

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

**DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, PRODUCCIÓN ANIMAL,
BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**



TESIS DOCTORAL

**APORTACIONES AL ESTUDIO
DE LA ENFERMEDAD DEL MÚSCULO BLANCO
EN EL DROMEDARIO ("CAMELUS DROMEDARIUS")**

JUAN ALBERTO CORBERA SÁNCHEZ

Las Palmas de Gran Canaria, 2000

4/2000-01

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
UNIDAD DE TERCER CICLO Y POSTGRADO

Reunido el día de la fecha, el Tribunal nombrado por el Excmo. Sr. Rector Magfco. de esta Universidad, el/a aspirante expuso esta TESIS DOCTORAL.

Terminada la lectura y contestadas por el/a Doctorando/a las objeciones formuladas por los señores miembros del Tribunal, éste calificó dicho trabajo con la nota de "Sobresaliente cum laude", por *mayoría*.

Las Palmas de Gran Canaria, a 3 de noviembre de 2000.

El/a Presidente/a: Dr.D. Manuel Rodríguez Sánchez,

El/a Secretario/a: Dra.Dña. Candelaria Juste de Santa-Ana,

El/a Vocal: Dr.D. Antonio Jiménez Redondo,

El/a Vocal: Dr.D. Juan José Ramos Antón,

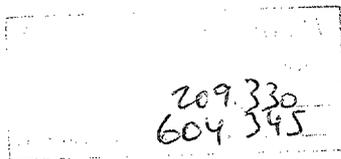
El/a Vocal: Dr.D. Jorge Orós Montón,

El Doctorando: D. Juan Alberto Corbera Sánchez,

**UNIVERSIDAD
DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

FACULTAD DE VETERINARIA

**DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, PRODUCCIÓN
ANIMAL, BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS**



**APORTACIONES AL ESTUDIO DE LA
ENFERMEDAD DEL MÚSCULO BLANCO EN
EL DROMEDARIO (*Camelus dromedarius*).**

Tesis Doctoral

**Juan Alberto Corbera Sánchez
Las Palmas de Gran Canaria, 2000**



**UNIVERSIDAD DE
LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

FACULTAD DE VETERINARIA

**DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, PRODUCCIÓN
ANIMAL, BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS**



**APORTACIONES AL ESTUDIO DE LA
ENFERMEDAD DEL MÚSCULO BLANCO EN
EL DROMEDARIO (*Camelus dromedarius*).**

Director:

A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke.

Dr. Carlos J. Gutiérrez Cabrera

Codirector:

A handwritten signature in black ink, featuring a large, sweeping loop and a long horizontal stroke.

Dr. José Alberto Montoya Alonso

Memoria que presenta:

A handwritten signature in black ink, with a prominent vertical stroke and several loops.

D. Juan Alberto Corbera Sánchez
para acceder al grado de Doctor en Veterinaria

Las Palmas de Gran Canaria, 2000.

D. Carlos Gutiérrez Cabrera, Profesor Titular del área de conocimiento de Medicina y Cirugía Animal del Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Informa:

Que D. Juan Alberto Corbera Sánchez, licenciado en Veterinaria, ha realizado bajo mi dirección y asesoramiento el presente trabajo titulado: "APORTACIONES AL ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD DEL MÚSCULO BLANCO EN EL DROMEDARIO (*Camelus dromedarius*)", el cual reúne las condiciones exigidas por la legislación vigente para su presentación con el fin de optar al grado de doctor en Veterinaria.

En Las Palmas de Gran Canaria a 31 de Julio de 2000.

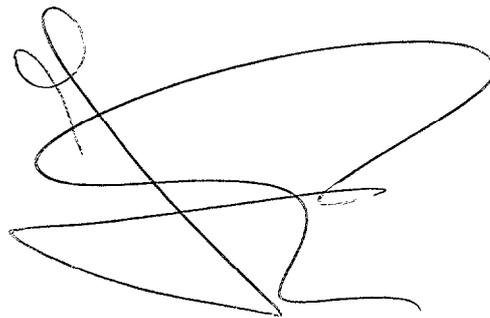
A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and lines, positioned below the date.

D José Alberto Montoya Alonso, Catedrático del área de conocimiento de Medicina y Cirugía Animal del Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Informa:

Que D. Juan Alberto Corbera Sánchez, licenciado en Veterinaria, ha realizado bajo mi dirección y asesoramiento el presente trabajo titulado: "APORTACIONES AL ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD DEL MÚSCULO BLANCO EN EL DROMEDARIO (*Camelus dromedarius*)", el cual reúne las condiciones exigidas por la legislación vigente para su presentación con el fin de optar al grado de doctor en Veterinaria.

En Las Palmas de Gran Canaria a 31 de Julio de 2000.

A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and a long horizontal stroke at the bottom, characteristic of the signature of José Alberto Montoya Alonso.

A Mónica

A mis padres

A mis hermanas

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Introducción	2
1.2. Objetivos	4
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Minerales	6
2.2. El selenio	9
2.3. Las selenioproteínas	10
2.3.1. La glutatión peroxidasa	10
2.3.2. Otras selenioproteínas	12
2.4. La vitamina E	14
2.5. Enfermedades relacionadas con la carencia de selenio y/o vitamina E	17
2.5.1. Enfermedad del músculo blanco o distrofia muscular nutricional	19
2.5.1.1. Definición y etiología	19
2.5.1.2. Fisiopatología	23
2.5.1.3. Epidemiología	25
2.5.1.3.1. Factores que dependen del suelo	25
2.5.1.3.2. Factores que dependen de las plantas	27
2.5.1.3.3. Factores que dependen de la estación del año y del clima	28
2.5.1.3.4. Factores que dependen de la dieta	29
2.5.1.3.5. Factores que dependen del estado reproductivo	30
2.5.1.3.6. Factores que dependen de la edad	30
2.5.1.3.7. Factores que dependen del sexo	31
2.5.1.3.8. Factores que dependen de la raza	31
2.5.1.3.9. Otros factores predisponentes	32
2.5.1.3.10. La enfermedad en distintas zonas geográficas de España	32
2.5.1.4. Sintomatología y cuadro clínico	33
2.5.1.4.1. Forma congénita o fetal	33
2.5.1.4.2. Forma extrauterina, retardada o adquirida	34
A. Forma músculo-esquelética	34

2.5.2.8. Retenciones placentarias	70
2.5.2.9. Dermatitis	71
2.5.2.10. Diarrea	71
2.5.2.11. Menor productividad	72
2.6. Enfermedades relacionadas con la intoxicación por selenio	72
3. MATERIALES Y MÉTODOS	74
3.1. Animales	75
3.1.1. Distribución por islas y granjas	76
3.1.2. Distribución por sexos	81
3.1.3. Distribución por edades	81
3.1.4. Distribución relacionando edad y sexo de los animales	83
3.1.5. Distribución según alimentación y granjas	85
3.1.6. Distribución según estado reproductivo	87
3.2. Examen laboratorial	88
3.2.1. Toma de muestras	88
3.2.1.1. Toma de sangre y conservación	88
3.2.2. Análisis de las muestras	88
3.2.2.1. Determinación de la hemoglobina	88
3.2.2.2. Determinación de la actividad de la GSH-Px	89
3.2.2.3. Determinación de la concentración de selenio sérico	89
3.3. Pruebas de inmunidad de tipo celular	90
3.3.1. Animales	90
3.3.2. Prueba de hipersensibilidad retardada	91
3.3.3. Estudio histopatológico	92
3.4. Análisis estadístico	92
4. RESULTADOS	93
4.1. Resultados de la concentración de hemoglobina	94
4.1.1. Resultados de la hemoglobina en la población	94
4.1.2. Resultados de la hemoglobina según los sexos	95
4.1.3. Resultados de la hemoglobina según la edad	96

4.1.4. Resultados de la hemoglobina según sexos y edades	98
4.1.5. Resultados de la hemoglobina según alimentación y granjas	100
4.2 Resultados de la actividad de la GSH-Px	101
4.2.1. Resultados de la GSH-Px en toda la población de dromedarios	101
4.2.2. Rangos de referencia de la GSH-Px para toda la población	103
4.2.3. Resultados de la GSH-Px según sexos	104
4.2.3.1. Rangos de referencia de la GSH-Px según sexos	106
4.2.4. Resultados de la GSH-Px según edades	107
4.2.4.1. Rangos de referencia de la GSH-Px según edades	112
4.2.5. Resultados de la GSH-Px según edades y sexos	113
4.2.6. Resultados de la GSH-Px según tipo de alimentación	116
4.2.7. Resultados de la GSH-Px según tipo de alimentación y granjas	119
4.2.8. Resultados de la GSH-Px según tipo de alimentación y sexos	121
4.2.9. Resultados de la GSH-Px según tipo de alimentación y edades	123
4.2.9.1. Resultados de la GSH-Px según alimentación y edades en el grupo de alimentación A	123
4.2.9.2. Resultados de la GSH-Px según alimentación y edades en el grupo de alimentación B	125
4.2.9.3. Resultados de la GSH-Px según alimentación y edades en el grupo de alimentación C	127
4.2.10. Resultados de la GSH-Px según alimentación, sexos y edades	129
4.2.10.1. Resultados de la GSH-Px según sexos y edades en el grupo de alimentación A	129
4.2.10.2. Resultados de la GSH-Px según sexos y edades en el grupo de alimentación B	132
4.2.10.3. Resultados de la GSH-Px según sexos y edades en el grupo de alimentación C	135
4.2.11. Resultados de la GSH-Px según el estado reproductivo	137
4.2.12. Resultados según estado reproductivo y alimentación	139
4.2.13. Resultados de la GSH-Px según sexo, estado reproductivo y edades	141
4.3. Resultados de la correlación entre el selenio sérico y la actividad sanguínea de la GSH-Px	142
4.4. Resultados de las pruebas de inmunidad de tipo celular	143
4.4.1. Resultados de la actividad de la GSH-Px	143

4.4.1.1. Resultados de la GSH-Px según los grupos de tratamiento	143
4.4.1.1.1. Grupo Se	143
4.4.1.1.2. Grupo E	144
4.4.1.1.3. Grupo control	145
4.4.1.2. Comparación de la actividad de la GSH-Px antes y después del tratamiento	146
4.4.1.2.1. Antes del tratamiento	146
4.4.1.2.2. Después del tratamiento	147
4.4.2. Resultados de las pruebas de inmunidad celular in vivo	148
4.4.2.1. Resultados de las pruebas de hipersensibilidad intradérmica por grupos de tratamiento	148
4.4.2.1.1. Grupo Se	148
4.4.2.1.2. Grupo E	150
4.4.2.1.3. Grupo Control	151
4.4.2.2. Resultados de las pruebas de hipersensibilidad intradérmica según sexos	152
4.4.2.3. Resultados medios de las pruebas de hipersensibilidad intradérmica según grupos de tratamiento	153
4.4.2.4. Resultados de la histopatología	154
5. DISCUSIÓN	156
5.1. Características de la población	157
5.2. Resultados de la hemoglobina	158
5.3. Resultados de la actividad de la GSH-Px	159
5.3.1. Resultados de la GSH-Px en toda la población de dromedarios	159
5.3.2. Rangos de referencia para toda la población	161
5.3.3. Resultados de la GSH-Px según sexos y edades	162
5.3.4. Resultados de la GSH-Px según las granjas	164
5.3.5. Resultados de la GSH-Px según alimentación	164
5.4. Resultados de la correlación del selenio sérico con la actividad sanguínea de la GSH-Px	167
5.5. Resultados de las pruebas de hipersensibilidad retardada	168
5.6. Resultados de la histopatología	169

6. CONCLUSIONES	172
7. RESUMEN	175
8. SUMMARY	177
9. AGRADECIMIENTOS	179
10. ICONOGRAFÍA	181
11. BIBLIOGRAFÍA	185

ABREVIATURAS UTILIZADAS:

AGPI = Ácidos grasos poliinsaturados

ALT = Alanino aminotransferasa

AST = Aspartato aminotransferasa

CK = Creatin-kinasa

DT = Desviación típica

EMB = Enfermedad del músculo blanco

FA = Fosfatasa alcalina

γ -GT= Gamma glutamiltransferasa

GSH-Px = Glutación peroxidasa

GSH-Px HL = Glutación peroxidasa de los hidroxiperóxidos lipídicos

Hb = Hemoglobina

LDH = Lactato deshidrogenasa

MS = Materia seca

NADP = Dinucleótido de nicotinamida y de adenina fosfato

ppm = partes por millón

p.v. = peso vivo

rpm = revoluciones por minuto

UI = Unidades internacionales

INTRODUCCIÓN

1.1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad del músculo blanco (EMB) o miodistrofia nutricional es una enfermedad metabólica producida por la carencia de selenio y/o vitamina E en la dieta. La enfermedad resulta especialmente importante para las especies rumiantes y está descrita en prácticamente todos los países del mundo.

El selenio y la vitamina E actúan de forma sinérgica e intervienen en la formación de enzimas, principalmente la glutatión peroxidasa (GSH-Px), diversas proteínas (selenioproteínas) y prostaglandinas, que actúan como antioxidantes y mantienen íntegro el sistema inmune y la actividad reproductora. Así, además de la miodistrofia característica, la carencia de selenio y/o vitamina E produce una alteración en la función inmune, produciendo una mayor susceptibilidad a contraer enfermedades infecciosas y parasitarias, un retraso en el crecimiento, una menor protección frente al cáncer, a las enfermedades de tipo cardiovascular y a la acción de ciertos tóxicos o drogas.

Esta enfermedad, de presentación clínica o subclínica, produce altas tasas de morbilidad y mortalidad en los rebaños, con los consiguientes perjuicios económicos para el sector ganadero. La EMB ha sido descrita en muchas regiones

de nuestro país, incluida las Islas Canarias. En la isla de Gran Canaria nuestro equipo de investigación realizó un estudio sobre los niveles de la enzima GSH-Px en el caprino, concluyendo que un porcentaje importante de la población se encontraba en niveles marginales o deficientes de GSH-Px (Gutiérrez *et al.*, 1994). En este sentido, las Islas Canarias, de origen volcánico y formación relativamente reciente, presentan zonas de alto riesgo de padecimiento de la enfermedad al contener azufre en sus suelos, mineral que forma un compuesto químico insoluble con el selenio, inhibiendo así, su captación por las raíces de las plantas.

Pero la EMB no sólo afecta a los rumiantes domésticos sino que también puede afectar a los rumiantes salvajes, especialmente aquellos mantenidos en cautividad. Tal es el caso del dromedario (*Camelus dromedarius*), donde la enfermedad fue diagnosticada por primera vez en 1996 por Kovác *et al.* en ejemplares mantenidos en el zoológico de Kosice, Eslovenia.

