles de T3 se mantienen aun cuando la actividad o expresión de la DIO1 se ve afectada. Sin embargo, la contribución exacta de la DIO1 en la producción de T3 periférica, aún permanece en controversia. Al respecto, ratas alimentadas con dietas deficientes en selenio, reflejan cambios significativos en actividad de DIO1 en hígado, pero mantienen niveles en suero de triyodo tironina (T3) y aumentan en cierto grado la tiroxina (T4) (Chanoine et al. 1992), efectos similares son citados para ratones (Streckfuss et al. 2005). Igualmente, en caballos alimentados con dietas con diferentes niveles de selenio en el alimento (0,08, 0,2, 0,3, 0,4 mgSe/kg alimento) no se afectaron las concentraciones de T3 y T4 ni la relación T3:T4. Contrariamente a estos resultados, en pollos alimentados con diferentes niveles de selenio, se notó un significativo incremento en T3 y disminución en la relación T4:T3 en suero al comparar el tratamiento conteniendo 0,04 con los que contenían 0,09, 0,19 y 0,29mg Se/kg alimento (Wang et al. 2016). Al respecto, y después de hacer estudios en ratones con genes inactivados para deiodinasas, Galton et al. (2015), sugieren que mientras que las deiodinasas no son esenciales para el mantenimiento de T3 en suero, tiene roles muy importantes en homeostasis de hormonas tiroideas, la DIO2 siendo crítica para producción local de T3 y la DIO1, jugando un rol muy importante en la conservación de iodo y de hormonas tiroideas, por lo que la medida de la expresión de DIO1 en hígado puede proveer importantes pistas sobre la intensidad de deficiencia de selenio y su efecto en el metabolismo de hormonas tiroideas y es un sensitivo indicador del estado tiroideo (Foroughi y Dehghani 2013, Fan et al. 2009).

4.3 CONTENIDO DE SELENIO EN MÚSCULO, SANGRE Y CUERPO

Los resultados indican que para el contenido de selenio en sangre y cuerpo se encontraron diferencias ($P<0,01$) entre los tratamientos 1 con respecto a 2 y 3, pero no entre los

tratamientos 2 y 3 ($P>0,05$). El contenido de selenio en músculo muestra una tendencia a incrementarse a mayor contenido de selenio dietario, pero las diferencias no son significativas entre tratamientos ($P=0,058$) (Tabla 9).

El contenido de selenio en músculo está dado por el selenio específicamente incorporado en las selenoproteínas y por la selenometionina, la cual es incorporada en forma no específica en la proteína tisular (Combs 2015, Sunde et al. 2016, Faye et al. 2014). En el caso de los animales utilizados en este estudio y debido a que han recibido solo selenio orgánico está dado principalmente por la incorporación de selenometionina no específica al mismo y representa la retención de selenio en este tejido. En el presente ensayo los niveles de selenio incorporados al tejido muscular no presentan diferencias ($P=0,058$), entre tratamientos, pero sí se nota una tendencia a incrementarse en relación al selenio consumido por los animales. Al respecto, Gu et al. (1998) en un experimento realizado en cuyes que recibieron una dieta basal conteniendo 0,7 mgSe/kg de alimento y suplementos a la misma de varios niveles desde 0,5 hasta 8 mg Se/ kg de alimento en forma de selenometionina y uno adicional de 4 mgSe/kg alimento en forma de selenato de sodio, encontraron niveles de selenio diferentes ($P<0,05$) en músculo desde 1,1 hasta 13,9 mgSe/kg (base seca), solo para la suplementación con selenometionina. Los autores indican que para la suplementación con selenato de sodio, los niveles encontrados en tejido muscular fueron similares a los obtenidos para animales que recibieron solo la dieta basal. Las concentraciones de selenio en tejido muscular encontradas en el presente trabajo son menores a las reportados por Gu et al. (1998), debido a los niveles de selenio utilizados, mientras ellos parten de una dieta basal de 0,7 mgSe/kg, el máximo nivel utilizado en este trabajo fue de 0,24 mgSe/kg alimento.

Resultados similares se han encontrado en ratas alimentadas con diferentes niveles de selenio levadura en las que se ha determinado que el estatus de selenio en el cuerpo se eleva cuando los animales reciben diferentes niveles de selenio, pero a mucho menor grado que el incremento en el consumo de selenio dietarios (Behne et al. 2009). De igual forma en caballos recibiendo una ración no suplementada (0,15mgSe/kg de dieta) en comparación con otra suplementada con selenio levadura (0,45 mgSe/kg dieta), se observó un mayor contenido de selenio en músculo de animales suplementados con selenio, pero sin diferencias estadísticas ($P>0,05$) (Richardson et al. 2006). Sin embargo, en pollos sí se han reportado diferencias ($P<0,05$), en contenido de selenio en músculo en respuesta a la suplementación

con selenio levadura entre dieta deficiente en comparación con suplementada (Liu et al. 2015, Wang y Xu 2008).

Los niveles de selenio en sangre, además del selenio no específicamente incorporado, contienen el de las selenocisteína, que son niveles altamente regulados, es decir alcanzan el máximo valor con el consumo adecuado de selenio en la dieta y no se presenta futuro incremento por selenio dietario adicional (Combs 2015). Así mismo, la concentración de selenio en sangre refleja cambios en respuesta a niveles dietarios de selenio a largo plazo, a causa de que el selenio es incorporado en los glóbulos rojos, durante su formación (Gunter et al. 2013). En el caso de los animales utilizados en este ensayo, la concentración de selenio en sangre podría ser un buen indicativo del estatus de selenio, pues la medida se ha realizado después de cinco semanas de recibir las diferentes dietas, lo cual puede representar un tiempo apropiado para percibir cambios relacionados a diferencias entre tratamientos (Maylin, mencionado por Calamari et al. 2009, Dalir-naghadeh et al. 2011).

Sin embargo, las concentraciones de selenio en sangre dependen de la especie y edad del animal (Hosnedlova et al. 2017) y no existen en la literatura reportes de contenido de selenio en sangre de cuyes que nos permitan hacer comparaciones directas, sin embargo, en un trabajo en cuyes en el que los animales recibieron diferentes dosis de selenio en el alimento (0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,20, 0,25 mgSe/kg de alimento) se reporta que la tendencia y respuesta de los animales en relación al nivel de selenio utilizado es similar a la encontrada en este ensayo, es decir, los animales alcanzan el máximo nivel de selenio en hemolisado y plasma a niveles de selenio dietario de 0,15mgSe/kg alimento (Jensen y Pallauf 2008), que son niveles muy cercanos a los de 0,17 mgSe/kg de alimento en los cuales se alcanza el máximo nivel de selenio en sangre en este trabajo.

Tabla 9: Concentración de selenio en sangre, músculo y cuerpo (mg/kg peso fresco)

	T1 0,1 mg Se/kg	T2 0,17 mg Se/kg	T3 0,24 mg Se/kg
Se sangre mg/kg	0,0642 ^b ± 0,016	0,0856 ^a ± 0,017	0,0869 ^a ± 0,015
Se músculo mg/kg	0,0957 ^a ± 0,012	0,1001 ^a ± 0,027	0,1175 ^a ± 0,023
Se cuerpo mg/kg	0,0714 ^a ± 0,014	0,0898 ^{ab} ± 0,029	0,0944 ^b ± 0,015

Valores promedio ± SD, n = 11

^{a,b} Promedios con letras diferentes en las filas expresan diferencias altamente significativas (P < 0,01)

El contenido de selenio en sangre está comprendido por selenio que ha sido incorporado en forma específica a selenoproteínas (selenocisteína en Gpx1, Gpx3 y selenoproteína P, que se encarga de transportar el selenio de hígado a tejidos) y no específica (selenometionina en albúmina y hemoglobina), sin embargo, en cuyes principalmente estaría asociado a la Gpx en eritrocitos, debido a los niveles muy bajos de Gpx plasmática en estos animales. Por lo expuesto, es entendible que los valores sigan en estos animales, una respuesta similar a la actividad de Gpx eritrocitaria, en los niveles utilizados en el presente trabajo.

Por lo tanto, analizando los resultados obtenidos en contenido de selenio en sangre, actividad de Gpx en eritrocitos, y contenido de iodotironina deiodinasa 1 en hígado, se puede deducir que un nivel de selenio dietario de 0,17 mgSe/kg de alimento, bajo las condiciones de este ensayo, permitió cubrir las necesidades del mismo en cuyes en crecimiento.

V. CONCLUSIONES

Considerando las condiciones en las que se desarrolló el presente estudio se concluye lo siguiente:

1. Cuyes en crecimiento alimentados con una ración integral conteniendo 0,1; 0,17 y 0,24 mg Se/kg de alimento, no presentan diferencias significativas ($P>0.05$) en actividad de glutatión peroxidasa dependiente de selenio en plasma, hígado y riñón.
3. Cuyes en crecimiento alimentados con una ración integral conteniendo 0,1; 0,17 y 0,24 mgSe/kg de alimento, no presentan diferencias significativas ($P>0.05$) en actividad de tioredoxina reductasa en hígado.
4. La actividad de glutatión peroxidasa en eritrocitos y el contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1 en hígado se modifican con el nivel de selenio dietario y pueden ser utilizados como biomarcadores de función de selenio en estudios de requerimiento en cuyes en crecimiento.
5. El contenido de selenio en tejido muscular de cuyes alimentados con diferentes niveles de selenio en forma de selenio levadura, se incrementa con el nivel de selenio en la dieta ($P=0.058$).

VI. RECOMENDACIONES

Considerando las condiciones en las que se desarrolló este trabajo se recomienda:

1. Desarrollar estudios de requerimiento de selenio en cuyes en crecimiento, considerando como biomarcadores actividad de glutatión peroxidasa eritrocitaria y contenido de iodotironina deiodinasa tipo 1 en hígado, además de contenido de selenio en sangre.
2. Determinar el efecto de niveles mayores de selenio a los empleados en este trabajo, que permita conocer la respuesta asociada a toxicidad en cuyes en crecimiento.
3. Determinar el efecto de diferentes niveles de selenio sobre cuyes en etapa reproductiva.
4. Determinar el efecto de diferentes fuentes de selenio: orgánico e inorgánico en cuyes en crecimiento y en etapa reproductiva.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. 2006. Arsenic, cadmium, lead, selenium, and zinc in human and pet foods. 18th ed. s.l., Official Methods of Analyses 986.15. 7-9 p.
- A.O.A.C. 2005. Official Methods of Analysis. 18th editi. Maryland, Association of Official Analytical, Chemists International.
- Alberro, ML. 2013. Meta-análisis del efecto de la suplementación con selenio sobre la actividad de la glutatión peroxidasa en distintas especies y tejidos. Tesis Licenciatura en Bioquímica. Universidad de la República, Montevideo. 48 p.
- Aliaga, L; Moncayo, R; Rico, E; Caycedo, A. 2009. Producción de Cuyes. 1 ed. Lima, Universidad Católica Sedes Sapientiae. 808 p.
- Arnér, EJ; Zhong, L; Holmgren, A. 1999. Preparation and assay of mammalian thioredoxin and thioredoxin reductase. *Methods in Enzymology* 300(1):226-239.
- Bakhshalinejad, R; Zoidis, E; Moghaddam, RA. 2017. Effects of different dietary sources and levels of selenium supplements on growth performance, antioxidant status and immune parameters in Ross 308 broiler chickens. *British Poultry Science* (September). DOI: <https://doi.org/10.1080/00071668.2017.1380296>.
- Behne, D; Alber, D; Kyriakopoulos, A. 2009. Effects of long-term selenium yeast supplementation on selenium status studied in the rat (en línea). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 23(4):258-264. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2009.05.001>.
- Behne, D; Kyriakopoulos, A. 2001. Mammalian selenium-containing proteins. *Annual Review of Nutrition* 21(1):453-473.
- Bernaola Rodriguez, CF. 2018. Suplementación con un complejo enzimático en dietas balanceadas de crecimiento en cuyes mejorados (*Cavia porcellus*). Tesis Ingeniero Zootecnista. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 61 p.
- Bertín, G; Surai, P. 2007. Effect of organic selenium in the form of sel-plex in Se content in broiler meat. *In Proc. European Symposium on Meat Quality*. Prague, s.e.

- Bertinato, J; Hidioglou, N; Peace, R; Cockell, KA; Trick, KD; Jee, P; Giroux, A; Madère, R; Bonacci, G; Iskandar, M; Hayward, S; Giles, N; Abbé, MRL. 2007. Sparing effects of selenium and ascorbic acid on vitamin C and E in guinea pig tissues. *Nutrition Journal* 9:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2891-6-7>.
- Boostani, A; Sadeghi, AA; Mousavi, SN; Chamani, M; Kashan, N. 2015. Effects of organic , inorganic , and nano-Se on growth performance , antioxidant capacity , cellular and humoral immune responses in broiler chickens exposed to oxidative stress. *Livestok Science* 178:330-336. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.05.004>.
- Brigelius-flohé, R; Maiorino, M. 2013. Glutathione peroxidases (en línea). *Biochimica et Biophysica Acta* 1830(5):3289-3303. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.11.020>.
- Bulteau, AL; Chavatte, L. 2015. Update on selenoprotein biosynthesis. *Antioxidants and Redox Signaling* 23(10):775-794. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6391>.
- Burk, RF; Hill, KE. 2010. Glutathione peroxidases. *In McQueen, CA (ed.)*. s.l., Elsevier Science. p. 6448.
- Burk, RF; Hill, KE. 2015. Regulation of selenium metabolism and transport. *Annual Review of Nutrition* 35(1):109-134. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071714-034250>.
- Burk, RF; Lane, JM; Lawrence, RA; Gregory, PE. 1981. Effect of selenium deficiency on liver and blood glutathione peroxidase activity in guinea pigs. *The Journal of Nutrition* 111(4):690-693.
- Calamari, L; Ferrari, A; Bertin, A. 2009. Effect of selenium source and dose on selenium status of mature horses. *Journal of Animal Science* 87(1):167-178. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0746>.
- Cammack, PM; Zwahlen, BA; Christensen, MJ. 1995. Selenium deficiency alters thyroid hormone metabolism in guinea pigs. *The Journal of Nutrition* 125:302-308. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/125.2.302>.
- Carbajal Chávez, CS. 2015. Evaluación preliminar de tres alimentos balanceados para cuyes (*Cavia porcellus*) en acabado en el valle del mantaro. Trabajo monográfico para obtener el título de Ingeniero Zootecnista. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 78 p.
- Chanoine, JP; Safran, M; Farwell, A; Dubord, S; Alex, S; Stone, S; Arthur, J; Braverman, L; Leonard, JL. 1992. Effects of selenium economy in rats. *Endocrinology* 131(4):1787-1792.