En 1997 nuestro equipo de investigación, en colaboración con la Unidad de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria, tuvo la oportunidad de estudiar 2 dromedarios referidos a nuestro servicio clínico con sospecha de la enfermedad. Tras los estudios clínicos y lesionales se diagnosticó EMB en ambos animales, a pesar de que provenían de explotaciones diferentes, una situada en la isla de Tenerife y otra en Fuerteventura. Estos hallazgos supusieron el origen de la presente Tesis Doctoral en un intento de avanzar en los aspectos fundamentalmente clínicos de la enfermedad en una especie donde, en base a la literatura científica disponible, sólo existían las referencias clínicas citadas de Kovác *et al.* (1996), así como una correlación entre los niveles de selenio sanguíneo y los niveles de GSH-Px que describieron El-Magawry *et al.* (1988) y Hamliri *et al.* (1990-b) utilizando tamaños muestrales muy reducidos (20 y 53 animales, respectivamente)

Así, para la presente Tesis Doctoral se plantearon los siguientes

1.2. OBJETIVOS:

1. Establecer los valores normales, marginales y deficientes de GSH-Px de referencia para los dromedarios.
2. Correlacionar los valores de GSH-Px respecto a diferentes variables (alimentación, edad, sexo y estadio productivo de los animales).
3. Determinar la correlación entre los valores de selenio sérico y de la enzima GSH-Px en el dromedario.
4. Valorar la respuesta inmunológica de tipo celular en dromedarios suplementados con selenio o vitamina E respecto de animales no suplementados.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. MINERALES

Existen varios sistemas de clasificación de los minerales. Quizá el más utilizado sea el sistema basado en criterios cuantitativos, que los distribuye de acuerdo con el contenido de los mismos en el animal; según esto, Georgievskii *et al.* (1982) los clasificaron en:

A.- Macrominerales:

Este grupo está constituido por el calcio, fósforo, potasio, sodio, azufre, cloro y magnesio. Estos elementos se encuentran en concentraciones entre el 9% y el 0.01% del peso corporal.

B.- Microminerales:

Este grupo está compuesto por aquellos elementos cuya concentración se encuentra entre 0.009% y 0.00001% del peso corporal y lo constituyen el hierro, zinc, flúor, estroncio, molibdeno, cobre, bromo, silicio, cesio, yodo, manganeso, aluminio, plomo, cadmio, boro y rubidio.

C.- Oligoelementos o elementos traza:

Estos elementos se encuentran en concentraciones inferiores a 0.000009% del peso corporal, y son el **selenio**, cobalto, vanadio, cromo, arsénico, níquel, litio, bario, titanio, plata, estaño, berilio, galio, germanio, mercurio, escandio, circonio, bismuto, antimonio, uranio, torio y rodio.

Por otro lado, si se utiliza el sistema de clasificación basado en las funciones biológicas, los minerales se dividen en tres grupos de elementos esenciales:

- Los llamados biogénicos o bióticos (calcio, fósforo, potasio, cloro, sodio, zinc, molibdeno, **selenio**, azufre, magnesio, hierro, cobre, cobalto, manganeso y yodo).
- Los elementos que probablemente sean esenciales (flúor, silicio, titanio, vanadio, cromo, níquel, arsénico, bromo, estroncio y cadmio).
- Los elementos cuya función sea desconocida (Georgievskii *et al.*, 1982).

Así, Underwood (1981) utilizó este último sistema de clasificación, estableciendo 22 elementos minerales esenciales para las formas superiores de vida, 7 macrominerales (calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, magnesio y azufre) y 15 microminerales u oligoelementos (hierro, yodo, zinc, cobre, manganeso, cobalto, molibdeno, **selenio**, cromo, estaño, vanadio, flúor, silicio, níquel y arsénico). En cualquiera de los sistemas de clasificación que se emplee, el selenio queda encuadrado entre los oligoelementos de carácter esencial.

Según Underwood (1981), los minerales realizan tres tipos de funciones:

- Actuar como componentes estructurales de órganos y tejidos corporales (calcio, fósforo, magnesio, flúor, silicio y azufre).
- Actuar como componentes de fluidos y tejidos corporales en forma de electrolitos que intervienen en el mantenimiento de: la presión osmótica, el equilibrio ácido-básico, la permeabilidad de las membranas y la irritabilidad tisular (sodio, potasio, cloro, calcio y magnesio).
- Actuar como catalizadores en sistemas enzimáticos y hormonales, en forma de componentes integrales y específicos de la estructura de metaloenzimas, o como activadores menos específicos en tales sistemas (calcio, fósforo, hierro, cobre, zinc, manganeso, molibdeno, **selenio** y yodo).

La concentración de los minerales debe mantenerse dentro de unos límites bastante estrechos, o márgenes normales, para salvaguardar la integridad funcional y estructural de los tejidos y para que se mantengan inalterados el crecimiento, la salud y la productividad del animal (Underwood, 1981).

Las necesidades minerales de los animales dependen de la especie o raza, de las características productivas relacionadas con la dieta, el medio ambiente y los criterios de adecuación empleados (Underwood, 1981). Además, la concentración de nutrientes requeridos en la dieta para mantener la salud y la productividad se ve afectada por el estado fisiológico del animal (Latshaw, 1991).

En la mayoría de las circunstancias, los animales domésticos obtienen una elevada proporción de sus nutrientes minerales de los alimentos y forrajes que consumen. Por esta razón, los factores que determinan el contenido mineral de las porciones vegetativas de las plantas y de sus semillas son los mismos que determinan básicamente los consumos minerales de los animales domésticos (Underwood, 1981).

Las deficiencias de oligoelementos o elementos traza que más aparecen en los sistemas de producción ganadera actuales son las de cobre, cobalto, **selenio** y en menor medida de iodo, manganeso y zinc (Parkins *et al.*, 1994).

Por otra parte, las deficiencias de minerales constituyen un modelo interesante para comprender la patología de la nutrición en el hombre; las deficiencias clínicamente graves en los animales constituyen un punto de partida para comprender las deficiencias en minerales de forma subclínica en humanos (Lamand, 1991).

2.2. EL SELENIO

El elemento selenio fue descubierto por el químico sueco Berzelius en 1818, al que denominó con el nombre griego de la luna, "Selene". Aunque de gran interés para los químicos, su importancia para la biología no se reveló hasta 1930, cuando fue reconocido como agente causal de la "enfermedad del álcali" (se estableció la relación entre suelos alcalinos y la riqueza en selenio) en zonas de las grandes llanuras de los Estados Unidos. Esta enfermedad fue descrita como una intoxicación en los animales que pastoreaban en zonas de suelos seleníferos o con alto contenido en selenio, y donde las plantas suelen tener concentraciones superiores a 5 ppm. (Underwood, 1981; Oldfield, 1987; Oldfield, 1989; Erskine *et al.*, 1989).

En 1957, Schwartz y Foltz (citados en Oldfield, 1987 y Maas, 1990), describieron en ratas, por primera vez, la deficiencia experimental de selenio que provocaba una necrosis hepática y que se podía prevenir mediante la adición de vitamina E y selenio en la dieta. De la misma forma, Schwartz *et al.* (1957) y Patterson *et al.* (1957) -citados en MacPherson, 1994-, demostraron que la adición de selenio a dietas deficientes utilizadas en pollos prevenía la aparición de la diátesis exudativa. En el mismo año de 1957, Mills (citado en Erskine *et al.*, 1989) demostró que la enzima GSH-Px, en presencia de glutatión reducido, protegía a los eritrocitos del daño oxidativo y la subsecuente hemólisis cuando éstos se incubaban en peróxido de hidrógeno. Sin embargo, no fue hasta el año 1973, cuando Rotruck *et al.* determinaron el papel bioquímico del selenio como componente esencial de la enzima GSH-Px (Erskine *et al.*, 1989; Maas, 1990).

2.3. LAS SELENIOPROTEÍNAS

2.3.1. LA GLUTATIÓN PEROXIDASA (GSH-Px)

El glutatión es un tripéptido compuesto de cisteína, ácido glutámico y glicina; pasa fácilmente y de modo reversible, de la forma oxidada a la reducida, con lo cual desempeña un importante papel como transportador de hidrógeno (Lehninger, 1988; Kaneko, 1989; MacPherson, 1994). El glutatión actúa como componente de un sistema de transporte de aminoácidos, como activador de determinadas enzimas y como protector de los lípidos contra la oxidación (Lehninger, 1988).

La enzima GSH-Px tiene un peso molecular de 80.000 daltons y está constituida por cuatro subunidades que contienen 4 átomos-gramo de selenio por mol (Maas, 1990).

La GSH-Px juega un papel central en las reacciones de óxido-reducción celular y se encarga de la metabolización de los hidroxiperóxidos lipídicos, concretamente completa la detoxificación de los superóxidos iniciada por la superóxido dismutasa, que cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno a agua. El único donante de hidrógenos es el glutatión, que se genera por el NADP reducido y la glutatión reductasa (Erskine *et al.*, 1989; MacPherson, 1994; Prache, 1994).

La enzima GSH-Px selenio dependiente, junto con la superóxido dismutasa, la catalasa, ascorbato, vitamina E (alfa-tocoferol), beta-carotenos y otros componentes, son importantes para la protección de las células de los mamíferos contra el daño oxidativo. La GSH-Px actúa reduciendo peróxidos y la vitamina E

actúa como secuestrador de los radicales libres (Maas, 1990; Cao *et al.*, 1992; Pehrson, 1993; MacPherson, 1994; Gutzwiller, 1998). Cuando los sistemas enzimáticos no son capaces de controlar la producción de radicales libres aparece la condición conocida como “estrés oxidativo” (MacPherson, 1994).

Investigaciones recientes demuestran que el papel del selenio en los sistemas biológicos, además de su función antioxidante, es mucho más compleja que la actividad clásica de la GSH-Px. Así, la protección que el selenio provoca contra la peroxidación lipídica del hígado a la acción del diquat o la necrosis hepática en ratas deficientes en selenio, no se relaciona con un incremento de la actividad de la GSH-Px. Tampoco la GSH-Px puede usar los hidroperóxidos fosfolipídicos como sustrato, sólo puede actuar con los peróxidos de ácidos grasos de cadena larga cuando éstos han sido liberados por la actividad de la fosfolipasa A. Como la GSH-Px es capaz de metabolizar una amplia variedad de hidroperóxidos lipídicos en las células, esto representa una pequeña fracción de la capacidad antioxidante celular y, posiblemente, también sólo una función menor del selenio (MacPherson, 1994).

La actividad de la GSH-Px hepática se ha correlacionado con la ingestión de selenio y, de esta manera, se ha usado como indicador del nivel de selenio orgánico; sin embargo, como la función metabólica permanece normal en ratas cuando la actividad de la GSH-Px hepática está a menos del 0,1% de su actividad normal, se ha sugerido que el papel metabólico clásico de la enzima está muy limitado, y que puede servir como elemento de reserva o almacén del oligoelemento para otras selenioproteínas cuando el aporte de selenio está reducido. Para que esto sea efectivo, las variaciones en los niveles de la GSH-Px deben ser muy sensibles a las variaciones en la ingestión de selenio (MacPherson, 1994). Por esto las variaciones en el contenido de selenio del alimento no produce, de forma repentina, cambios importantes en el metabolismo animal, sino que requiere cierto tiempo para que esos cambios se produzcan (Binnerts *et al.*, 1993).

2.3.2. OTRAS SELENIOPROTEÍNAS.

En 1982, Ursini *et al.* -citado en MacPherson, 1994- descubrieron la enzima “*GSH-Px de los hidroxiperóxidos lipídicos*” (GSH-Px HL), que contiene un átomo-gramo de selenio por cada mol y no es un monómero de la enzima clásica GSH-Px, sino que se trata de una enzima diferente. Esta enzima tiene la capacidad de metabolizar los hidroxiperóxidos lipídicos que la GSH-Px clásica no puede, y además es capaz de metabolizar los peróxidos lipídicos en los liposomas y las lipoproteínas de baja densidad (LDL). La GSH-Px HL es mucho más resistente a la deficiencia de selenio y se le ha reconocido un papel más importante que la GSH-Px clásica en el sistema antioxidativo de protección de las membranas celulares. Esto sugiere que la base bioquímica de la interacción nutricional entre el selenio y la vitamina E es la protección, proporcionada por la GSH-Px HL y la vitamina, de las membranas celulares contra la peroxidación. La GSH-Px clásica metaboliza los peróxidos en el citosol, que es una fuente potencial de radicales libres para la iniciación de la peroxidación en la membrana. Consecuentemente, es posible que en la deficiencia de selenio en aquellos animales que tengan una actividad GSH-Px citosólica baja puedan tener una actividad GSH-Px HL suficiente como para prevenir los daños y la aparición de “*estrés oxidativo*” (MacPherson, 1994).

En 1986, Takahashi y Cohen, y en 1987, Takahashi *et al.*, -citados en Macpherson, 1994-, descubrieron otra enzima GSH-Px, la llamada *GSH-Px plasmática*. Esta GSH-Px plasmática, al igual que la GSH-Px clásica, es una proteína tetramérica con un átomo-gramo de selenio en cada subunidad. También es una glicoproteína con uniones -S-S- intramoleculares, pero su secuencia de aminoácidos la diferencia de la GSH-Px clásica. Esta enzima sólo se encuentra en los riñones y parece que interviene en el metabolismo del glutatión, protegiendo a

las membranas que se encargan de la filtración sanguínea y la producción de orina (papel antioxidante adicional en la protección de las células endoteliales) (MacPherson, 1994).

La *selenioproteína P* plasmática fue identificada en el plasma (aunque también se encuentra en el suero) por Burk y Gregory (1982) -citado en MacPherson, 1994-, y se diferencia de la GSH-Px clásica en que puede portar más del 70% del selenio plasmático. Debido a la inestabilidad de la enzima, su aislamiento ha sido muy difícil, pero fue conseguido por Yang *et al.* (1990), definiéndola como una glicoproteína de cadena polipeptídica simple. Todavía se desconoce el papel fisiológico de esta proteína, sugiriéndose que actúa como transportadora de selenio debido a la rápida incorporación del mismo cuando es aportado a ratas y su almacenamiento en esta selenioproteína. También se ha sugerido su función antioxidante redox debido a las propiedades metálicas del enlace. Se ha comprobado que cuando se adicionan pequeñas cantidades de selenio a ratas deficientes en el mineral, los niveles de selenioproteína P aumentan más rápidamente que los de GSH-Px en plasma (MacPherson, 1994).

La *selenioproteína W* es una proteína de bajo peso molecular con un átomo-gramo de selenio por mol y ha sido hallada en corazón y músculo de ovino y también en músculo de rata. Se desconoce la función exacta de esta proteína, pero se ha sugerido un papel antioxidante. La selenioproteína W se encuentra en el organismo en concentraciones similares a la GSH-Px (MacPherson, 1994).

2.4. LA VITAMINA E

La actividad de la vitamina E se lleva a cabo mediante varios tocoferoles, siendo el α -tocoferol el más activo biológicamente. La vitamina es transportada desde la membrana celular a otras membranas intracelulares (mitocondriales y retículo endoplasmático) gracias a unas proteínas transportadoras (Kolb, 1997).

La vitamina E reacciona con los ácidos grasos peróxidos y forma hidroxiácidos grasos y radicales tocoferoxilos, protegiendo a la membrana de su destrucción por los fragmentos más pequeños producidos en la reacción en cadena de la descomposición de estos ácidos grasos peróxidos. Los radicales tocoferoxilos pueden reducirse hasta tocoferol mediante enzimas (ubiquinol oxidoreductasas) o mediante el ácido ascórbico (Kolb, 1997).

Teniendo en cuenta su actividad bioquímica, podemos considerar a la vitamina E como la primera línea defensiva destinada a evitar la formación de peróxidos, mientras que la enzima que contiene selenio (GSH-Px) actúa como una segunda línea de defensa cuyo objetivo es destruir los peróxidos que hayan podido formarse antes de que éstos puedan dañar a la célula (Cappa, 1996). Así, el papel que juegan ambos es complementario, pues a veces la concentración de vitamina E es insuficiente para atrapar a todas las moléculas de ácidos grasos insaturados, y la GSH-Px no puede destruir todos los peróxidos formados; por lo tanto, los signos clínicos de la deficiencia de selenio y/o vitamina E pueden ser idénticos (Sáez *et al.*, 1996-c).