- Chaudhary, M; Garg, AK; Mittal, GK; Mudgal, V. 2010. Effect of organic selenium supplementation on growth , Se uptake , and nutrient utilization in guinea pigs. *Biological Trace Element Research* 133:217-226. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8420-z>.
- Chaudhary, M; Garg, AK; Mudgal, V. 2012. Influence of sodium selenite on growth, nutrient utilization and selenium uptake in *Cavia porcellus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 15(9):448-453.
- Chavez, ER. 1979. Effect of dietary selenium on glutathione peroxidase activity in piglets. *Canadian Journal of Animal Science* 75(June 1978):67-75.
- Choct, M; Naylor, AJ; Reinke, N. 2010. Selenium supplementation affects broiler growth performance , meat yield and feather coverage. *British Poultry Science* 45(5):677-683. DOI: <https://doi.org/10.1080/00071660400006495>.
- Chung, JY; Kim, JH; Ko, YH; Jang, IS. 2007. Effects of dietary supplemented inorganic and organic selenium on antioxidant defense systems in the intestine, serum, liver and muscle of korean native goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 20(1):52-59.
- Combs, GF. 2015. Biomarkers of selenium status. *Nutrients* 7:2209-2236. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu7042209>.
- Condori Apaza, RW. 2014. Evaluación de bajos niveles de fibra en dietas de inicio y crecimiento de cuyes (*Cavia porcellus*) con exclusión de forraje. Tesis Ingeniero Zootecnista. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 90 p.
- Crosley, LK; Méplan, C; Nicol, F; Rundlöf, AK; Arnér, ESJ; Hesketh, JE; Arthur, JR. 2007. Differential regulation of expression of cytosolic and mitochondrial thioredoxin reductase in rat liver and kidney. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 459(2):178-188. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2006.12.029>.
- Dalir-naghadeh, B; Bahrami, Y; Rezaei, SA; Anassori, E. 2011. Platelet indices of selenium status in healthy and selenium-deficient sheep : a comparison with selenium indices in plasma , whole blood , and red blood cells. *Biological Trace Element Research* 168(1):74-81. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0332-5>.
- Darras, VM; Herck, SLJ Van. 2012. Iodothyronine deiodinase structure and function : from ascidians to humans. *Journal of Endocrinology* 215(2):189-206. DOI: <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0204>.

- Depalo, D; Kinlaw, WB; Zhaos, C; Engelberg-kukas, H; Germaino, DLS. 1994. Effect of selenium deficiency on type I 5'-deiodinase. *The Journal of Biological Chemistry* 269(23):16223-16228.
- Diamond, AM. 2015. The subcellular location of selenoproteins and the impact on their function. *Nutrients* 7:3938-3948. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu7053938>.
- Dubey, A; Copeland, PR. 2016. The molecular regulation of selenocysteine incorporation into proteins in eukaryotes. *In Brigelius-Flohé, R; Sies, H (eds.)*. Boca Raton, CRC Press. p. 410.
- Fan, C; Yu, B; Chen, D. 2009. Effects of different sources and levels of selenium on performance, thyroid function and antioxidant status in stressed broiler chickens. *International Journal of Poultry Science* 8(6):583-587.
- Faye, B; Saleh, SK; Konuspayeva, G; Seboussi, R. 2014. Comparative effect of organic and inorganic selenium supplementation on selenium status in camel (en línea). *Journal of King Saud University - Science* 26(2):149-158. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.10.003>.
- Fischer, J; Bosse, A; Pallauf, J. 2008. Effect of selenium deficiency on the antioxidative status and muscle damage in growing turkeys. *Archives of Animal Nutrition* 62(6):485-497. DOI: <https://doi.org/10.1080/17450390802453468>.
- Flohé, L; Brigelius-Flohé, R. 2016. Basics and news on glutathione peroxidases. *In Hatfield, DL; Schweizer, U; Tsuji, PA; Gladyshev, VN (eds.)*. New York, Springer Nature. p. 628.
- Foroughi, AM; Dehghani, H. 2013. Quantitative comparison of iodothyronine deiodinase I and II mRNA expression in ovine tissues (en línea). *Research in Veterinary Science* 95(3):891-893. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.07.010>.
- Galton, VA; Schneider, MJ; Clark, AS; Germain, DLS. 2015. Life without thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine conversion: studies in mice devoid of the 5'-deiodinases. *Endocrinology* 150(6):2957-2963. DOI: <https://doi.org/10.1210/en.2008-1572>.
- García Leandro, M V. 2017. Ractopamina y nivel de proteína de la dieta, respuesta productiva y características de la carcasa de cuyes (*Cavia porcellus*). Tesis Magister Scientiae en Nutrición. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 60 p.
- Gong, J; Xiao, M. 2018. Effect of organic selenium supplementation on selenium status, oxidative stress, and antioxidant status in selenium-adequate dairy cows during the periparturient period. *Biological trace element research* 186(2):430-440.

- Gu, Q; Xia, Y; Ha, P; Butler, JA; Whanger, PDI. 1998. Distribution of selenium between plasma fractions in guinea pigs and humans with various intakes of dietary selenium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 12:8-15. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0946-672X\(98\)80015-1](https://doi.org/10.1016/S0946-672X(98)80015-1).
- Gunter, SA; Beck, PA; Hallford, DM. 2013. Effects of supplementary selenium source on the blood parameters in beef cows and their nursing calves. *Biological Trace Element Research* 152(2):204-211. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9620-0>.
- Hadley, KB; Sunde, RA. 2001. Selenium regulation of thioredoxin reductase activity and mRNA levels in rat liver. *Journal of Nutritional Biochemistry* 12:693-702.
- Han, XJ; Qin, P; Li, WX; Ma, QG; Ji, C; Zhang, JY; Zhao, LH. 2018. Effect of sodium selenite and selenium yeast on performance, egg quality, antioxidant capacity, and selenium deposition of laying hens. *Poultry Science* 96:3973-3980. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pex216>.
- Hill, KE; Mccollum, GW; Boeglin, ME; Burk, RF. 1997. Thioredoxin reductase activity is decreased by selenium deficiency. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 234(2):293-295.
- Hill, KE; Motley, AK; Li, X; May, JM; Burk, RF. 2001. Combined selenium and vitamin E deficiency causes fatal myopathy in guinea pigs. *The Journal of Nutrition* 131(6):1798-1802.
- Hill, KE; Motley, AK; May, JM; Burk, RF. 2009. Combined selenium and vitamin C deficiency causes cell death in guinea pig skeletal muscle. *Nutrition Research* 29(3):213-219. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.02.006.Combined>.
- Himeno, S; Takekawa, A; Imura, N. 1993. Species difference in hydroperoxide-scavenging enzymes with special reference to glutathione peroxidase in guinea-pigs. *Comparative Biochemistry and Physiology* 104(1):27-31.
- Himeno, S; Takekawa, A; Toyoda, H; Imura, N. 1993. Tissue-specific expression of glutathione peroxidase gene in guinea pigs. *Biochimica et Biophysica Acta* 1173:283-288.
- Hosnedlova, B; Kepinska, M; Skalickova, S; Fernandez, C; Ruttkay-nedecky, B; Malevu, TD; Sochor, J; Baron, M. 2017. A summary of new findings on the biological effects of selenium in selected animal species — a critical review. *International Journal of Molecular Sciences* 18(10):2209. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18102209>.
- Huamaní Ñahuinlla, G. 2015. Respuesta productiva y perfil de ácidos grasos de carcasa de cuyes

(*Cavia porcellus*) criados bajo tres sistemas de alimentación. Tesis Magister Scientiae. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 65 p.

Humann-ziehan, E; Renko, K; Mueller, AS; Roehrig, P; Wolfsen, J; Ganter, M. 2013. Comparing functional metabolic effects of marginal and sufficient selenium supply in sheep (en línea). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 27(4):380-390. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2013.03.003>.

Igarashi, T; Satoh, T; Ueno, K; Kitagawa, H. 1983. Species difference in glutathione level and glutathione related enzyme activities in rats, mice, guinea pigs and hamsters. *Journal of Pharmacobio-dynamic* 6(12):941-949.

Jensen, C; Pallauf, J. 2008. Estimation of the selenium requirement of growing guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 92:481-491. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00738.x>.

Kohrle, J; Jakob, F; Contempre, B; Dumont, JE. 2005. Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocrine Reviews* 26(7):944-984. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2001-0034>.

Kuehl, R. 2001. *Diseño de Experimentos*. 2 ed. Mexico, Thomson Learning. 666 p.

Kumar, BS; Priyadarsini, KI. 2014. Selenium nutrition: how important is it? (en línea). *Biomedicine & Preventive Nutrition* 4(2):333-341. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2014.01.006>.

Kumar, N; Garg, AK; Mudgal, V. 2008. Effect of different levels of selenium supplementation on growth rate, nutrient utilization, blood metabolic profile, and immune response in lambs. *Biological trace element research* 126(1):S44-S56. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-008-8214-8>.

Labunskyy, VM; Hatfield, DL; Gladyshev, VN. 2014. Selenoproteins: molecular pathways and physiological roles. *Physiological Reviews* 94:739-777. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00039.2013>.

Lawrence, R; Burk, RF. 1976. Glutathione peroxidase activity in Selenium-Deficient Rat Liver (en línea). *Biochemical and Biophysical Research Communications* 71(4):952-958. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.08.016>.

Lawrence, RA; Burk, AF. 1978. Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity. *Journal of Nutrition* 108:211-215.

- Lei, XG; Evenson, JK; Thompson, KM; Sunde, R. 1995. Glutathione peroxidase and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase are differentially regulated in rats by dietary selenium (en línea). *J. Nutr.* 125(6):1438–1446,. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1438>.
- Lei, XG; Cheng, W; McClung, JP. 2007. Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. *Annual Review of Nutrition* 27(1):41-61. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093716>.
- Liu, S; Tan, H; Wei, S; Zhao, J; Yang, L; Li, S; Yin, Y; Chen, Y; Peng, Y. 2015. Effect of selenium sources on growth performance and tissue selenium retention in yellow broiler chicks (en línea). *Journal of Applied Animal Research* 43(4):487-490. DOI: <https://doi.org/10.1080/09712119.2014.978780>.
- Lu, J; Berndt, C; Holmgren, A. 2009. Metabolism of selenium compounds catalyzed by the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase (en línea). *Biochimica et Biophysica Acta* 1790(11):1513-1519. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.04.013>.
- Lubos, E; Loscalzo, J; Handy, DE. 2011. Glutathione peroxidase-1 in health and disease : from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling* 15(7). DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3586>.
- Mehdi, Y; Dufrasne, I. 2016. Selenium in cattle : a review. *Molecules* 21(4):545. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21040545>.
- Mehdi, Y; Hornick, JL; Istasse, L; Dufrasne, I. 2013. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules* 18(3):3292-3311. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules18033292>.
- Meng, T; Liu, Y; Xie, C; Zhang, B; Huang, Y; Zhang, Y; Yao, Y. 2018. Effects of different selenium sources on laying performance, egg selenium concentration, and antioxidant capacity in laying hens (en línea). *Biological Trace Element Research* (september). Disponible en <https://www.researchgate.net/publication/327775438>.
- Mullo, L. 2009. Aplicación del promotor natural de crecimiento (Sel-Plex) en la alimentación de cuyes mejorados (*cavia porcellus*) en la etapa de crecimiento-engorde y gestación-lactancia. Tesis Ingeniería Zootécnica. Escuela de Ingeniería Zootécnica. Riobamba, Ecuador. 108 p.
- Mustacich, D; Powis, G. 2000. Thioredoxin reductase. *The Biochemical journal* 8:1-8.
- Nakandakari Arashiro, LA. 2013. Comportamiento productivo, morfometría intestinal y cobre

- hepático en cuyes alimentados con niveles farmacológicos de cobre en la dieta. Tesis Magister Scientiae Nutrición. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 76 p.
- National Research Council. 1995. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. fourth rev. Washington, D.C., National Academy of Sciences. 103-120 p. DOI: <https://doi.org/10.17226/4758>.
- Nogales, F; Ojeda, ML; Fenutría, M; Murillo, ML; Carreras, O. 2013. Role of selenium and glutathione peroxidase on development, growth, and oxidative balance in rat offspring. *Reproduction* 146(November 2015):659-667. DOI: <https://doi.org/10.1530/REP-13-0267>.
- Ogra, Y. 2016. Selenium metabolism. In *Hatfield, D.; Tsuji, PA; Gladyshev, VN; Schweizer, U (eds.)*. New York, Springer Nature. p. 628.
- Otzen, T; Manterola, C. 2017. Técnicas de muestreo sobre una población a estudio. *International Journal of Morphology* 35(1):227-232.
- Papp, LV; Lu, J; Holmgren, A; Khanna, KK. 2007. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxidants & Redox Signaling* 9(7):775-806. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1528>.
- Peters, T., Biamonte, GT; Doumas, B. 1982. Protein (total protein) in serum, urine, and cerebrospinal fluid; albumin in serum. In *Faulkner, WR; Meites, S (ed.)*. Washington, DC., American Association for Clinical Chemistry. p. 317-325.
- Pleban, PA; Munyani, A; Beachum, J. 1982. Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plasma and erythrocytes. *Clinical Chemistry* 28(2):311-316.
- Reynaga Rojas, M fernando. 2018. Sistemas de alimentación mixta e integral en la etapa de crecimiento de cuyes (*Cavia porcellus*) de las razas Perú, Andina e Inti. Tesis Ingeniero Zootecnista. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 60 p.
- Richardson, SM; Siciliano, PD; Engle, TE; Larson, CK; Ward, TL. 2006. Effect of selenium supplementation and source on the selenium status of horses. *Journal of Animal Science* 84(7):1742-1748. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2005-413>.
- Roman, M; Jitaru, P; Barbante, C. 2014. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics* 6(1):25-54. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3mt00185g>.