La vitamina E y el ácido ascórbico interactúan en la estimulación de las funciones del sistema inmune. A nivel leucocitario, la vitamina E juega un papel importante en el mantenimiento de la estabilidad del ácido araquidónico, contenido en grandes cantidades dentro de las membranas lipídicas. Bajo los efectos de la

ciclooxigenasa y lipooxigenasa, este ácido graso esencial se convierte en prostaglandinas y leucotrienos respectivamente, sustancias importantes en el desarrollo de la respuesta inflamatoria (Kolb, 1997).

La vitamina E previene la actividad excesiva de los aniones superóxidos y del peróxido de hidrógeno en los fagocitos y prolonga la vida funcional de las células (Kolb, 1997).

Cuando aparece una deficiencia de vitamina E, aumenta la producción de mediadores inflamatorios, como la prostaglandina E₂ y el leucotrieno B₄ y además, la producción de peróxidos lipídicos en las membranas de los neutrófilos se aumenta 1,5 veces. Las células liberan más peróxidos de hidrógeno que son nocivos para la propia viabilidad celular. También en la deficiencia de vitamina E, la fagocitosis de complejos inmunoglobulinas-bacterias está reducida (Kolb, 1997).

La vitamina E juega también un papel importante en la diferenciación de los linfocitos T en el timo; así, su deficiencia en la fase de crecimiento se asocia con una caída en el número de linfocitos T-helper y un aumento en el número de linfocitos T-supresores y también, con una menor producción de interleukina-2 en los linfocitos T-helper activados (Kolb, 1997).

Numerosos estudios en animales domésticos han demostrado que la suplementación de las dietas con vitamina E y selenio incrementan la capacidad del sistema inmune para luchar contra enfermedades bacterianas que causan mastitis en vacas, infecciones por *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* o *Escherichia coli*, protozoarias como las coccidiosis y víricas como el virus parainfluenza tipo 3 (Kolb, 1997). Las dietas de vacas lecheras deficientes en vitamina E aumentan la incidencia de las mamitis clínicas (Smith *et al.*, 1984).

De igual forma, se ha demostrado una asociación entre la deficiencia de vitamina E, con o sin deficiencia de selenio, y la ruptura subcapsular del hígado en corderos jóvenes que aparece tras el nacimiento y que puede ser causa de mortalidad en los primeros días de vida (Green *et al.*, 1995).

Otra aportación a la relación entre el selenio y la vitamina E la constituyó el estudio realizado por Veling y Counotte (1995), donde los animales con menos de 10 UI/g Hb no mostraron síntomas de la deficiencia de selenio, ni siquiera elevación de la CK sérica, gracias a niveles elevados de vitamina E en la ración.

La mayor fuente de vitamina E para los animales rumiantes son los forrajes, pero la concentración de la vitamina en éstos disminuye progresivamente con la maduración de la planta (Hamliri *et al.*, 1990-a; Hogan *et al.*, 1993).

Las necesidades orgánicas de vitamina E dependen de dos factores, del aporte de selenio y de la concentración de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en la dieta (Kennedy *et al.*, 1987; Sáez *et al.*, 1996-c).

2.5. ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LA CARENCIA DE SELENIO Y/O VITAMINA E

En la tabla nº 1 se citan las enfermedades animales que se encuadran dentro de las "enfermedades que responden al aporte de selenio", aunque la respuesta no es igual en todas ellas (Maas, 1990).

Tabla 1. Enfermedades que responden al aporte de selenio.

Síndromes o enfermedades relacionadas	Autores
Abortos	Maas, 1990; Cappa, 1996.
Anemias hemolíticas	Prache, 1994.
Calcificación muscular	Lamand, 1991.
Cáncer	Oldfield, 1987; Flodin, 1988; Kiremidjian-Schumacher, 1996.
Debilidad neonatal	Bostedt y Schramel, 1990; Maas, 1990; Langlands <i>et al.</i> , 1991(a); Langlands <i>et al.</i> , 1991(b); Cappa, 1996.
Déficit de crecimiento	Bostedt y Schramel, 1990; Langlands <i>et al.</i> , 1990; Lamand, 1991; Langlands <i>et al.</i> , 1991(a); Logan <i>et al.</i> , 1991; Donald <i>et al.</i> , 1993; Pehrson, 1993; Donald <i>et al.</i> , 1994(a); MacPherson, 1994; Sáez <i>et al.</i> , 1994; Wichtel <i>et al.</i> , 1996; Kolb, 1997.
Déficit en la producción de lana	Langlands <i>et al.</i> , 1991(a); Donald <i>et al.</i> , 1994(a).
Dermatosis	McDowell <i>et al.</i> , 1991; Al-Qudah <i>et al.</i> , 1994.
Diarrea	Kennedy <i>et al.</i> , 1987; Maas, 1990; Pehrson, 1993; Cappa, 1996.
Diátesis exudativa de pollos	Patterson <i>et al.</i> , 1957 (citado en Oldfield, 1992); Lamand, 1991.
Enfermedad del músculo blanco o miodegeneración nutricional	Muth <i>et al.</i> , 1958 (citado en Oldfield, 1992); Kennedy <i>et al.</i> , 1987; Bostedt y Schramel, 1990; Donoghue y Kronfeld, 1990; Maas, 1990; Braun <i>et al.</i> , 1991; Lamand, 1991; Capaul <i>et al.</i> , 1992; García-Belenguer <i>et al.</i> , 1992; Rodríguez y de Baroni, 1992; Edmondson <i>et al.</i> , 1993; Pehrson, 1993; Donald <i>et al.</i> , 1994(b); MacPherson, 1994; Musa y Tageldin, 1994; Smith <i>et al.</i> , 1994; Andrés <i>et al.</i> , 1996; Cappa, 1996; Kovác <i>et al.</i> , 1996; Sáez <i>et al.</i> , 1996-a; Sáez <i>et al.</i> , 1996-b; Sáez <i>et al.</i> , 1996-c; Andrés <i>et al.</i> , 1997-a; Andrés <i>et al.</i> , 1997-b; Andrés <i>et al.</i> , 1997-c; Dickerson <i>et al.</i> , 1997; Kolb, 1997; Löfstedt, 1997.
Enfermedad periodontal	Sheffy y Schultz, 1978 (citado en Andres <i>et al.</i> , 1997-b); Lamand, 1991.
Fibrosis pancreática en aves	Thomson y Scott, 1970 (citado en Oldfield, 1992); Lamand, 1991; Edmondson <i>et al.</i> , 1993.
Hepatitis dietética y microangiopatía dietética en cerdos	Eggert <i>et al.</i> , 1957 (citado en Oldfield, 1987 y 1992); Rice y Kennedy, 1987.
Hipotiroidismo	Donald <i>et al.</i> , 1993; Donald <i>et al.</i> , 1994; MacPherson,

	1994; Wichtel <i>et al.</i> , 1996.
Infertilidad	Donoghue y Kronfeld, 1990; Maas, 1990; Braun <i>et al.</i> , 1991; Lamand, 1991; Langlands <i>et al.</i> , 1991(b); Cao <i>et al.</i> , 1992; Allan <i>et al.</i> , 1993; Edmondson <i>et al.</i> , 1993; Mihailovic <i>et al.</i> , 1993; Pehrson, 1993; MacPherson, 1994; Sáez <i>et al.</i> , 1994; Behne <i>et al.</i> , 1996; Cappa, 1996; Andrés <i>et al.</i> , 1997.
Inmunosupresión	Erskine <i>et al.</i> , 1989; Grasso <i>et al.</i> , 1990; Maas, 1990; Turner y Finch, 1990; Braun <i>et al.</i> , 1991; Latshaw, 1991; Turner y Finch, 1991; Hogan <i>et al.</i> , 1993; Fivaz <i>et al.</i> , 1993; Sordillo <i>et al.</i> , 1993; MacPherson, 1994; Pollock <i>et al.</i> , 1994; Smith, 1994; Malbe <i>et al.</i> , 1995; Swecker <i>et al.</i> , 1995; Cappa, 1996; Finch y Turner, 1996; Kiremidjian-Schumacher <i>et al.</i> , 1996; Andres <i>et al.</i> , 1997; Kolb, 1997; Swecker, 1997; Ramos <i>et al.</i> , 1998.
Mamitis	Smith <i>et al.</i> , 1984; Erskine <i>et al.</i> , 1989; Erskine <i>et al.</i> , 1990; Braun <i>et al.</i> , 1991; Maddox <i>et al.</i> , 1991; Hogan <i>et al.</i> , 1993; Coe <i>et al.</i> , 1993; Pehrson, 1993; Malbe <i>et al.</i> , 1995; Sandholm <i>et al.</i> , 1995; Ali-Vehmas <i>et al.</i> , 1997; Kolb, 1997.
Miodegeneración en vacas adultas	Maas, 1990; Lamand, 1991; Cappa, 1996.
Mortinatos	Hamliri <i>et al.</i> , 1990-a; Maas, 1990; Langlands <i>et al.</i> , 1991(a); Langlands <i>et al.</i> , 1991(b); Logan <i>et al.</i> , 1991; Mee, 1991; Donald <i>et al.</i> , 1993; Edmondson <i>et al.</i> , 1993; Donald <i>et al.</i> , 1994(b); Sáez <i>et al.</i> , 1994; Cappa, 1996.
Muerte súbita	Buddle <i>et al.</i> , 1987; Lamand, 1991; Cappa, 1996.
Necrosis grasa en cerdos	Lamand, 1991.
Neumonías	Pehrson, 1993.
Retenciones placentarias	Maas, 1990; Lamand, 1991; Mee, 1991; Edmondson <i>et al.</i> , 1993; Pehrson, 1993; Cappa, 1996.
Síndrome "ill-thrift" o pérdida de condición corporal	Donoghue y Kronfeld, 1990; Maas, 1990; Pehrson, 1993; MacPherson, 1994; Cappa, 1996.

En el hombre, se describen varias enfermedades relacionadas con la deficiencia de selenio, fundamentalmente la enfermedad de Keshan, la enfermedad de Kaschin-Beck, la fibrosis quística y, aunque no se ha demostrado, el síndrome de muerte súbita infantil (Oldfield, 1987).

2.5.1. ENFERMEDAD DEL MÚSCULO BLANCO O DISTROFIA MUSCULAR NUTRICIONAL

2.5.1.1. DEFINICIÓN Y ETIOLOGÍA

La EMB, también conocida como distrofia muscular nutricional, miodistrofia nutricional, enfermedad de los corderos rígidos, polimiositis enzoótica o distrofia muscular enzoótica, es una enfermedad producida por la deficiencia de selenio y/o vitamina E que afecta a todos los animales de granja y, especialmente, a los rumiantes (Maas, 1990; Lamand, 1991; García-Belenger *et al.*, 1992; Maas *et al.*, 1996; Sáez *et al.*, 1996-c).

La EMB es la enfermedad mejor documentada que se haya relacionado con la deficiencia de selenio y/o vitamina E (Pehrson, 1993) y ha sido descrita en cerdos (Eggert *et al.*, 1957), ovejas (Muth *et al.*, 1958), caballos (Dodd *et al.*, 1960), vacas (Hartley y Grant, 1961), pollos (Calvert *et al.*, 1962), pavos (Walter y Jensen, 1964), peces (Poston *et al.*, 1976), patos (Van Vleet y Ferrans, 1977) y camellos (Finlayson *et al.*, 1971 -citado en Higgins, 1986-).

La deficiencia de selenio también ha sido descrita en el hombre; es conocida como la enfermedad de Keshan y cursa con una miocardiopatía que afecta fundamentalmente a niños y a mujeres jóvenes en edad de procrear. Esta enfermedad, que adoptó el nombre de la región de China donde se estudió, fue relacionada con la dieta y con los terrenos carentes de este mineral. Así mismo, la enfermedad de Kashin-Beck, caracterizada por una necrosis de cartílagos y distrofia de músculo esquelético, fue relacionada con la deficiencia de selenio, aunque no ha sido completamente demostrado. Los niños que sufren fenilcetonuria y que necesitan dietas especiales pueden padecer deficiencia de selenio y presentar un cuadro de músculo blanco (Oldfield, 1987).

La forma clínica de la enfermedad en los rumiantes cursa de manera hiperaguda a subaguda y se caracteriza por una degeneración de la fibra muscular estriada, tanto esquelética como cardíaca y determina, según la localización de la lesión, un cuadro clínico músculo-esquelético y/o un cuadro clínico cardíaco (Maas, 1990; Lamand, 1991; García-Belenger *et al.*, 1992; Maas *et al.*, 1996; Sáez *et al.*, 1996-c).

La forma subclínica se presenta en animales aparentemente sanos pero cuyo aporte de selenio y/o vitamina E en la dieta se sitúa en niveles marginales o deficientes. La forma subclínica se caracteriza por una disminución de los índices productivos (menor crecimiento corporal, menor producción de lana, menor producción lechera) y unos menores índices reproductivos, con aumento de la mortalidad embrionaria y perinatal (Donoghue y Kronfeld, 1990; Maas, 1990; Braun *et al.*, 1991; Lamand, 1991; Langslands *et al.*, 1991-a; Langlands *et al.*, 1991-b; Cao *et al.*, 1992; Allan *et al.*, 1993; Edmondson *et al.*, 1993; Mihailovic *et al.*, 1993; Pehrson, 1993; MacPherson, 1994; Sáez *et al.*, 1994; Behne *et al.*, 1996; Cappa, 1996; Sáez *et al.*, 1996-c; Andres *et al.*, 1997).

También se ha demostrado que los corderos alimentados con unas dietas deficientes en selenio poseen una ganancia media diaria menor de lo normal, y también se ha observado en corderos neonatos cuyas madres hayan consumido dietas deficientes durante la gestación, ya que el selenio atraviesa la barrera placentaria, pudiendo padecer estos animales la forma clínica y aguda de la EMB (Langslands *et al.*, 1982; Langslands *et al.*, 1990; Hamliri *et al.*, 1990-a; Maas, 1990; Langlands *et al.*, 1991-a; Langlands *et al.*, 1991-b; Logan *et al.*, 1991; Mee, 1991; Donald *et al.*, 1993; Edmondson *et al.*, 1993; Donald *et al.*, 1994-b; Sáez *et al.*, 1994; Cappa, 1996). Además, una de las causas de EMB en neonatos es la baja concentración de selenio en la leche (Bostedt y Schramel, 1990).

Por otro lado, los animales con dietas deficientes muestran una menor respuesta inmunitaria, con lo que disminuye, fundamentalmente, la resistencia a enfermedades infecciosas (Erskine *et al.*, 1989; Grasso *et al.*, 1990; Maas, 1990; Turner y Finch, 1990; Braun *et al.*, 1991; Latshaw, 1991; Turner y Finch, 1991; Hogan *et al.*, 1993; Fivaz *et al.*, 1993; Sordillo *et al.*, 1993; MacPherson, 1994; Pollock *et al.*, 1994; Smith, 1994; Malbe *et al.*, 1995; Swecker *et al.*, 1995; Cappa, 1996; Finch y Turner, 1996; Kiremidjian-Schumacher *et al.*, 1996; Andrés *et al.*, 1997-b; Kolb, 1997; Swecker, 1997; Ramos *et al.*, 1998).

En 1987, Kennedy *et al.* reprodujeron experimentalmente la enfermedad por primera vez en terneros utilizando dietas pobres en selenio y vitamina E, con y sin suplementación de AGPI.