- Salinas, G. 2010. Bioquímica de la selenocisteína, el 21er aminoácido, y rol de las selenoproteínas en la salud humana. *Mensaje Bioquímico* 34:121-133.
- Schomburg, L; Schweizer, U. 2009. Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium (en línea). *Biochimica et Biophysica Acta* 1790(11):1453-1462. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.03.015>.
- Schrauzer, GN. 2003. The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine. *Advances in Food and Nutrition* 47(03):73-112. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(03\)47002-2](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(03)47002-2).
- Shreve, MR; Morrissey, PG; Brien, PJO. 1979. Lipid and steroid hydroperoxides as substrates for the non-selenium-dependent glutathione peroxidase. *Biochemical Journal* 177:761-763.
- Sirota, T V. 2010. Effect of selenium-containing products on antioxidant enzyme activity in the kidneys , liver , and blood of guinea pigs. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 149(4):412-415.
- Streckfuss, F; Hamann, I; Schomburg, L; Michaelis, M; Sapin, R; Klein, MO; Ko, J; Schweizer, U. 2005. Hepatic deiodinase activity is dispensable for the maintenance of normal circulating thyroid hormone levels in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 337:739-745. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.09.102>.
- Sunde, RA. 2012. Selenoproteins: hierarchy, requirements, and biomarkers. *In Hatfield, DL; Berry, MJ; Gladyshev, VN (eds.)*. New York, Springer. p. 598.
- Sunde, RA; Li, J; Taylor, RM. 2016. Insights for setting of nutrient requirements , gleaned by comparison of selenium status biomarkers in turkeys and chickens versus rats, mice, and lambs. *Advances in Nutrition* 7(6):1129-1138. DOI: <https://doi.org/10.3945/an.116.012872.copper>.
- Sunde, RA; Raines, AM. 2011. Selenium regulation of the selenoprotein and nonselenoprotein transcriptomes in rodents. *Advances in Nutrition* 2(2):138-150. DOI: <https://doi.org/10.3945/an.110.000240.138>.
- Suzuki, KT. 2005. Metabolomics of selenium : Se metabolites based on speciation studies. *Journal of Health Science* 51(2):107-114.
- Tappel, ME; Chaudiere, J; Tappel, ALL. 1982. Glutathione peroxidase activities of animal tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73(4):945-949.

- Taylor, RM; Bourget, VG; Sunde, RA. 2018. High dietary inorganic selenium has minimal effects on turkeys and selenium status biomarkers. *Poultry Science* 0:1-11. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pey413>.
- Taylor, RM; Sunde, RA. 2016. Selenoprotein transcript level and enzyme activity as biomarkers for selenium status and selenium requirements in the turkey (*Meleagris gallopavo*). *PLoS ONE* 11(3):1-19. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151665>.
- Thomson, CD. 2004. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status : a review. *European Journal of Clinical Nutrition* 58:391-402. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601800>.
- Toppo, S; Flohé, L; Ursini, F; Vanin, S; Maiorino, M. 2009. Catalytic mechanisms and specificities of glutathione peroxidases : variations of a basic scheme (en línea). *Biochimica et Biophysica Acta* 1790(11):1486-1500. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.04.007>.
- Vignale Lake, K. 2010. Evaluación de diferentes niveles de energía y proteína cruda en cuyes (*Cavia porcellus*) en crecimiento en crianza comercial. Tesis Magister Scientiae Nutrición. Lima, Perú. Universidad nacional Agraria La Molina. 70 p.
- Vindry, C; Ohlmann, T; Chavatte, L. 2018. Translation regulation of mammalian selenoproteins (en línea). *Biochimica et Biophysica Acta* 1862(11):2480-2492. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.05.010>.
- Wang, Y; Wang, H; Zhan, X. 2016. Effects of different DL -selenomethionine and sodium selenite levels on growth performance , immune functions and serum thyroid hormones concentrations in broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 100(3):431-439. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpn.12396>.
- Wang, Y; Xu, B. 2008. Effect of different selenium source (sodium selenite and selenium yeast) on broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 144:306-314. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.10.012>.
- Wang, Y; Zhan, X; Zhang, X. 2011. Comparison of different forms of dietary selenium supplementation on growth performance , meat quality , selenium deposition , and antioxidant property in broilers. *Biological Trace Element Research* 143:261-273. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8839-2>.
- Weekley, CM; Harris, HH. 2013. Which form is that? the importance of selenium speciation and

metabolism in the prevention and treatment of disease. *Chemical Society Reviews* 42(23):8870. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3cs60272a>.

White, PJ. 2016. Selenium accumulation by plants. *Annals of Botany* 117(2):217-235. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcv180>.

Wichtel, JJ; Craigie, AL; Freeman, DA; Williamson, NB. 1996. Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotropic function in dairy calves at pasture (en línea). *Journal of Dairy Science* 79(10):1865-1872. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76554-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76554-2).

Wong, JA. 2016. Incidencia del tiempo y adición de insumos sobre la homogeneidad de alimentos balanceados elaborados en mezcladores de cintas. Tesis Ingeniero Agroindustrial y de Agro Negocios. San Ignacio de Loyola. 120 p.

Yang, X; Hou, X; Xu, J; Guo, H; Yinq, C; Chen, X; Sun, X. 2006. Effect of selenium supplementation on activity and mRNA expression of type 1 deiodinase in mice with excessive iodine intake. *Biomedical and Environmental Sciences* 19(4):302-308.

Zoidis, E; Seremelis, I; Kontopoulos, N; Danezis, GP. 2018. Selenium-dependent antioxidant enzymes: actions and properties of selenoproteins. *Antioxidants* 7(5):66. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox7050066>.

X. Anexos

Anexo I. Especificaciones técnicas de insumos utilizados en la ración

a. Hoja técnica de selplex



SEL-PLEX[®] PR
Especificación del Producto

Descripción del Producto
SEL-PLEX PR es una seleniolevadura para ser utilizada en la alimentación animal.

Información de Etiqueta:

Análisis de Garantía		Ingredientes
Selenio	Mín. 1000 ppm	Carbonato de calcio y Seleniolevadura

Características Físicas:
Apariencia: SEL-PLEX PR es un polvo suelto de color marrón, con olor característico de la levadura.

Almacenamiento:
SEL-PLEX PR debe almacenarse en un envase cerrado en lugar fresco y seco a una temperatura entre 15 y 30°C y a un valor típico de 75% de humedad relativa. Bajo estas condiciones la durabilidad del producto es de 24 meses.

Empaque:
SEL-PLEX PR se encuentra disponible en bolsas de 1 kg y 25 kg.

Modo de Empleo:
Adicione SEL-PLEX PR para suplir los requerimientos de selenio en las dietas de todas especies animales.
Cerdos: Cerdas (preparto, lactancia), Cerdas (gestación), Iniciador, Crecimiento, Terminador
Mascotas: Perros y gatos
Pollos: Ponedoras y Parrilleros
Pavos: Iniciador y Crecimiento/Terminador
Bovinos: Becerros, Crecimiento, Lactantes, Secas
Conejos: Iniciador y Crecimiento
Patos
Caballos
Emplear 150 g/tonelada de alimento

Reg. S.EVESA N° A 16.07. N00 16
SEL-PLEX ®: RBA0310TB PE/RE/10 14AB/ RE/03 16 PF

ALL TECHNOLOGY PERÚ S.R.L.
Calle Los Calderos 208 • Urb. Vulcano-Ata • Lima • Perú • Tel: (51 1) 349- 5779 • Fax: (51 1) 348- 8317
www.altech.com

b. Hoja técnica de caseinato de calcio



Haverro Hoogwegt. Adding vision and value.

CALCIUM CASEINATE

A128E/07/16

TYPE	Calcium caseinate, food grade		
CHARACTERISTICS	Calcium caseinate is a roller dried milk protein		
TYPICAL ANALYSIS	Moisture	max.	6 %
	Protein (N x 6.38)	min.	88 %
	Fat	max.	1.5 %
	Ash	max.	4.5 %
	Lactose	max.	1 %
PHYSICAL PROPERTIES	Taste/flavour	typical, no off-flavours	
	Colour	creamy	
MICROBIOLOGICAL DATA	Total plate count	max.	10,000/g
	Salmonella	absent	in 25 g
	Yeasts & Moulds	max.	100/g
	Enterobacteriaceae	max.	10/g
APPLICATION	Calcium caseinate can be used in all kind of food applications for nutritional and stabilizing properties.		
PACKAGING AND STORAGE	Multi-ply paper bags with polyethylene innerliner, 25 kg each. Shelf life of the product is 24 months, when stored in a cool, dry place; temperature below 25°C, relative humidity below 65%.		

c. Hoja técnica de Solka Flocc



Date Issued: December 21, 2012
Supersedes: November 16, 2011

Specification Sheet for SOLKA-FLOC® 200 FCC

Solka-Floc® 200 FCC meets or exceeds the monograph requirements for Powdered Cellulose as published in the Food Chemicals Codex, 8th Edition.

Chemical Properties

Assay, % Cellulose	97.0 - 102.0	
pH (10% suspension)	5.0 - 7.5	
Loss on Drying, %	≤ 7.0	
Water Soluble Substances, %	≤ 1.5	
Ash (total), %	≤ 0.3	
Chloride, %	≤ 0.05	
Sulfur, %	≤ 0.01	
Lead, ppm	≤ 3.0	

Microbiological Properties

Standard Plate Count, per g	≤ 1,000
Yeast and Mold, per g	≤ 100
<i>Salmonella</i> (25g sample)	Negative
<i>Listeria Monocytogenes</i>	Negative
<i>E. Coli</i> (25g sample)	Negative
<i>S. Aureus</i> (25g sample)	Negative

Physical Properties

Appearance: Fine Creamy White Powder

Bulk Volume	On 40-Mesh	Thru 100-Mesh	Thru 200-Mesh
2.1 ± 0.3 cc/g	< 0.5%	≥ NLT 90%	≥ 75%

Recommended Labeling: Cellulose

CAS Number: 9004-34-6

The information contained herein is, to the best of our knowledge, correct. The data outlined and the statements made are intended only as a source of information. No warranty, expressed or implied, are made. On the basis of this information it is suggested that you consult the production laboratory prior to use in a finished product. The information contained herein should not be construed as permission for violation of patent rights. For additional information, please call 1-716-493-4040.
International Fiber Corporation
50 Bridge Street, North Tonawanda, NY 14120, USA.
www.ifcfiber.com

d. Hoja técnica de antox plus

Antioxidante en polvo para el alimento



Composición

Etoxiquina -----	21	CFR 573.380
Hidroxianisol Butilado -----	21	CFR 582.3169
Hidroxitolueno Butilado -----	21	CFR 582.3173
EDTA Disódico -----	21	CFR 513.360
Acido Fosforico -----	21	CFR582.1073
Acido Cítrico -----	21	CFR 582.1033

Indicaciones:

ANTOX PLUS se recomienda para aplicar en la formulación de todo tipo de alimentos balanceados para animales e ingredientes de alimentos como Harina de Carne, Harinas de pluma, tec. Dosificando de acuerdo a la sgte. Recomendación: . Alimentos con altos niveles de lípidos o que se deben de mantener almacenados por largos periodos (Alimentos de mascotas, p.e.), aplicar 250 gr/tonelada.

Características

ANTOX PLUS es un producto antioxidante en polvo especialmente desarrollado y formulado para adicionar en alimentos balanceados de animales.

ANTOX PLUS es un producto compatible con todos los ingredientes típicos que normalmente componen los alimentos balanceados para animales.

Administración y dosis

- . Dosificación General: -----125 gr/Ton.
- . Harinas de Carne y Harinas de pluma: -----250 gr/ Ton.
- . Premix Vitamínicos:
Dosificar hasta que el alimento -----Contenga 125 gr/ Ton.

Presentación:

Bolsas 25 kg. (Peso neto).

e. Hoja técnica de zoamicost



ZOAMICOST FEED TREAT PEZ00000243

HOJA TECNICA N° PEZ00000243

Fecha: 05/12/2018
Versión: 02
Elaborado por: CC/MA
Aprobado por: CC/BR

DESCRIPCIÓN

Zoamicost Feed Treat es inhibidor de hongos en polvo para el tratamiento y conservación de alimentos por periodos prolongados

INGREDIENTES

Dipropionato de amonio, ácido propiónico, ácido acético, carbonato de calcio.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

Apariencia : Polvo
Color : Crema a Marrón
Densidad Aparente a 20°C (g/ml) : 0,300 – 0,650

DOSIS

Se recomienda entre 0.5 Kg a 2,0 Kg gramos por tonelada de alimento balanceado.

PRESENTACION

Sacos de 25 Kg netos.

ALMACENAMIENTO

Vida útil estimada : Dieciocho (18) meses desde la fecha de fabricación en el envase original cerrado.
Temperatura de Almacenamiento : En su envase original, a temperatura ambiente, protegido de la luz y alejado del calor.
Consideraciones especiales : Mantener en un sitio fresco alejado del calor, humedad en exceso y del alcance de los niños.

CC-FR-051
Realizado por: ACC
Revisado por: JCC
Aprobado por: JCC
Fecha: 02/02/2015

f. Hoja técnica de Rovimix

ROVIMIX STAY C-35 (vitamina C) tiene una actividad equivalente a ácido ascórbico mínima de 35%.

DESCRIPCION: ROVIMIX STAY C-35 (vitamina C) tiene la apariencia de un polvo color blanco a amarillento. Contiene una mezcla de ésteres tri, di y monofosfato de L-ácido ascórbico. Tiene excelente fluidez y es de fácil manejo incluso en sistemas de dosificación automática.

USO EN: Aves y porcinos.

BENEFICIOS: ROVIMIX STAY C-35 (vitamina C) ha sido especialmente diseñado para ser usado como una fuente estabilizada de vitamina C en alimento. Puede ser libremente usado en todo tipo de premezclas y alimentos. Goza de gran estabilidad en alimentos peletizados o extruidos.

ROVIMIX STAY C-35 (vitamina C), siempre y cuando conserve sus condiciones originales de empaque, podrá ser almacenado en un lugar fresco y seco hasta por 12 meses.

ROVIMIX STAY C-35 (vitamina C) puede ser usado en la formulación de piensos para todo tipo de animales, y tiene un comportamiento excelente incluso cuando es incluido como fuente de vitamina C para especies relacionadas con acuicultura. La estructura química del producto (ésteres de ácido ascórbico), protegen la vitamina C de ser destruida por oxidación.

La suplementación de vitamina C ha demostrado ser necesaria en animales en producción (cerdos y aves), así como en otras especies durante toda su vida (acuicultura). Es también benéfica para todas las especies, durante periodos de todo tipo de estrés y para reproducción normal.

En aves y cerdos ha probado ser benéfica para lograr superar los bajos rendimientos y altas mortalidades relacionadas con estrés.

MODO DE EMPLEO: En premezclas y alimentos compuestos.

PRESENTACION: Caja de cartón con 25 kg.