El selenio y la vitamina E son sinérgicos en la prevención de la EMB; sin embargo, si nos basamos en la profilaxis y en la respuesta al tratamiento, parece ser más importante la deficiencia de selenio (Maas *et al.*, 1990).

Como ya se ha reseñado, se necesitan factores adicionales para la aparición de la EMB además de la deficiencia del selenio y de vitamina E (Braun *et al.*, 1991). Bostedt y Schramel (1990) enumeraron las razones por las cuales puede aparecer un deficiente aporte de selenio y/o vitamina E:

- Pérdida de las sales de selenio en los suelos (lixiviación y otras).
- Antagonismo entre el azufre y el selenio en el suelo (las emisiones industriales pueden contribuir a ello).
- Crecimiento acelerado del heno, hierba y alimentos vegetales, así como la fertilización intensiva, combinado con ciertas condiciones climatológicas, llevan a una absorción pobre del selenio soluble del suelo por las plantas.
- Secado industrial de los cereales trillados.

- Calentamiento de la hierba para producir heno, con lo que se destruye la vitamina E.
- Conservación del grano con ácido propiónico, lo que reduce el contenido en vitamina E.
- Uso de alimentos mezclados con altas proporciones de ácidos grasos insaturados en animales jóvenes.

La deficiencia de selenio más frecuente suele ser de tipo primario por ingestión insuficiente de selenio y/o vitamina E en la dieta (García-Belenguer, 1992).

El selenio se encuentra en el suelo como un elemento traza que es absorbido por las plantas. Por tanto, la biodisponibilidad del selenio por los animales dependerá del contenido de selenio de las plantas (Muth *et al.*, 1959; Muth y Allaway, 1963; Gardiner, 1969; Allaway, 1973; Watkinson, 1983 -citado en Andrés *et al.*, 1997-b-).

Por otra parte, el contenido de selenio de las plantas depende de la génesis del suelo, de las características telúricas (pH, humedad, composición química, lixiviación por precipitaciones), de la fertilización de los mismos, de factores que dependen de las plantas (época del año, período de crecimiento y maduración de la planta) y de las condiciones climáticas (Grace y Clark, 1991; Sáez *et al.*, 1996-c).

La EMB de forma secundaria se produce cuando la dieta contiene cantidades adecuadas de selenio y/o vitamina E, pero el organismo no puede absorberlo, como ocurre en los procesos diarreicos crónicos, en el síndrome de malabsorción, parasitosis interna u otros factores que impidan la absorción o transporte del selenio y/o vitamina E (García-Belenguer, 1992).

La aparición de la deficiencia de selenio y vitamina E en los camellos salvajes producida por una nutrición inadecuada es esporádica; sin embargo, en los camellos mantenidos en cautividad es posible la aparición de esta enfermedad (Kováč *et al.*, 1996).

Musa y Tageldin (1994) describieron la "enfermedad de los edemas" en camellos (27 casos en una granja de 300 animales), donde los pacientes presentaron edemas en extremidades, abdomen ventral y cuello. También se observó edema escrotal. La temperatura corporal y el apetito continuaron normales. Aparecía una distensión de la vena yugular, ligera anemia y animales menos activos, ocurriendo en algunos casos una recuperación de forma espontánea. El estudio postmortem de algunos de estos pacientes reveló fundamentalmente una degeneración miocárdica con pérdida de miofibrillas. Estos autores relacionaron esta enfermedad con la deficiencia de selenio y vitamina E y atribuyeron la ausencia de la misma en los animales jóvenes a que éstos fueron suplementados con el oligoelemento.

2.5.1.2 FISIOPATOLOGÍA

Los efectos de la deficiencia de selenio son debidos, al menos en parte, a la destrucción de las membranas y proteínas celulares provocando una pérdida de la integridad celular (Maas *et al.*, 1996).

Durante el metabolismo normal de la célula se producen formas de oxígeno altamente reactivas (radicales libres). Estos radicales incluyen peróxido de hidrógeno, hidroxiperóxidos, lipoperóxidos, superóxidos, varios radicales hidróxidos y oxígenos. La vitamina E es activa dentro de las membranas celulares y actúa como un antioxidante de los lípidos solubles eliminando los radicales libres que, de otra manera, podrían reaccionar con los ácidos grasos insaturados y formar

hidroxiperóxidos lipídicos. Por otro lado, la GSH-Px destruye los peróxidos de hidrógeno y lipoperóxidos que se formen y los convierte en agua o en alcoholes menos dañinos. Otras enzimas como las catalasas y las superóxido dismutasas también están envueltas en este mecanismo de protección (Maas *et al.*, 1996).

Aparentemente existe una importante relación entre el selenio y la vitamina E, los niveles de AGPI en la dieta y la EMB, particularmente en los rumiantes (Kennedy *et al.*, 1987; Donoghue y Kronfeld, 1990; Maas, 1990; Maas *et al.*, 1996).

Los AGPI de origen dietético pueden experimentar peroxidación a hidroxiperóxidos que pueden formar radicales libres tóxicos. Durante el período de crecimiento de pastos y plantas, éstos contienen altos niveles de AGPI. Bajo condiciones normales, el rumen tiene un papel importante en la saturación de los ácidos grasos insaturados de la dieta; así, si aportamos ácido linolénico protegido de la hidrogenación en el rumen, éste se absorberá rápidamente hacia la corriente sanguínea, provocando la aparición de signos clínicos de la miodegeneración (Kennedy *et al.*, 1987; Kennedy y Rice, 1992; Maas *et al.*, 1996).

A menudo, la concentración de AGPI en el plasma se incrementa en las vacas que han estado pastando, posiblemente aumentando la formación de radicales libres y el daño tisular; de hecho, la suplementación con AGPI protegidos de la degradación ruminal incrementa la severidad de los cambios histopatológicos (Kennedy y Rice, 1992; Maas *et al.*, 1996). Esto supone que la capacidad de estos mecanismos de protección puede ser sobrepasada por factores dietéticos como los niveles altos de AGPI. Es esperable, por tanto, que animales con deficiencias en selenio y/o vitamina E puedan tener un mayor riesgo de daño oxidativo de los tejidos cuando ingieren estas dietas (Maas, 1990; Maas *et al.*, 1996, Gutzwiller, 1998).

La interrelación precisa entre el selenio, la vitamina E, otros factores metabólicos y los mecanismos desencadenantes de la distrofia muscular no se ha demostrado completamente debido a que muchos animales con deficiencias de selenio y/vitamina E no presentan esta enfermedad muscular. En algunas ocasiones se necesita la deficiencia conjunta de selenio y vitamina E para que se desarrolle la enfermedad. En otras, la EMB puede ocurrir sólo con la deficiencia de uno de los agentes y el otro en condiciones normales en sangre y tejidos (Maas *et al.*, 1996).

La deficiencia conjunta de selenio y vitamina E provoca una disminución de la ingestión de alimentos y de la ganancia de peso en pollos y ratas (Turner y Finch, 1991).

2.5.1.3. EPIDEMIOLOGÍA

La opinión más generalizada encontrada en la bibliografía es la de que una alimentación deficiente en selenio y/o vitamina E puede causar, por sí sola, la EMB. Sin embargo, algunos autores consideran imprescindible la presencia de algún/os factor/es para que se desarrolle la enfermedad:

2.5.1.3.1. Factores que dependen del suelo

El contenido en oligoelementos del suelo depende fundamentalmente de la roca madre a partir de la cual se ha formado; así, por ejemplo, las rocas basálticas son las más ricas en oligoelementos, seguidas por las rocas graníticas, mientras que las sedimentarias son las consideradas más pobres (Sáez *et al.*, 1996-c).

La concentración de selenio en el suelo depende de su origen geológico, siendo los suelos geológicamente modernos más pobres en selenio que aquellos

sedimentarios más antiguos (Muth y Allaway, 1963; Gardiner, 1969; Mathis *et al.*, 1982; Radostits *et al.*, 1994 -citados en Andrés *et al.*, 1997-b-).

Los suelos de origen volcánico pueden ser basálticos (básicos), andesíticos (intermedios) y graníticos (ácidos); los basálticos y, en menor medida, los andesíticos son suelos con contenidos adecuados en elementos traza, mientras que los graníticos suelen ser más pobres en microminerales, particularmente cobalto y selenio. Así, cuanto más aumente el pH del suelo, el contenido de molibdeno y selenio de la planta se va incrementando, mientras que disminuye el contenido de cobalto, manganeso, hierro y zinc; sin embargo el cobre no se ve afectado por el pH del suelo (Reid y Horvart, 1980; Hodder, 1983; Berrow y Ure, 1985 -citado en Grace *et al.*, 1991-).

Por otro lado, los suelos muy húmedos o pobremente drenados están mal aireados e incrementan la capacidad de captación de cobalto, cobre, hierro y manganeso por las plantas (Mitchell *et al.*, 1957 -citado en Grace *et al.*, 1991-).

Las precipitaciones influyen notablemente en la disponibilidad de los oligoelementos; el exceso de agua en el suelo aumenta la movilización de la mayoría de los minerales, ya que se produce un lavado intenso y arrastre de esos oligoelementos a profundidades donde no pueden ser captados por las raíces de las plantas (Sáez *et al.*, 1996-c). En el sistema de riego “a manta”, el exceso de agua aportada al suelo provoca el lixiviado de la mayoría de los elementos minerales (Lamand, 1991 -citado en Sáez *et al.*, 1995-).

La relación entre la alimentación de los animales con plantas de suelos que contengan poca cantidad de selenio y la aparición de la deficiencia de selenio ha sido bien estudiada (Muth *et al.*, 1959; Muth y Allaway, 1963; Gardiner, 1969, Allaway, 1973; Watkinson, 1983 -citados en Andrés *et al.*, 1997-b-).

La cantidad de selenio que las plantas pueden absorber depende de las características del suelo como textura, temperatura, pH y contenido en algunos elementos como calcio, fósforo, nitrógeno, hierro y sulfatos (Van Vleet, 1980 - citado en Andrés *et al.*, 1997-b-). Considerando que el pH óptimo para el crecimiento de las plantas se sitúa entre 6 y 6,8, a un pH más elevado la captación de selenio por las plantas se dificulta, y con un pH superior a 7, los elementos minerales presentes en solución del suelo tienden a precipitar. Cuando el pH es ácido tiende a solubilizar los oligoelementos (Lamand, 1991- citado en Sáez *et al.*, 1995-; Sáez *et al.*, 1996-c).

La presencia de azufre en el suelo es un factor limitante para la biodisponibilidad de selenio por el animal, ya que ambos elementos compiten para ser absorbidos por las plantas, y también ocurre en el animal al compartir los mismos transportadores intestinales. Por otro lado, también interfieren a la hora de formar parte de algunas proteínas (Maas *et al.*, 1990; Sáez *et al.*, 1996-c).

El calcio ha sido identificado como un elemento que interfiere en la absorción de selenio por los animales; sin embargo, esta interacción suele ocurrir a nivel digestivo, y es menos importante a nivel de suelos o en la propia planta (Andrés *et al.*, 1997-a).

Los fertilizantes pueden alterar la concentración de los elementos traza en los pastos y forrajes; así, la fertilización con superfosfatos hace disminuir la concentración de selenio en los pastos (Langslands *et al.*, 1991; Maas *et al.*, 1996).

2.5.1.3.2. Factores que dependen de las plantas

Las leguminosas, en general, absorben menor cantidad de selenio que las gramíneas, y dentro de las primeras, la alfalfa y algunos tipos de tréboles son las

que acumulan menor cantidad en su estructura (Muth, 1970, -citado en Sáez *et al.*, 1995-; Sáez *et al.*, 1996-c). Posiblemente, la menor absorción de selenio en las leguminosas forrajeras sea debido, en parte, a su mayor contenido en sulfatos (Underwood, 1983).

2.5.1.3.3. Factores que dependen de la estación del año y del clima

Existe una significativa influencia de las estaciones sobre las concentraciones de selenio y vitamina E (Braun *et al.*, 1991; Langlands *et al.*, 1991-a). Esta influencia de la estación del año en los niveles de selenio se corresponde con la actividad de la GSH-Px. Así, en el hemisferio norte, la actividad más elevada de la enzima aparece en otoño y la más baja en primavera. Estas variaciones pueden ser debidas a que los animales en verano no tienen acceso a los pastos, por lo que son alimentados con piensos compuestos que contienen un suplemento en selenio; sin embargo, los animales durante la primavera consumen hierba otoñal, que resulta mucho más pobre en selenio. Por otra parte, el pasto de verano, aunque menos abundante y digestible, es más rico en selenio que la hierba de primavera debido a su mayor contenido en materia seca y a la menor influencia que durante el verano ejerce la lixiviación. Esto supone que en la época de primavera, el ganado en explotación extensiva debe ser suplementado, especialmente, con selenio (Langlands *et al.*, 1991-a; Jiménez *et al.*, 1996; López-Alonso, *et al.* 1997; Ceballos *et al.*, 1998).

Las variaciones de los niveles de selenio en sangre pueden ser debidas a las variaciones estacionales de selenio disponible en los forrajes y al incremento de las demandas fisiológicas durante la gestación, lactación y crecimiento (Campbell *et al.*, 1990; López-Alonso *et al.*, 1998).

Tanto Varo *et al.* (1980) como Combs y Combs (1986) (-citados en Sáez *et al.*, 1995-) señalaron que en los años en los que las condiciones climáticas son favorables y se obtienen mayores producciones, la concentración de minerales, y concretamente de selenio en las plantas, disminuye.

2.5.1.3.4. Factores que dependen de la dieta

Actualmente, en las explotaciones intensivas el aporte de minerales está controlado por el uso de los correctores en los piensos. Sin embargo, en los rumiantes explotados de forma extensiva la deficiencia puede aparecer si los suelos en los que pasta el ganado son pobres en oligoelementos (Sáez *et al.*, 1996-c).

Los granos de cereal almacenados con ácido propiónico reducen su contenido en vitamina E; así, la inclusión de este ácido en la dieta podría ser un factor predisponente (García-Belenguer *et al.*, 1992).

Se recomiendan concentraciones de selenio diarias en la dieta de hasta 0.3 mg/kg de MS, aunque esta dosis varía dependiendo de la especie, edad, nivel de producción y otros factores. La concentración máxima tolerable en la dieta es de 2 mg/kg (Edmondson *et al.*, 1993).

Se consideran dietas deficientes en selenio las que contienen menos de 0.05 mg/kg de MS, dependiendo de la disponibilidad del selenio y del estado de crecimiento del animal (Edmondson *et al.*, 1993).

También se ha visto que otros nutrientes pueden afectar a los requerimientos de selenio, como la vitamina E, los AGPI (ya que actúan como substrato fundamental en la peroxidación), metionina, azufre y cobre (Donoghue y Kronfeld, 1990; García-Belenguer *et al.*, 1992). Así, cuando los alimentos

contienen grasas enranciadas es preciso aumentar la concentración de selenio en la ración (Sáez *et al.*, 1996-c).

2.5.1.3.5. Factores que dependen del estado reproductivo

Las concentraciones de selenio y la actividad de la GSH-Px disminuyen significativamente durante los periodos de gestación y lactación, lo que indica unas mayores necesidades del mineral en estas fases (Campbell *et al.*, 1990; Zachara *et al.*, 1992; López-Alonso *et al.*, 1998).