Importado y distribuido por:

ROCHE VITAMINAS

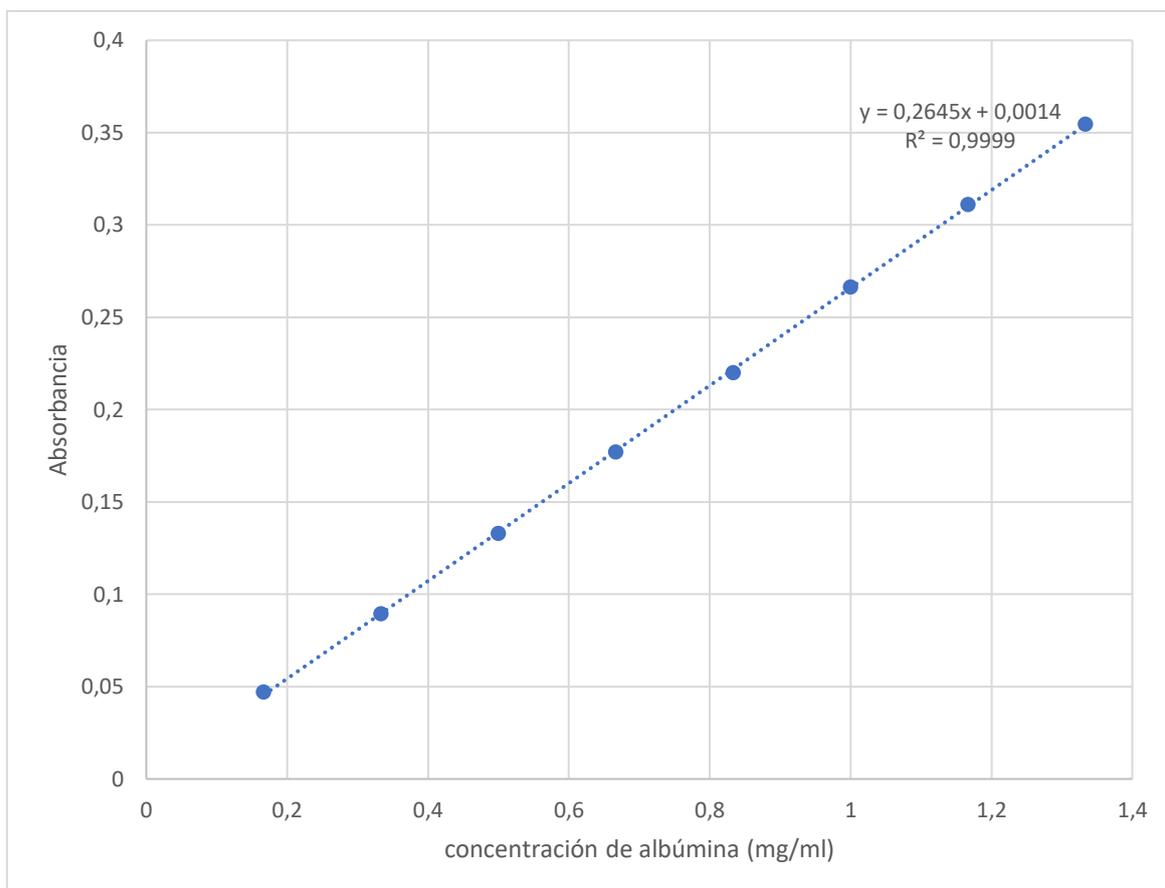
Km 22.5 Carretera El Salto Jalisco

45860 Guadalajara, Jal.

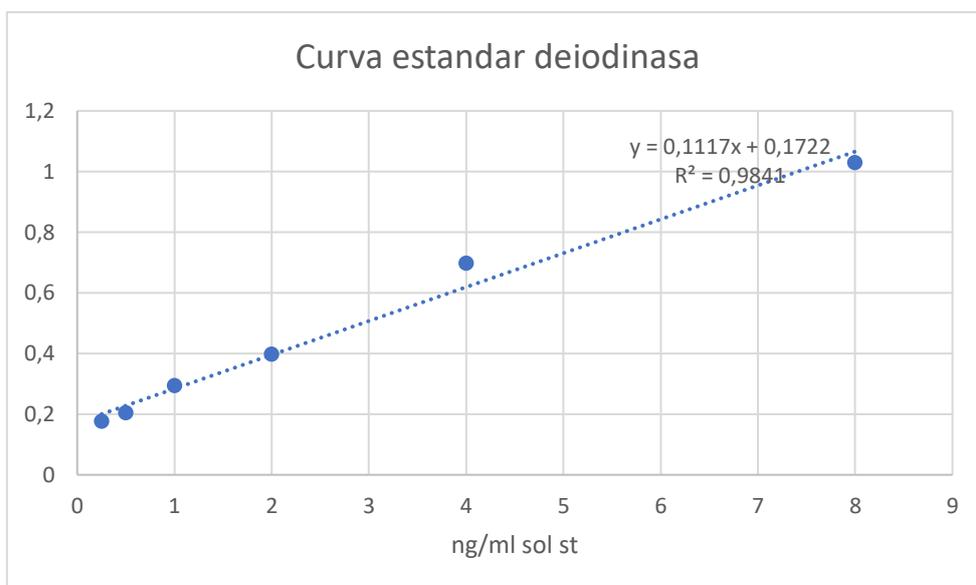
Elaborado por: F. Hoffman-La Roche & Co. Ltd., Suiza

Reg. SAGARPA-Q-7688-062

Anexo II. Curva estándar de albúmina para determinación de proteínas (método Biuret)



Anexo III. Curva estándar para análisis de deiodinasa



Anexo IV. Pesos de los animales en los tres tratamientos durante el período experimental

Tratamiento	repetición	inicio	semana1	semana2	semana3	semana4	semana5
T1	1	365	395,3	483,1	603,7	770	914
	2	406,2	402,8	517,3	612,6	733,3	842
	3	430,5	478,4	623,1	789,6	926	1062
	4	406	388,4	486,9	614,7	759,3	697
	5	387,4	445,8	501	584,1	646	600
	6	357	433,3	492,5	612	761,4	958
	7	455,8	508,7	590,8	689,5	783,8	867
	8	479,3	536,3	663,4	833,1	999,5	1138
	9	415	451,1	582,1	775,6	941,5	1103
	10	362	381,4	493,5	618	720,8	845
	11	404,7	428,8	535,7	641,5	818,8	896
T2	1	366,5	424,3	548,6	625	701,2	583
	2	402,2	445,4	566,5	710,9	817	943
	3	432	487,3	587,7	760,2	891,9	1058
	4	435,9	517,8	658,1	736,6	882,4	1032
	5	381,8	460,2	632,9	815,2	970,8	1138
	6	360,8	413,7	520,4	665,5	798,1	916
	7	377	397	437,6	523,9	643	778
	8	440,7	552,9	674,1	844,5	1025	1162
	9	475,9	510,2	646,3	636,6	764	862
	10	363,2	391,9	497,8	603,9	736,3	816
	11	408,2	452,7	578	742,1	920	1079
T3	1	368	427,9	472,7	606,1	778,9	900
	2	400,5	430,7	557	585,7	659,5	747
	3	434,8	520,6	575,4	697	867,5	939
	4	402,9	389,4	502,5	502,8	617,3	498
	5	385,9	420,5	531,1	654,6	760,2	875
	6	370,6	420,6	565,5	710,5	921,7	1049
	7	469,2	545	661,1	774,7	909,4	1054
	8	410,7	459,2	545,7	602,3	732,8	825
	9	471,2	481,6	586,5	735,8	747,4	852
	10	419	457,3	511,9	599	719,2	838
	11	365	456	539,8	648	767,4	873