Se ha demostrado que la transferencia de selenio desde la vaca al feto aparece durante el final de la gestación, así mismo ha sido demostrada la transferencia de selenio a través del calostro y de la leche (Campbell *et al.*, 1990; Cappa, 1996).

La actividad de la GSH-Px es significativamente mayor en los primeros días de vida en los corderos de ovejas suplementadas, lo que demuestra que la transferencia de selenio es más efectiva a través de la leche que a través de la placenta (Sáez *et al.*, 1994)

Asimismo, se ha demostrado que el contenido en selenio de los corderos gemelos es menor que el contenido en selenio de los corderos únicos (Langlands *et al.*, 1990; Miranda *et al.*, 1996).

2.5.1.3.6. Factores que dependen de la edad

La deficiencia de selenio es menos frecuente en los animales adultos, con requerimientos basales del oligoelemento (necesidades de mantenimiento); por el

contrario, en animales jóvenes, especialmente en los rumiantes, la incidencia es mayor. Los animales jóvenes padecen la EMB porque la disponibilidad de selenio y vitamina E es insuficiente para cubrir las necesidades derivadas del crecimiento. Durante el crecimiento rápido, los animales necesitan un mayor aporte energético y aumentan su metabolismo lipídico (García Belenguer *et al.*, 1992; Edmondson *et al.*, 1993; Cappa, 1996; Sáez *et al.*, 1996-c).

2.5.1.3.7. Factores que dependen del sexo

En los animales adultos y con necesidades exclusivamente de mantenimiento se ha comprobado que no existen diferencias entre sexos en los niveles de selenio séricos o en la actividad de la CK (Miranda *et al.*, 1996).

Dentro de los animales en crecimiento, los machos presentan unos mayores requerimientos al tener una mayor ganancia media diaria y, en consecuencia, necesitan ingerir mayor cantidad de selenio y/o vitamina E para mantener los niveles séricos de las hembras de su misma edad (Kleczkowsky *et al.*, 1996).

2.5.1.3.8. Factores que dependen de la raza

Referido a las especies rumiantes, se ha observado una mayor incidencia de la enfermedad en los individuos de razas de carne, ya que en comparación con individuos de razas lecheras, los primeros presentan un crecimiento más rápido y un mayor desarrollo de las fibras musculares y, consecuentemente, unas mayores necesidades de vitamina E y selenio (Cappa, 1996).

Algunas razas han desarrollado una resistencia especial frente a la EMB como consecuencia de una adaptación al pastoreo en zonas deficientes en selenio,

e incluso se han observado variaciones entre animales de la misma raza. Esto podría explicar que en muchas granjas los niveles de la GSH-Px sean deficientes y no aparezcan casos de EMB (Sáez *et al.*, 1996-c; Andrés *et al.*, 1997-c).

2.5.1.3.9. Otros factores predisponentes

Los animales jóvenes, con niveles de selenio marginales, ante cualquier tipo de situación predisponente como puede ser la salida al pasto, los cambios de alimentación, el calor, el frío, el hacinamiento, los transportes prolongados o simplemente las actuaciones veterinarias (vacunación, desparasitación, etc.) podrían desarrollar la EMB (García-Belenguer *et al.*, 1992; Sáez *et al.*, 1996-c).

El ejercicio inadecuado o el aumento repentino de la actividad física pueden ser factores predisponentes, pues se produce un aumento de los fenómenos peroxidativos. También, el padecimiento de enfermedades debilitantes como anemias o diarreas predispone a la presentación de la enfermedad (García-Belenguer *et al.*, 1992).

2.5.1.3.10. La enfermedad en distintas zonas geográficas de España

La enfermedad ha sido descrita en casi todos los países del mundo, constituyendo una de las enfermedades carenciales más importantes en la producción animal (Buddle *et al.*, 1987).

En nuestro país, la enfermedad del músculo blanco ha sido estudiada en Extremadura donde los valores de GSH-Px en ovejas se sitúan entre 43,5 UI/g y 315,66 UI/ g Hb, con una media de 127.1 UI/g Hb (Andrés *et al.*, 1997-c). También en Aragón se ha determinado la actividad sanguínea de la GSH-Px,

observándose que el 6,5% de las granjas presentaban niveles claramente deficitarios (<60 UI/g Hb), el 56,4% niveles marginales (60-120 UI/g Hb) y el 19.3% niveles adecuados (< 120 UI/g Hb) (Sáez *et al.*, 1995).

2.5.1.4. SINTOMATOLOGÍA Y CUADRO CLÍNICO

La EMB cuando afecta a los animales jóvenes puede manifestarse de dos formas clínicas: la "fetal o congénita", que afecta a los animales desde el nacimiento a los 2 días de vida y la "extrauterina, retardada o adquirida postnatalmente", que se desarrolla durante los primeros 3 meses de vida (Bostedt y Schramel, 1990; Hamliri *et al.*, 1990-a).

2.5.1.4.1. Forma congénita o fetal

Los mecanismos de transferencia placentaria del selenio así como el estudio de los aminoácidos que contienen selenio permanecen bastante desconocidos. Bostedt y Schramel (1990) describieron tres razones para la aparición de la forma congénita:

- Deficiente aporte de selenio y/o vitamina E durante la gestación.
- Bloqueo del transporte de selenio en el metabolismo placentario.
- Inadecuada metabolización del selenio y síntesis de GSH-Px en el feto.

La parte maternal de la placenta tiene un contenido alto en selenio; sin embargo, los niveles séricos o plasmáticos, o en el miometrio, son bajos. Por otro lado, la parte fetal representa un 74% del selenio de la parte placentaria maternal. Así, en las placentas epiteliocoriales como la de los rumiantes, hay una concentración considerablemente superior de selenio, vitamina E y GSH-Px en la

parte placentaria maternal que en la fetal (Bostedt y Schramel, 1990); de esta manera, se ha observado que la EMB se desarrolla *in utero*, como así pudo observar Hamliri *et al.* (1990-a) al extraer fetos de ovejas deficientes en selenio en varias épocas de la gestación y determinar los niveles sanguíneos fetales de CK, LDH y selenio. Los mismos autores describieron los niveles más elevados de las enzimas y los más bajos del mineral a las dos semanas preparto, aunque no pudieron encontrar lesiones de EMB en el feto.

Esta forma congénita de presentación de la EMB puede afectar al 70% de los animales nacidos, que pueden nacer muertos o morir de forma repentina a los pocos días de vida, predominando en la necropsia las lesiones cardíacas (Sáez *et al.*, 1996-c). Sin embargo, ésta forma se observa sólo de manera esporádica, mientras que la forma retardada es más común en todo el mundo (Hamliri *et al.*, 1990-a).

La principal característica de los neonatos afectados por la EMB es la incapacidad para moverse tras el nacimiento, no son capaces de levantarse durante los primeros 30 minutos de vida, tampoco de mantener en alto la cabeza y el cuello. Otra de las características es la ausencia del reflejo de succión (Bostedt y Schramel, 1990).

2.5.1.4.2. Forma extrauterina, retardada o adquirida

A.- Forma músculo-esquelética

Los síntomas de afección de la musculatura estriada esquelética son los que se presentan en primer lugar; los animales afectados de EMB presentan debilidad, temblores en las extremidades, incapacidad para levantarse, marcha alterada (paso envarado o rígido), ataxia, cifosis, temblor muscular, hinchazón de músculos

glúteos, dorsolumbares y de los hombros y, a veces, dolor muscular. La mayoría de los animales no pierden el apetito y son capaces de mamar y presentan una temperatura rectal normal, con una frecuencia cardiaca y respiratoria algo elevadas. En los casos donde se afectan los músculos intercostales y diafragmáticos aparece una disnea con refuerzo abdominal (Bostedt y Schramel, 1990; García-Belenguer *et al.*, 1992; Andrés *et al.*, 1996; Sáez *et al.*, 1996-c; Dickerson *et al.*, 1997) y a veces los animales mueren de forma súbita (Dickerson *et al.*, 1997).

Conforme va progresando el curso de la enfermedad, van aumentando los valores plasmáticos de la CK y van apareciendo signos clínicos como depresión, decúbito esternal, dificultad para levantarse, bruxismo, temores musculares, hiporexia o anorexia, disnea, edema pulmonar, orina oscura (mioglobinuria), colapso y muerte (Kennedy *et al.*, 1987).

B.- Forma cardiaca

Debido a la afección del miocardio, los animales mueren de forma súbita por fallo cardiaco agudo. El animal se presenta con taquicardia y arritmia. En el electrocardiograma aparece un aumento del segmento S-T y un aumento de la amplitud de la onda T, que puede llegar a superar a la onda R y, a veces, aparecen extrasístoles (García-Belenguer *et al.*, 1992; Sáez *et al.*, 1996-c).

2.5.1.4.3. Forma adulta

Los síntomas clínicos de la EMB en los animales adultos son similares a los que muestran los jóvenes, la diferencia fundamental radica en la gravedad y cronicidad del proceso (García-Belenguer *et al.*, 1992).

Referido a los camellos adultos los signos clínicos descritos son anorexia, mioglobinuria, alteraciones locomotoras, decúbito esternal, cambian el soporte del peso con las extremidades posteriores ansiosamente, se echan y levantan del suelo de forma lenta, cuidadosa y dolorosa; bruxismo, vocalización (a modo de gruñidos); los músculos aparecen rígidos (aumenta el tono de los músculos glúteos), hiperestesia o molestia a la palpación, tremor y reluctancia al movimiento (Kovac *et al.*, 1996).

2.5.1.4.4. Forma subclínica

La forma subclínica se caracteriza por la predisposición al padecimiento de enfermedades infecciosas o parasitarias y se han incluido en el apartado 2.5.2. del presente trabajo referente a otras enfermedades relacionadas con la deficiencia de selenio y/ o vitamina E.

2.5.1.5. BIOPATOLOGÍA CLÍNICA

2.5.1.5.1. Perfil muscular

Es difícil alcanzar un diagnóstico definitivo basándose exclusivamente en los signos clínicos. Así, la determinación de la creatin-kinasa (CK), aspartato aminotransferasa (AST) y lactato deshidrogenasa (LDH) puede servir de orientación diagnóstica (Bostedt y Schramel, 1990; García-Belenguer *et al.*, 1992; Capaul *et al.*, 1993; Sáez *et al.*, 1996-a; Dickerson *et al.*, 1997).

El incremento de la concentración de CK, AST y LDH se origina como consecuencia de un daño en la membrana de las células musculares y la salida al espacio extracelular de las enzimas de estas fibras musculares (Bostedt y Schramel,

1990; Capaul *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 1994). En la fase aguda, la CK suele ascender por encima de las 500 UI (Kennedy *et al.*, 1987; Bostedt y Schramel, 1990).

La CK se considera la enzima de elección para el diagnóstico de la EMB en corderos por su predominio en la musculatura estriada (Hamliri *et al.*, 1990-a; García-Belenguer *et al.*, 1992; Sáez *et al.*, 1996-a).

La elevación de la actividad de la enzima AST puede servir para monitorizar la gravedad del daño muscular en la EMB, pero hay que tener presente que la actividad de la AST también se eleva en el daño hepático (Smith *et al.*, 1994; Sáez *et al.*, 1996-a). Para diferenciar una miopatía de una hepatopatía podemos utilizar el cociente ALT/AST, si éste es inferior a 0,5 suele ser una miopatía y si el cociente se sitúa entre 0,5 y 1 suele ser debido a una hepatopatía (García-Belenguer *et al.*, 1992).

En camellos adultos con EMB aparece una elevación de las enzimas séricas CK, AST, ALT, γ -GT y FA; un aumento de los valores séricos de ácido láctico, glucosa, urea y AGPI, y una disminución de los valores séricos de selenio, vitamina E y cobre (Kováč *et al.*, 1996).

2.5.1.5.2. Determinación de la vitamina E

Los valores de α -tocoferol plasmático en los animales alimentados con dietas deficientes en vitamina E y selenio, junto a la suplementación con AGPI protegidos de la digestión ruminal, se ven bastante disminuidos a los dos meses de comenzar la deficiencia (Kennedy *et al.*, 1987). La determinación de la vitamina E requiere imprescindiblemente la preservación de la muestra de la luz y del oxígeno para evitar pérdidas por oxidación (García-Belenguer *et al.*, 1992). Los métodos

utilizados comúnmente para su determinación son espectrofotometría colorimétrica o la cromatografía de gases o líquida (HPLC) (Deutsch, 1990).

2.5.1.5.3. Determinación del selenio

La determinación del contenido de selenio en sangre entera o en glóbulos rojos aislados es una fuente excelente de información, tanto a través de la medición directa de selenio como a través de la actividad de la enzima selenio-dependiente GSH-Px (Binnerts *et al.*, 1993).

A.- Medición indirecta de la concentración de selenio. Determinación de la GSH-Px

La medida de la actividad sanguínea de la GSH-Px es un buen indicador de la biodisponibilidad de selenio en los rumiantes y se utiliza ampliamente para el diagnóstico de la deficiencia de selenio (Anderson *et al.*, 1979; Carlström *et al.*, 1979; Allen *et al.*, 1986 -citados en Andrés *et al.*, 1996-; Sáez *et al.*, 1996-a).

La determinación de la GSH-Px no precisa ningún tratamiento previo de la muestra, se puede realizar mediante el "spot test" (Berrett y Hebert, 1979) o midiendo por espectrofotometría la disminución de la absorbancia (Plagia y Valentine, 1967). Estudios posteriores destacan esta última técnica como la más precisa para la valoración de la actividad de la enzima (Langlands *et al.*, 1980).

Para la determinación de la actividad de la GSH-Px puede utilizarse la sangre entera recién obtenida, refrigerada (4°C) o congelada (-28°C); sin embargo, la congelación en nitrógeno líquido reduce la actividad de la enzima (Langlands *et al.*, 1980). La sangre entera refrigerada (4°C) se prefiere debido a que la actividad

de la enzima permanece constante durante 7 días (Koller *et al.*, 1984; Hamliri *et al.*, 1990-c).

Verde *et al.* (1995) estudiaron la correlación entre la GSH-Px en sangre entera y los niveles de selenio en suero, plasma heparinizado, plasma con EDTA, sangre entera heparinizada y sangre entera con EDTA, encontrando la mayor correlación (0.97) con la sangre entera heparinizada. La variación observada en la correlación fue atribuida a que la mínima hemólisis puede afectar a la absorbancia cuando se usa suero o plasma comparado con la sangre entera.

Cuando se consideran poblaciones, en el estudio de la GSH-Px es normal que exista una gran variabilidad individual. Esta variabilidad parece ser menor cuanto mayor es el valor medio de GSH-Px del rebaño (Sáez *et al.*, 1995). Se considera que cada laboratorio debe poseer sus propios valores de referencia (Kaneko, 1989; Andrés *et al.*, 1996; Andrés *et al.*, 1997-c; Waldner *et al.*, 1998).

Los animales, en función de la actividad de la GSH-Px en sangre, se pueden clasificar según las categorías siguientes:

Tabla 2. Clasificación de los niveles de actividad de la GSH-Px para las diferentes especies.

Autores	Unidades	Especie	Normales	Marginales	Deficientes
Mee <i>et al.</i> , 1994	UI/g Hb	Bovino	> 64	44-64	< 44
Sáez <i>et al.</i> , 1995	UI/g Hb	Ovino	>120	60-120	< 60
Maas <i>et al.</i> , 1996	UI/g Hb	Ovino y Bovino	25-500	15-25	< 15
Hamliri <i>et al.</i> , 1990-c	UI/g Hb	Ovino	>100	50-99	< 50
Sanson, 1990	kU/L a 25°C	Ovino	>2.0	0.5-2.0	< 0.5

Con relación a los camellos, El-Magawry *et al.* (1988) estudiaron 20 animales y hallaron una correlación altamente significativa ($r=0.935$, $p<0.001$) entre la actividad de la GSH-Px de los eritrocitos de camellos y la concentración de

selenio en sangre entera, sugiriendo que la actividad de la GSH-Px puede ser utilizado como método para determinar el estado de selenio en esta especie. Un segundo estudio similar utilizando 53 animales, fue repetido por Hamliri *et al.*, (1990-b) en Marruecos, encontrando la misma correlación.

Los valores medios publicados por El-Magawry *et al.* (1988) de la actividad de la GSH-Px variaron entre 16.0 y 35.7 UI/g Hb. Hamliri *et al.* (1990-b) obtuvieron unos valores medios entre 15 y 36 UI/g Hb.

La determinación de GSH-Px en los eritrocitos refleja el nivel de selenio orgánico cuando ocurrió la eritrogénesis varios meses atrás (Binnerts *et al.*, 1993). Dado que los eritrocitos no pueden sintetizar proteínas, la actividad de la GSH-Px dependerá de la cantidad de selenio disponible durante la eritropoyesis y, como los eritrocitos sobreviven varios meses en la circulación (135-162 días en el vacuno), cualquier cambio en el estatus de selenio se verá reflejado una media de 3-5 meses después (en el caso del vacuno) (Hafeman *et al.*, 1974 -citado en Verde *et al.*, 1995-; Thompson *et al.*, 1991; García-Belenguer *et al.*, 1992; Thompson y Ellison, 1993; Sáez *et al.*, 1996-c).

B. Medición directa de la concentración de selenio

La concentración de selenio en sangre entera de vacas es un excelente indicador del estado de selenio a largo y medio plazo; la concentración sérica o plasmática de selenio no se ha demostrado que sea significativamente mejor en la predicción de la ingestión de selenio como el contenido en selenio sanguíneo. El contenido de selenio sérico es bastante variable con relación al selenio sanguíneo, particularmente cuando el selenio sérico es superior a 0.01 µg/mL. (Maas *et al.*, 1993).

También podemos reflejar el estado del selenio utilizando muestras de sangre, células, leche o tejidos. Dentro de éstos últimos se prefiere el hígado ya que refleja los niveles de selenio orgánico e inorgánico procedente de la dieta y por la facilidad para la toma de muestras (Butler *et al.*, 1990; Behne *et al.*, 1991 - citado en Binnerts *et al.*, 1993-, Lane *et al.*, 1991). Podemos medir los niveles de selenio con el método de activación rápida de neutrones (Binnerts *et al.*, 1993).

Thompson *et al.* (1991) establecieron que la valoración más precisa del estado de selenio del animal en un momento determinado se consigue midiendo los niveles en suero o en hígado. El inconveniente de la determinación en suero es que cuando se encuentra hemolizado puede aumentar de forma falsa los valores de selenio (Thompson y Ellison, 1993).

La determinación del selenio en hígado sólo nos da información del contenido de selenio de la dieta de unas semanas atrás. Aunque harían falta 25 muestreos durante un año para tener una valoración del estado real de selenio de una granja, esto no suele ser necesario debido a que las variaciones en el órgano no son muy grandes, incluso cuando existen variaciones extremas en el contenido de selenio de los pastos (Binnerts *et al.*, 1993).

Grace y Clark (1991) describieron la concentración de selenio, en porcentaje, en las distintas partes del cuerpo de ovejas: músculo (33.51%), lana (17.41%), tracto digestivo (10,08%), sangre (8.57%), hueso (7.30%), piel (7.16%), riñón (6.55%), hígado (4.40%), pulmón (2.63%), corazón (0.99%), bazo (0.48%), páncreas (0.46%) y cerebro (0.46%). La concentración media de selenio en leche de oveja es de 6 µg/kg y en vaca de 25 µg/kg (Grace y Clark, 1991). Sin embargo, Zachara *et al.* (1993-a) encontraron tanto en ovejas suplementadas con selenio como en las no suplementadas, que la actividad de la GSH-Px en los distintos órganos era la siguiente: bazo > corazón > pulmones > riñón > hígado > músculo.

Awad y Berschneider (1977) determinaron el contenido de selenio en los órganos de 7 camellos adultos y clínicamente sanos, concluyendo que los riñones (6.7 ppm), los pulmones (3.89 ppm), glándulas suprarrenales (2.39 ppm) y los ganglios linfáticos (1.77 ppm) son los órganos que contienen unos mayores niveles de selenio. En orden decreciente estarían el hígado (1.46 ppm), músculo (1.45 ppm), bazo (1.38 ppm), intestino grueso (1.37 ppm), intestino delgado (1.23 ppm), preestómagos (0.81 ppm), cerebro (0.80 ppm) y corazón (0.75 ppm).

Según establecieron Grace y Clark (1991), las concentraciones de selenio en hígado de vacas y ovejas se consideran adecuadas o normales (>450 nmol/kg de tejido fresco), marginales (250-450 nmol/kg) y deficientes (<250 nmol/kg).

El selenio se acumula a nivel hepático, constituyendo así el principal órgano de reserva de este mineral después del nacimiento (Cappa, 1996).

El hígado y los riñones son los órganos con un contenido en selenio más elevado y contribuyen al equilibrio del selenio orgánico. En este equilibrio entran en juego la forma química del selenio, la edad o el tamaño de los animales, el metabolismo animal y la habilidad para sintetizar y secretar selenioproteínas específicas para extraer el selenio de la sangre hacia otros compartimentos corporales (Binnerts *et al.*, 1993).

La determinación del contenido de selenio en la leche tiene la desventaja de que no refleja el contenido en selenio inorgánico aportado en la dieta (Binnerts *et al.*, 1993).

La concentración de selenio en sangre puede servir para clasificar a los individuos en las categorías que figuran en la siguiente tabla:

Tabla 3. Clasificación de los niveles de selenio sanguíneo para las diferentes especies.

Autores	Unidades	Especie	Normales	Marginales	Deficientes
Grace y Clark, 1991	nmol/L	Bovino y ovino	> 250	130-250	< 130
Maas <i>et al.</i> , 1996	ppm	Bovino y ovino	> 0.07	0.05-0.06	0.01-0.04
Sanson, 1990	nmol/L	Ovino	> 250	130-250	< 130
Hamliri <i>et al.</i> , 1990-c	ng/mL	Ovino	≥ 100	50-100	< 50

2.5.1.5.4. Otras pruebas diagnósticas

La mioglobina es el pigmento que se encuentra en el interior de las fibras musculares y, cuando éstas se rompen, el mismo pasa a la circulación (García-Belenguer *et al.*, 1992); así, en la orina de camellos adultos con EMB aparece mioglobinuria, pH ácido, proteinuria y glucosuria (Kovac *et al.*, 1996).

Bajo ciertas circunstancias, la evaluación electromiográfica puede servirnos como apoyo al diagnóstico. Con esta técnica podemos observar la presencia de potenciales de fibrilación moderados y de ondas positivas en varios músculos como el supraespinoso o potenciales de fibrilación dispersos en músculos como el extensor carporradial. Normalmente los hallazgos electromiográficos son compatibles con modelos multifocales de denervación asociada a una enfermedad muscular primaria, como la EMB (Dickerson *et al.*, 1997).

2.5.1.6. LESIONES

Las lesiones musculares en los mortinatos por la forma congénita de la EMB se caracterizan por una degeneración hialina con calcificación (Hamliri *et al.*, 1993).

Las lesiones en la musculatura esquelética se caracterizan por la aparición de una degeneración de las fibras musculares de forma simétrica y bilateral, que se manifiesta macroscópicamente por la aparición de bandas musculares pálidas. Estas zonas más claras reflejan la lesión histológica que consiste en una degeneración hialina seguida por una necrosis por coagulación junto a calcificación y edema intramuscular, y en los casos crónicos se observa fibrosis y calcificación (Kennedy *et al.*, 1987; Radostits *et al.*, 1994; Maas *et al.*, 1996).

Las alteraciones miocárdicas histopatológicas se caracterizan por una degeneración y necrosis de las células cardíacas contráctiles y de Purkinje. Estas lesiones son relativamente leves, multifocales y distribuidas aleatoriamente por el miocardio ventricular. Pueden verse afectadas las aurículas y ventrículos, pero parece haber una preferencia por el septo y la pared del ventrículo izquierdo. También aparecen alteraciones en la vascularización miocárdica (Kennedy y Rice, 1992).

Las lesiones subletales descritas en las células cardíacas son lisis miofibrilar, vacuolización sarcoplásmica y formación de gránulos, con agrandamiento y proliferación nuclear (Kennedy y Rice, 1992).

La suplementación con AGPI incrementa, en gran medida, la gravedad de las lesiones (Kennedy y Rice, 1992).

La acumulación de lipopigmentos apoya la acción que en la patogenia tiene la lipoperoxidación en el desarrollo de las lesiones cardíacas en la deficiencia de selenio y/o vitamina E (Kennedy y Rice, 1988).

Se han encontrado lesiones que afectan a las células del sistema de conducción, apareciendo necrosis de las células de Purkinje, seguido de una penetración macrofágica de la lámina externa, fagocitosis del sarcoplasma

necrótico y reparación por fibrosis. Parece demostrarse que las lesiones sobre el sistema específico de conducción cardiaca, más que sobre el miocardio contráctil, pueden estar asociadas a un suplemento de AGPI junto a dietas deficientes en selenio y vitamina E (Kennedy y Rice, 1988).

2.5.1.7. TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

En zonas con deficiencia endémica de selenio y/o vitamina E es necesario realizar una profilaxis permanente a los animales para evitar que aparezcan signos de distrofia muscular (García-Belenguer *et al.*, 1992).

La administración de forma preventiva de selenio y/o vitamina E no produce una disminución en la actividad de las enzimas LDH, CK ó AST (Sáez *et al.*, 1996-a; Andrés *et al.*, 1997-c).

Para controlar el estado de selenio en las granjas a largo plazo se prefiere utilizar los niveles de la GSH-Px en los lotes de vacas al principio, en medio y al final de la lactación, así como en el lote de vacas secas (Erskine *et al.*, 1989). También se ha visto que la actividad de la GSH-Px es un buen indicador del estado de selenio a largo plazo (Erskine *et al.*, 1989; Mihailovic *et al.*, 1993). Los niveles de selenio obtenidos en tanque de leche parecen ser directamente proporcionales a los niveles medios detectados en leche y en sangre. De esta manera podemos controlar, de forma más económica y no invasiva, los niveles de selenio de toda la granja con la finalidad de evitar la aparición de la deficiencia (Lean *et al.*, 1990).

La administración de selenio para el tratamiento y prevención de la EMB puede hacerse de varias formas:

2.5.1.7.1. Inoculación de compuestos de selenio

La inoculación de compuestos de selenio en los animales puede ser aplicada tanto con carácter preventivo como curativo.

Los compuestos de selenio que más se utilizan son el seleniato de bario (de liberación retardada) y el selenito de sodio (de liberación inmediata). Sin embargo, Dotta *et al.* (1988) compararon los efectos del selenito de colina y de sodio, concluyendo que era la sal de colina la que producía unos valores más elevados de la GSH-Px.

El efecto del tratamiento con seleniato de bario y la administración de selenio y/o vitamina E producen unos cambios hematológicos y bioquímicos, como en la actividad de la GSH-Px, en las enzimas musculares LDH, CK y AST y en la concentración de proteínas totales y albúmina (Sáez *et al.*, 1996).

En ovino, la inoculación parenteral de 50 mg de seleniato de bario protege de la deficiencia de selenio al menos durante 1 año. La aplicación de 1.2 mg/kg p.v. es capaz de mantener los niveles de selenio adecuados durante dos partos consecutivos en ovejas; al mismo tiempo produce una transferencia de selenio por la placenta y la leche a los neonatos que les va a proteger contra la aparición de la forma congénita y extrauterina de la EMB durante ese tiempo (Sáez *et al.*, 1994; Sáez *et al.*, 1996).

En rebaños deficientes, la suplementación a las madres con seleniato de bario antes de la cubrición puede incrementar tanto la prolificidad como la fertilidad de las mismas; así como el peso del nacimiento de los corderos y la ganancia de peso en los mismos (Sáez *et al.*, 1996-b).

Los corderos nacidos de ovejas inoculadas con selenio tienen una mayor actividad de la GSH-Px ($p < 0.001$) en la primera semana, así como a las tres semanas de vida, con respecto a corderos de madres no inoculadas (Hamliri *et al.*, 1995; Sáez *et al.*, 1996-b; Andrés *et al.*, 1997-c). La administración de seleniato de bario (1 mg de Se/kg) a las ovejas en el primer tercio de la gestación protege a los corderos contra la aparición de la deficiencia de selenio en las etapas iniciales de su desarrollo, que es cuando se encuentran en mayor riesgo de padecer la miodegeneración, así como a las ovejas durante la gestación y tras el parto (Zachara *et al.*, 1993-b; Sáez *et al.*, 1996-b; Andrés *et al.*, 1997-b). Hamliri *et al.* (1990-a) y Cappa (1996) establecieron como medida profiláctica la administración de selenio un mes antes del parto. Los requerimientos diarios de selenio para un cordero de 35 kg. son de 27 $\mu\text{g}/\text{día}$ (Grace *et al.*, 1994). Sin embargo, Sáez *et al.* (1994 y 1996-b) establecieron en ganado ovino el mejor momento para la administración profiláctica de selenio a las 3 semanas previas a la cubrición, con una dosis de 50 mg/animal.

El tratamiento de los corderos afectados por la EMB se basa en la administración de una dosis simple de selenio (1.16 mg de Se/kg) vía subcutánea (Hamliri *et al.*, 1993).

En camellos, el selenito sódico se ha utilizado como tratamiento a la dosis de 44 mg/animal por vía subcutánea, junto a la administración de acetato de tocoferol a dosis de 5000 mg/animal (Kovac *et al.*, 1996).

La vía de administración influye en la absorción de las sales de selenio. Así, la vía intramuscular resulta la forma de absorción más efectiva y rápida (Dotta *et al.*, 1988; García-Belenguer *et al.*, 1992); la absorción subcutánea es más lenta, aunque la duración del efecto se alarga y evita la administración de dosis sucesivas (García-Belenguer *et al.*, 1992).

El incremento de la actividad de la GSH-Px tras la administración de selenio vía parenteral u oral se retrasa, según los distintos autores, tres semanas (Sáez *et al.*, 1994), un mes (Maas *et al.*, 1993), o dos meses (Hamliri *et al.*, 1993). Este periodo que transcurre para que se eleven los valores de la GSH-Px tras el tratamiento sugiere, como ya se ha comentado anteriormente, que el selenio es incorporado durante la eritropoyesis (McMurry y Rice, 1982 -citado en Hamliri *et al.*, 1993-). Por este motivo, el tratamiento a los neonatos afectados con la forma congénita de la EMB tampoco les protege contra la enfermedad durante la primera semana de vida. Sin embargo, el tratamiento en el último mes de gestación previene la mortalidad por la forma congénita y mantiene la concentración alta de selenio en los corderos neonatos al menos durante un mes (Hamliri *et al.*, 1990-a; Hamliri *et al.*, 1993).