Anexo V. Ganancia de peso, consumo y conversión alimenticia acumulada

tratamiento	repetición	peso inicial	peso final	ganancia total	consumo total	conversión Alimenticia	consumo diario	ganancia diaria
T1	1	365	914	549	1372,7	2,5	40,4	16,1
	2	406,2	842	435,8	1244,2	2,9	36,6	12,8
	3	430,5	1062	631,5	1763,87	2,8	51,9	18,6
	4	406	697	291	1062,2	3,7	31,2	8,6
	5	387,4	600	212,6	957,9	4,5	28,2	6,3
	6	357	958	601	1437,1	2,4	42,3	17,7
	7	455,8	867	411,2	1309,3	3,2	38,5	12,1
	8	479,3	1138	658,7	1771,5	2,7	52,1	19,4
	9	415	1103	688	1710,4	2,5	50,3	20,2
	10	362	845	483	1327,5	2,7	39,0	14,2
	11	404,7	896	491,3	1387,7	2,8	40,8	14,5
T2	1	366,5	583	216,5	1192,6	5,5	35,1	6,4
	2	402,2	943	540,8	1409	2,6	41,4	15,9
	3	432	1058	626	1729,4	2,8	50,9	18,4
	4	435,9	1032	596,1	1876	3,1	55,2	17,5
	5	381,8	1138	756,2	2030,2	2,7	59,7	22,2
	6	360,8	916	555,2	1518,8	2,7	44,7	16,3
	7	377	778	401	1147,2	2,9	33,7	11,8
	8	440,7	1162	721,3	1867,9	2,6	54,9	21,2
	9	475,9	862	386,1	1349,5	3,5	39,7	11,4
	10	363,2	816	452,8	1325,5	2,9	39,0	13,3
	11	408,2	1079	670,8	1820,5	2,7	53,5	19,7
T3	1	368	900	532	1332,9	2,5	39,2	15,6
	2	400,5	747	346,5	996,8	2,9	29,3	10,2
	3	434,8	939	504,2	1402,7	2,8	41,3	14,8
	4	402,9	498	95,1	838,9	8,8	24,7	2,8
	5	385,9	875	489,1	1530,5	3,1	45,0	14,4
	6	370,6	1049	678,4	1695,4	2,5	49,9	20,0
	7	469,2	1054	584,8	1619,3	2,8	47,6	17,2
	8	410,7	825	414,3	1160,9	2,8	34,1	12,2
	9	471,2	852	380,8	1265,7	3,3	37,2	11,2
	10	419	838	419	1273,7	3,0	37,5	12,3
	11	365	873	508	1375,5	2,7	40,5	14,9

Anexo VI. Actividad enzimática de glutatión peroxidasa en: plasma(mU/mg proteína), hígado(mU/mg proteína) , riñón (mU/mg proteína) y eritrocitos (mU/mg hemoglobina)

Tratamiento	Repetición	Glutatión Peroxidasa			
		Plasma	Hígado	Riñón	Eritrocitos
		mU/mg	mU/mg	mU/mg	mU/mg
T1	1	28,03	22,20	52,98	228,25
	2	33,37	15,91	48,35	200,96
	3	46,03	21,18	43,42	209,78
	4	36,42	17,29	39,83	231,64
	5	44,22	21,57	43,04	225,08
	6	29,13	20,67	57,24	243,62
	7	57,47	23,15	53,97	220,99
	8	60,13	24,33	62,37	
	9	65,91	23,11	60,25	
	10	56,61	22,94	67,72	
	11	36,05	26,24	53,23	
T2	1	18,54	23,82	48,42	268,93
	2	34,23	27,59	54,82	247,39
	3	46,31	22,94	42,34	225,08
	4	48,59	17,17	45,83	236,33
	5	50,93	18,31	46,74	351,69
	6	45,89	21,21	54,98	247,86
	7	37,37	17,81	54,55	336,04
	8	33,32	27,80	70,84	
	9	17,21	23,48	63,11	
	10	51,40	27,49	62,71	
	11	59,26	21,53	68,50	
T3	1	39,13	27,18	63,62	261,09
	2	49,25	25,09	64,91	301,48
	3	35,26	21,55	60,03	267,55
	4	37,54	18,35	44,15	280,57
	5	24,50	27,54	62,24	273,63
	6	39,39	22,82	59,04	304,28
	7	41,64	19,07	62,40	240,38
	8	45,14	21,11	59,68	
	9	32,98	14,24	41,59	
	10	44,47	25,93	53,91	
	11	45,69	24,24	56,21	

Anexo VII. Actividad de tioredoxina reductasa (mU/mg proteína) y contenido de deiodinasa (pg/mg proteína)

Tratamiento	Repetición	Tioredoxina reductasa mU/mg prot	Deiodinasa pg/mg prot
T1	1	1,66	90,27
	2	1,76	120,77
	3	1,83	123,86
	4	1,59	76,39
	5	1,83	111,22
	6	1,77	103,50
	7	1,67	107,47
	8	2,80	80,90
	9	2,25	142,86
	10	3,90	117,94
	11	1,80	65,98
T2	1	4,86	186,26
	2	3,62	133,48
	3	2,93	160,63
	4	1,21	142,66
	5	1,49	96,68
	6	2,43	104,07
	7	2,67	129,46
	8	1,76	224,72
	9	1,75	107,75
	10	1,95	138,12
	11	3,20	123,86
T3	1	2,21	176,43
	2	2,84	187,66
	3	2,66	192,11
	4	2,96	135,08
	5	3,85	158,57
	6	2,46	138,93
	7	2,96	195,01
	8	2,82	143,88
	9	1,81	159,60
	10	2,65	230,97
	11	3,35	139,48

Anexo VIII. Concentración de selenio en sangre, músculo y cuerpo (mg/kg peso fresco)

Tratamiento	Repetición	Se sangre mg/kg	Se músculo mg/kg	Se cuerpo mg/kg
T1	1	0,0625	0,101	0,068
	2	0,075	0,0885	0,0695
	3	0,081	0,0875	0,0695
	4	0,0775	0,0785	0,084
	5	0,0555	0,089	0,0795
	6	0,04	0,109	0,0535
	7	0,063	0,085	0,068
	8	0,089	0,094	0,1
	9	0,073	0,1015	0,058
	10	0,041	0,097	0,0525
	11	0,0485	0,122	0,083
T2	1	0,085	0,078	0,0785
	2	0,085	0,101	0,068
	3	0,098	0,0795	0,1375
	4	0,0795	0,0745	0,074
	5	0,1	0,1225	0,0615
	6	0,0875	0,1215	0,1115
	7	0,06	0,0665	0,144
	8	0,076	0,0735	0,0915
	9	0,061	0,1245	0,0735
	10	0,094	0,112	0,064
	11	0,116	0,1475	0,084
T3	1	0,095	0,106	0,0765
	2	0,0665	0,072	0,064
	3	0,0685	0,109	0,091
	4	0,0785	0,122	0,0895
	5	0,084	0,15	0,11
	6	0,101	0,135	0,112
	7	0,0895	0,1515	0,0995
	8	0,0775	0,126	0,086
	9	0,12	0,112	0,0935
	10	0,09	0,105	0,1055
	11	0,085	0,1045	0,111