El tratamiento profiláctico de los corderos se basa en la administración de 0.08 mg de Se/ kg p.v. por vía subcutánea en los neonatos, produciendo una protección hasta el destete. Si estos animales van a ser alimentados en regiones donde existe deficiencia de selenio, conviene administrar en el momento del destete otra dosis de selenio de 1.08 mg de Se/kg (Andrés *et al.*, 1996). En ovinos se ha comprobado que la administración de selenio junto a la vitamina E en el momento del nacimiento produce la elevación de la actividad de la GSH-Px tres semanas después (Sáez *et al.*, 1994).

Como tratamiento sintomático, en camellos adultos se ha utilizado la administración de infusiones intravenosas con un 40% de glucosa, solución salina, gluconato cálcico (400, 500 y 250 mL por animal, respectivamente) y antibioterapia como oxitetraciclinas y cloramfenicol para prevenir infecciones secundarias. Como complemento de la dieta y para aumentar el apetito se pueden añadir zanahorias, manzanas y sales minerales; así como vitaminas del grupo B vía parenteral. También se pueden realizar masajes en las extremidades 3 veces al día y procurar que el animal realice ejercicio físico moderado (Kovac *et al.*, 1996).

Podemos utilizar la determinación de la actividad de la CK plasmática para controlar o monitorizar la recuperación de los animales tratados, observándose una disminución de la actividad con la mejoría clínica del animal (Smith *et al.*, 1994).

2.5.1.7.2. Administración de selenio con la dieta

La suplementación del alimento con selenio/vitamina E es una vía lenta para restablecer las concentraciones plasmáticas de ambos elementos. Por esta vía, el selenio plasmático tarda en restablecerse entre 45 y 60 días y el selenio eritrocitario 120 días. En general, para prevenir una EMB en los rumiantes se recomienda administrar en la dieta 0.1-0.15 mg de selenio/kg de MS o, al menos, 20 µg de Se/kg p.v./día y 0.1-0.3 mg de vitamina E/kg/día, incrementándose ésta última a 0.7-0.9 mg/kg p.v. en caso de que el animal ingiera dietas ricas en AGPI (García-Belenguer *et al.*, 1992).

La dosis de selenio aplicada por vía oral mantiene la concentración de selenio sanguíneo elevada durante al menos 4 meses; sin embargo, la administración por vía subcutánea protege durante 6 meses (Hamliri *et al.*, 1993).

Otro método de administración del selenio vía oral consiste en la adición de selenio en las cápsulas de antihelmínticos, de liberación controlada, durante 100 días. Se ha comprobado que protege durante 180 días a los corderos de la deficiencia de selenio y podría usarse en otros rumiantes (Grace *et al.*, 1994).

Para prevenir las enfermedades producidas por la deficiencia de selenio, la FDA (*Food and Drug Administration*) norteamericana aconseja la suplementación con 0.3 mg/kg mezclado con la alimentación en la mayoría de los animales de producción (vacas, ovejas, cerdos, patos, pollos y pavos). La suplementación diaria

no debería exceder 0.7 mg/oveja o 3 mg/vaca (Edmondson *et al.*, 1993; Hamliri *et al.*, 1995).

2.5.1.7.3. Administración en forma de bloques o mezcla de minerales

Es la forma más común de suplementación, se deja a libre disposición del ganado y no implica ningún manejo del mismo. Para la prevención de enfermedades relacionadas con la deficiencia de selenio y/o vitamina E en ganado vacuno, se recomiendan aportes de 10-20 mg de selenio/kg de mezcla mineral, estimándose un consumo de 100 g/día de la misma, ya que la ingestión de cantidades superiores implicaría riesgo de intoxicación (Sáez *et al.*, 1996-b).

Hamliri *et al.* (1995) concluyeron que el aporte de bloques minerales que contengan selenio (15 ppm) a ovejas reducía la mortalidad de los neonatos (del 16,7% al 1,6%). Además, este sistema de aporte de selenio mejoraba la ganancia de peso ($p < 0.05$) y mantenían de forma adecuada los marcadores de selenio (selenio sanguíneo y GSH-Px) en los corderos de las ovejas suplementadas.

2.5.1.7.4. Administración de selenio en forma de bolos intrarruminales

Los bolos intrarruminales se utilizan de forma preventiva y terapéutica y contienen selenio acompañado de hierro. Para su utilización es necesario haber provisto al animal de un imán intrarruminal, de tal manera que atraiga al hierro para evitar la pulverización y liberación inmediata del selenio contenido en los bolos; así, se va liberando lentamente y se conseguirá un aumento continuo y prolongado de la actividad de la GSH-Px y del selenio en sangre y tejidos (Hidiroglou *et al.*, 1985; Millar *et al.*, 1988 -citados en García-Belenguer *et al.*, 1992-).

Los bolos, verdaderas bombas osmóticas, están diseñadas para liberar 3 mg de selenio al día dentro del reticulorrumen de vacas y protegen durante 120 días. También se presentan a modo de *pellets* que se depositan en el reticulorrumen (30 gramos) y contienen un 10% de selenio elemental (con una protección de más de 18 meses); sin embargo, se ha demostrado la mayor eficacia los bolos intrarruminales (Campbell *et al.*, 1990; Parkins *et al.*, 1994).

La administración de bolos intrarruminales en animales deficientes en selenio aumenta la actividad GSH-Px al cabo de 4-6 meses, manteniéndose elevada durante 1 año. Al mismo tiempo, se incrementa la concentración de selenio en la leche, lo que protege al neonato contra la EMB durante la lactación (Sáez *et al.*, 1996-c)

Allan *et al.* (1993) describieron que existe una mayor concentración de la GSH-Px en la sangre de los terneros nacidos de madres suplementadas por el sistema de bolos intrarruminales con respecto a los terneros de madres no tratadas.

Al administrar el selenio debe tenerse en cuenta su estrecho margen de seguridad. La dosis letal media para ovejas oscila entre 0.45 y 0.7 mg/kg p.v., por lo que en pequeños rumiantes no está aconsejado el uso de los bolos intrarruminales con selenio comercializados para ganado vacuno (Donoghue y Kronfeld, 1990). Por ello, se ha desarrollado un sistema similar para liberar selenio en el reticulorrumen de las ovejas (Zervas *et al.*, 1987) y cabras (Zervas, 1988).

2.5.1.7.5. Uso de fertilizantes con selenio

Sólo es útil en zonas reducidas y no en aquellos lugares donde los animales pastorean y necesitan grandes extensiones para conseguir alimentos (Sáez *et al.*, 1996-c).

También se ha estudiado la suplementación de selenio directamente a los pastos mediante aspersores, lo que supone el aporte indirecto del mineral al ganado. Este procedimiento asegura una suplementación durante 12 meses, incluso en zonas de lixiviación máxima, como son las zonas geográficas con lluvias extremas (>4200 mm al año) (Sanson, 1990).

2.5.2. OTRAS ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LA DEFICIENCIA DE SELENIO Y/O VITAMINA E

2.5.2.1. HIPOTIROIDISMO

La deficiencia de yodo produce hipotiroidismo en humanos y animales, con consecuencias adversas, particularmente durante el desarrollo fetal. Así, se ha demostrado que el bocio y el hipotiroidismo en ratas se exacerbaban cuando concurre la deficiencia de selenio (MacPherson, 1994).

La combinación de la deficiencia de iodo y selenio tiene unas importantes repercusiones en el fisiologismo humano y animal. Por ejemplo, la síntesis de las proteínas mitocondriales específicas no ligadas del tejido adiposo marrón, el cual tiene un papel muy importante en la termorregulación, dependen de los niveles de T₃ producida por la actividad de la deiodinasa II. Disminuciones de esta proteína no ligada impediría la termogénesis que se genera con la contracción muscular. Otro

ejemplo de la deficiencia combinada de selenio y yodo es el cretinismo mixedematoso, que aparece en humanos y donde los pacientes presentan unos niveles de GSH-Px y selenio sanguíneo inferior a los observados en otras áreas bociogénicas no endémicas (MacPherson, 1994).

Existe una estrecha relación entre el selenio y el metabolismo del yodo, ya que la conversión de las hormonas que contienen yodo, desde la T_4 hasta la más potente T_3 se encuentran disminuidas en animales con niveles de selenio bajos. Esto es debido a que la enzima iodotironina-5'-deiodinasa tipo I, que mediatiza esta reacción, contiene selenocisteína (Berry *et al.*, 1991; Donald *et al.*, 1993; MacPherson, 1994; Wichtel *et al.*, 1996).

La enzima iodotironina-deiodinasa tipo II aparece en cerebro, hipófisis y tejido adiposo marrón y también convierte la T_4 en T_3 . Aunque no es una selenoenzima, la elevada T_4 plasmática produce un *feed-back* negativo sobre ella reduciendo su actividad (MacPherson, 1994; Wichtel *et al.*, 1996). Estos hallazgos parecen confirmar que el selenio es fundamental para la función normal del tiroides y de enzimas importantes que compensan el efecto de la deficiencia de yodo (Zagrodzki *et al.*, 1998).

En ratas y vacas deficientes en selenio aparece un incremento en la concentración de la T_4 , mientras que el metabolito activo, la T_3 , disminuye. La concentración de T_4 libre plasmática puede aumentar más de cuatro veces en la deficiencia de selenio. Estos cambios en las hormonas tiroideas son respuestas específicas de la deficiencia de selenio. De esta manera, el metabolismo tiroideo anormal puede ser la causa predisponente de algunos de los cambios fisiológicos observados en la deficiencia de selenio y no la modulación de la concentración periférica de la hormona del crecimiento (MacPherson, 1994; Wichtel *et al.*, 1996).

Así, se ha observado que la incidencia de bocio es mayor en corderos procedentes de madres que han consumido dietas deficientes en selenio, encontrándose niveles de T_4 y T_3 mayores en aquellos animales suplementados con selenio (Donald *et al.*, 1993). Hallazgos similares han sido descritos en ratas (Beckett *et al.*, 1987 -citado en Donald *et al.*, 1993-) y en vacas (Arthur *et al.*, 1988 -citado en Donald *et al.*, 1993-).

El fallo en el crecimiento en los animales deficientes en selenio puede resultar por una menor síntesis de hormona del crecimiento producida en la hipófisis que está mediada por la T_3 (MacPherson, 1994).

2.5.2.2. MENOR PRODUCCIÓN DE LANA

En ovejas que han recibido una suplementación de la dieta con selenio se ha observado una mayor supervivencia de los corderos, además de un mayor número de corderos destetados por oveja (Langlands *et al.*, 1991-b).

La supervivencia de los corderos y la producción de lana resultan afectados por la deficiencia de selenio y pueden ser debido a los cambios en la producción de hormonas tiroideas (Donald *et al.*, 1993). La supervivencia de los corderos recién nacidos depende en gran medida de su capacidad termorreguladora, sobre todo en aquellas áreas geográficas con climas adversos (Caple *et al.*, 1985)

Las hormonas tiroideas también son requeridas para la iniciación y maduración del folículo de lana y para su crecimiento adecuado (Ferguson *et al.*, 1965 -citado en Donald *et al.*, 1993-). La producción de lana y el diámetro medio de la fibra se vieron significativamente aumentados cuando se realizó la suplementación con selenio a ganado que presentaba la deficiencia del mineral (Donald *et al.*, 1994-a).

2.5.2.3. MORTALIDAD NEONATAL

Parecen existir dos mecanismos que podrían explicar el incremento de la mortalidad en los neonatos:

1. El selenio es un componente de la GSH-Px, una enzima que tiene un papel antioxidante al catalizar la destrucción de peróxidos e hidroperóxidos. Estos compuestos dañan las membranas celulares y están asociados al desarrollo de la EMB, una condición que restringe el movimiento de los neonatos cuando la lesión aparece en las extremidades, o la muerte súbita si el músculo principalmente afectado es el cardíaco (Langlands *et al.*, 1991).
2. El selenio es un componente de la enzima iodotironina-5'-desiodinasa tipo I, que cataliza la conversión extratiroidea de T₄ a la forma más activa T₃. La causa por la que la deficiencia subclínica de selenio provocaba una mayor mortalidad perinatal fue atribuida a una menor termogénesis, directamente relacionada con los niveles sanguíneos bajos de hormonas tiroideas observados en animales deficientes en selenio (Donald *et al.*, 1993; Donald *et al.*, 1994-a). Posteriormente esta causa fue descartada por los mismos autores, concluyendo que la capacidad termorreguladora en los corderos no se afecta por la deficiencia de selenio. Por tanto, la mortalidad neonatal aparece como una forma de EMB (Donald *et al.*, 1994-b).

Otros autores han descrito el síndrome del ternero débil, que puede asociarse a diversas condiciones que llevan a la muerte del ternero en el periodo neonatal. Entre las condiciones relacionadas se encuentra el bocio, infecciones

congénitas, deficiencia de selenio, malformaciones congénitas letales y otras (Mee *et al.*, 1991).

2.5.2.4. INMUNOSUPRESIÓN

La deficiencia de selenio y vitamina E afectan a la respuesta inmunológica (Latshaw, 1991). Se ha observado que los niveles de selenio influyen en la respuesta inmune humoral y celular no específica; así, una deficiencia de selenio produce una inmunosupresión (Erskine *et al.*, 1989; Grasso *et al.*, 1990; Maas, 1990; Turner y Finch, 1990; Braun *et al.*, 1991; Latshaw, 1991; Turner y Finch, 1991; Hogan *et al.*, 1993; Fivaz *et al.*, 1993; Sordillo *et al.*, 1993; MacPherson, 1994; Pollock *et al.*, 1994; Smith, 1994; Malbe *et al.*, 1995; Swecker *et al.*, 1995; Cappa, 1996; Finch y Turner, 1996; Kiremidjian-Schumacher *et al.*, 1996; Andrés *et al.*, 1997-b; Kolb, 1997; Swecker, 1997; Ramos *et al.*, 1998).

La suplementación dietética de los mamíferos con selenio y vitamina E es importante para mantener los mecanismos defensivos, incluyendo la producción de anticuerpos, proliferación celular, producción de citoquinas, metabolismo de las prostaglandinas y función de los neutrófilos (Smith, 1986 - citado en Hogan *et al.*, 1993-).

Las deficiencias de selenio son capaces de impedir el crecimiento normal de la bolsa de Fabricio, mientras que la atrofia del timo requiere la deficiencia combinada de selenio y vitamina E. Basándose en estos hallazgos, son más vulnerables aparentemente las células B que las células T a la deficiencia de selenio, aunque esto no ha sido demostrado por estudios funcionales (Turner y Finch, 1991). Sin embargo, Ramos *et al.* (1998) determinaron la respuesta inmune en corderos tras la inoculación con selenio y/o vitamina E y los resultados

determinaron un efecto positivo sobre la inmunidad, principalmente la respuesta de tipo celular.

Aunque muchos autores han demostrado que la deficiencia de selenio produce inmunosupresión, Fivaz *et al.* (1993) observaron que el tratamiento con selenio no aportaba ninguna ventaja útil en el control de los parásitos internos en cabritos de raza Angora. De igual modo, Jelinek *et al.* (1988) realizaron un estudio experimental infestando con *Haemonchus contortus* a un grupo de ovejas suplementadas con selenio y otro grupo deficiente en selenio y tampoco encontraron diferencias en la respuesta inmune entre ambos grupos.

2.5.2.4.1.- Resistencia a las infecciones

Diversos estudios han comprobado que la suplementación con selenio y vitamina E provoca una mayor resistencia a la infección por distintos patógenos como *Salmonella typhimurium*, *Eimeria tenella*, *Brucella ovis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Chlamydia* spp., *Candida* spp. (Grasso *et al.*, 1987 - citado en Braun *et al.*, 1991-; MacPherson, 1994; Finch y Turner, 1996; Swecker, 1997). También se han descrito enteritis en ovejas y cabras producidas por *Yersinia enterocolitica* asociadas a la EMB (Slee y Button, 1990).

De igual modo, la capacidad de los leucocitos para destruir *Candida albicans* intracelular está inhibida en vacas deficientes en selenio (Boyne y Arthur, 1979 y 1981 -citados en Braun *et al.*, 1991-).

2.5.2.4.2.- Función de los fagocitos

La mayoría de los estudios sobre la influencia del selenio y la vitamina E en las funciones de los fagocitos se han centrado sobre la capacidad de captación y eliminación de los organismos y sobre el metabolismo oxidativo de los neutrófilos (Finch y Turner, 1996).

La deficiencia de selenio afecta poco o nada a la capacidad fagocítica de los neutrófilos, pero tiene un efecto importante sobre la actividad bactericida una vez el microorganismo ha sido fagocitado (Grasso *et al.*, 1990; Turner y Finch, 1990; Finch y Turner, 1996); sin embargo, Swecker (1997) determinó que se afectan tanto la fagocitosis como la actividad bactericida de los neutrófilos.

La reducción de la capacidad oxidativa de los neutrófilos sometidos a la deficiencia de selenio y vitamina E ha sido descrita por varios autores (Finch y Turner, 1996; Swecker, 1997) y se ha demostrado que los neutrófilos procedentes de animales con deficiencia en selenio poseen una concentración reducida de las enzimas bactericidas mieloperoxidasa, fosfatasa alcalina y fosfatasa ácida. La menor actividad bactericida de los neutrófilos deficientes en selenio está ligada a una menor producción de radicales oxígeno tóxicos; así, en otros estudios se destaca que los neutrófilos deficientes en selenio reducen más cantidad de azul de tetrazolium (lo que indica una mayor producción de superóxidos), consumen menos oxígeno, reducen más lentamente el citocromo c, producen menos radicales hidróxido y menor actividad de la enzima que produce el Dinucleótido de nicotinamida y de adenina fosfato (NADP) (para la producción de radicales oxígeno) (Swecker, 1997).

La suplementación con selenio y vitamina E en animales deficientes mejora la función de los neutrófilos (Finch y Turner, 1996). La capacidad de migración y la respuesta quimiotáctica de los neutrófilos de cabras se ven reducidas en casos de

deficiencia de selenio y ambas respuestas pueden incrementarse con la administración de selenio a los animales o a las células *in vitro* (Aziz *et al.* 1984 - citado en Finch y Turner, 1996-; Braun *et al.*, 1991). La capacidad oxidativa de los neutrófilos también se ve reducida en las células de cabras con deficiencias en selenio (Aziz y Kelsius, 1986).

La capacidad de migración de los fagocitos hacia el punto de infección se afecta por la deficiencia de selenio y vitamina E (Finch y Turner, 1996). La suplementación con selenio aumenta la migración masiva de polimorfonucleares neutrófilos hacia la glándula mamaria cuando se produce una mamitis. Esta migración de neutrófilos permite la eliminación de las endotoxinas bacterianas tras la fagocitosis, lo que limita o disminuye los signos clínicos de la enfermedad (Erskine *et al.*, 1989; Erskine *et al.*, 1990).

Estudios recientes demuestran que los macrófagos sanguíneos de vacas se pueden beneficiar de la suplementación con vitamina E, observándose un incremento de la producción de interleukina-I y una mayor expresión del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II, mientras que los macrófagos de la glándula mamaria no se ven afectados (Finch y Turner, 1996).

La producción de linfocitos en el timo y en la bolsa de Fabricio de los pollos se ve claramente disminuida cuando éstos se someten a dietas con bajos niveles de selenio y/o vitamina E (Marsh *et al.*, 1986)

En pollos, la deficiencia combinada de selenio y vitamina E afecta a la maduración de los linfocitos, se produce una incapacidad en el crecimiento de los órganos linfoides primarios y un daño en sus epitelios. Esta alteración en el timo y en la bolsa de Fabricio hace suponer que ocurre de igual manera, por ejemplo, en las placas de Peyer de los mamíferos (Turner y Finch, 1991).

El suplemento de selenio incrementa la capacidad de proliferación de los linfocitos de bovino *in vitro*; se supone que el selenio juega un papel importante en la regulación del metabolismo del ácido araquidónico a través de la vía de la 5-lipooxigenasa y que éste puede ser uno de los mecanismos de inhibición de la proliferación de los linfocitos y de la disminución de la resistencia a enfermedades infecciosas observada en los animales con deficiencia de selenio (Cao *et al.*, 1992; Pollock *et al.*, 1994).

Por otro lado, se ha observado que la deficiencia de selenio modificaba los mecanismos defensivos en las vacas pero no estaba mediado por una disminución de la capacidad de los linfocitos sanguíneos periféricos a responder frente a antígenos y a su maduración en células inmunocompetentes, sino por una disminución significativa en el número de monocitos circulantes comparado con vacas que ingieren cantidades adecuadas de selenio en la dieta (Sordillo *et al.*, 1993).

2.5.2.4.3.- Producción de anticuerpos

La respuesta inmune humoral dependiente de los niveles de selenio aparece de forma muy variable en la literatura. Existe una gran discusión sobre la vía de administración del selenio (oral o parenteral) y la respuesta humoral, determinada en forma de títulos de anticuerpos frente a diversos patógenos (*Leptospira* spp., *Haemophilus* spp., *Pasteurella* spp., *Corynebacterium* spp., *Brucella* spp., *Clostridium* spp. o los virus del IBR y de la parainfluenza tipo 3) (Swecker, 1997).

La suplementación con selenio y vitamina E incrementa la producción de anticuerpos frente a mitógenos y antígenos (MacPherson, 1994; Swecker, 1997). También se ha visto que la producción de IgM e IgG puede ser estimulada con mayores niveles de selenio en la dieta, pero es muy variable y depende de la

especie, edad, sexo y tipo de antígeno (Turner y Finch, 1991; Finch y Turner, 1996). Otros estudios sólo establecen un aumento en la producción de las IgM, no así en las IgG (Swecker, 1997).

Finch y Turner (1996) realizaron una revisión de los estudios realizados sobre la producción de anticuerpos en estados deficientes de selenio y/o vitamina E y en la suplementación, encontrando hallazgos considerados dispares según los autores consultados.

También se ha visto, en pollos y ratas, que el sexo puede intervenir en la influencia que la deficiencia de selenio tiene en el desarrollo de la respuesta inmune humoral (Finch y Turner, 1996).

Marsh *et al.* (1986) describieron la existencia de un fallo en la producción de anticuerpos en animales con deficiencia de selenio y que éste depende de la edad del animal.

De hecho, la respuesta que sobre el sistema inmune tiene la deficiencia de selenio y de vitamina E está bien estudiada en seres humanos y animales de laboratorio así como en caballos, pollos y cerdos, donde se ha visto que la suplementación con vitamina E es efectiva provocando un aumento de la respuesta humoral; sin embargo, estos efectos sobre el sistema inmune no se han estudiado en las especies rumiantes (Finch y Turner, 1996).

La suplementación con selenio y vitamina E resulta particularmente efectiva al aumentar la respuesta de los anticuerpos de animales que eran deficientes en ambos nutrientes; sin embargo, es menos efectiva si alguno de los dos nutrientes está a niveles adecuados (Finch y Turner, 1996).

La suplementación con selenio a dosis de 120 mg/kg de MS produce una elevación de la concentración de IgG en el calostro comparado con vacas deficientes; además los terneros de vacas suplementadas tienen una mayor concentración sérica de IgG al destete (Swecker *et al.*, 1995).

2.5.2.4.4.- Proliferación de linfocitos T y B en respuesta a mitógenos

La suplementación con selenio afecta de forma variable a la función de los linfocitos. La fitohemaglutinina y la concanavalina A son unos mitógenos que estimulan la blastogénesis de los linfocitos T y el mitógeno "pokeweed" en los linfocitos B y T (Swecker, 1997). *In vitro*, se ha comprobado que la suplementación con selenio estimula la blastogénesis de los linfocitos; sin embargo, *in vivo* la respuesta es más variable.

En la deficiencia de selenio subclínica hay un fallo en la proliferación de linfocitos en respuesta a un estimulante policlonal (mitógeno) como la fitohemaglutinina, concretamente varias poblaciones de linfocitos T son susceptibles a la deficiencia, no ocurriendo lo mismo con los linfocitos B y no encontrándose evidencias de daño eritrocitario, con un hematocrito y hemoglobina dentro de los valores normales (Turner y Finch, 1990). Sin embargo, Morris *et al.* (1984) detectaron en los animales afectados una anemia y cuerpos de Heinz (hemoglobina oxidada y desnaturalizada), debido posiblemente a un daño en los eritrocitos. Kursá y Kuprova (1976) vieron en vacas que padecían una deficiencia clínica o subclínica de selenio un incremento en la hemólisis osmótica y oxidativa de los eritrocitos. Más tarde, Gutzwiller (1998) concluyó que la GSH-Px puede ser más importante en la protección de la hemoglobina que en la protección de los eritrocitos frente a los daños oxidativos.

Los niveles de selenio influyen sobre la capacidad de proliferación de los linfocitos, Así, Cao *et al.* (1992) señalaron que como la GSH-Px juega un papel importante en el control de la oxidación enzimática del ácido araquidónico a través de las vías de la ciclo- y lipo-oxigenasas, puede ser el factor causante de una disminución de la proliferación de linfocitos y, consecuentemente, de una menor resistencia a enfermedades infecciosas.

Además, se ha demostrado que la edad puede también influir ya que se modifica la respuesta inmune celular, con la pobre respuesta de los linfocitos tras la estimulación con mitógenos en los corderos con deficiencia de selenio; sin embargo, en sus madres (también deficientes) no se produce el mismo efecto. Este cambio de la respuesta inmune con la edad es de especial importancia ya que se produce cuando los niveles de anticuerpos maternos empiezan a decaer y los animales jóvenes son más vulnerables a las infecciones (Finch y Turner, 1996). La suplementación por vía oral de selenio desde la mitad de la gestación hasta el parto incrementa la concentración de IgG en el calostro, y también la cantidad de IgG en el suero de los terneros durante la lactación (Swecker, 1997). Además, después de los 21 días de edad, los corderos consumen cantidades mayores de pasto y la capacidad para absorber el selenio de la dieta disminuye cuando el rumen se desarrolla (Langlands *et al.*, 1990).

La adición de vitamina E a dietas de ratas deficientes incrementan la respuesta mitógena de las células T a la presencia de concanavalina A y fitohemaglutinina, y la respuesta de las células B frente a lipopolisacáridos (MacPherson, 1994).

Por la respuesta que los rumiantes adultos tienen a la aplicación de mitógenos, éstos parecen ser resistentes a los efectos inmunológicos de la deficiencia de selenio. Las ovejas con una dieta deficiente en selenio y vitamina E mantienen una buena respuesta a la fitohemaglutinina, mientras que sus corderos

muestran un fallo en la reactividad de las células T. Este fallo en la respuesta linfoproliferativa puede ser corregido con la administración de selenito de sodio (Turner y Finch, 1990). La concentración de selenio de la microflora ruminal es 46 veces superior a la concentración de la dieta; parece que este selenio ruminal protege frente a la deficiencia y explicaría la resistencia de los animales adultos a la inmunosupresión por la carencia del mineral (MacPherson, 1994).

La fitohemaglutinina ha sido utilizada ampliamente como estimulante no específico de la transformación blastogénica y proliferación de linfocitos. La inoculación intradérmica de fitohemaglutinina tiene la gran ventaja de que nos permite estudiar la respuesta proliferativa de los linfocitos, principalmente los linfocitos T, pues éstos son más sensibles al estímulo con fitohemaglutinina que los linfocitos B; otra ventaja del método es que no precisa la sensibilización previa con el antígeno y ha sido ampliamente utilizada en la valoración de la inmunidad mediada por células en los animales domésticos (Ekkel *et al.*, 1995; Ramos *et al.*, 1998). Cuando se administra vía intradérmica, la fitohemaglutinina induce una reacción de hipersensibilidad de tipo retardado y ha sido utilizada en humanos, roedores, pollos, cerdos y vacas (Ekkel *et al.*, 1995). La reacción local produce un engrosamiento de la piel que puede medirse con un calibrador y alcanza su máximo a las 24-48 horas (Parmentier *et al.*, 1998; Sato, 1998; Singh, y Mohanty, 1998).

La reacción histológica que produce es una inflamación con eritema e induración, con predominio de células mononucleares (Ekkel *et al.*, 1995); sin embargo, Gill *et al.* (1995) observaron histológicamente un marcado edema y un infiltrado significativo de eosinófilos y linfocitos.

La hipersensibilidad retardada se ha usado como indicador *in vivo* de la inmunidad celular y ha sido descrita ampliamente en la literatura para comprobar la menor respuesta inflamatoria que aparece en animales sometidos a estrés como en porcino (Ekkel *et al.*, 1995) y en bovino (Ward y Spears, 1999); en pollos

infestados por Criptosporidios (Hornok *et al.*, 1999), en ratones infestados por *Trichinella* spp. (Boulos *et al.*, 1993) en corderos infestados con *Haemonchus contortus* (Gill *et al.*, 1993); y para determinar de forma cualitativa una inmunosupresión en pollos (Brown-Borg *et al.*, 1991; Chu *et al.*, 1993; Kai *et al.*, 1993; Miljkovic *et al.*, 1993; Kean y Lamont, 1994; Scott y Siopes 1994; Lessard *et al.*, 1997; Bertuzzi, *et al.*, 1998), codornices (Grassman y Scanlon, 1995), patos (Laudert *et al.*, 1993), équidos (Mal *et al.*, 1991; Tumas *et al.*, 1994), bóvidos (Kegley y Spears, 1995; Sato, 1998; Wambura *et al.*, 1998), ovinos (Rothwell *et al.*, 1991; Ramos *et al.*, 1998), cerdos (Rafai *et al.*, 1988; Raszyk y Pillich, 1990; Raszyk, 1992; González-Vega *et al.*, 1993; Heugten *et al.*, 1994; Moore *et al.*, 1994; Whyte *et al.*, 1994; Ekkel *et al.*, 1995; Ekkel *et al.*, 1996; Albina *et al.*, 1998) perros (Reddy y Rao, 1992; Furuta *et al.*, 1994; Miyamoto *et al.*, 1995) y ciervos (Quist *et al.*, 1997).

2.5.2.4.5.- Citodestrucción mediada por los linfocitos T y por células NK

La suplementación con selenio produce un incremento significativo en la actividad lítica de las células NK, así como, en la proliferación y actividad lítica de las células linfoquina-activadas. Aunque se desconocen los mecanismos exactos por lo que esto se produce, se supone que se aumenta la capacidad de destruir células con infecciones virales o en etapas tempranas de crecimiento neoplásico (Kiremidjian-Schumacher *et al.*, 1996).

2.5.2.5. CÁNCER

Se ha estudiado la capacidad del selenio para inhibir las poblaciones celulares neoplásicas, lo que se ha conseguido utilizando altas dosis en animales de laboratorio prácticamente al límite de las dosis tóxicas (Turner y Finch, 1991).

Varios investigadores trabajando con ciertos tipos de cáncer inducidos químicamente o con virus, identificaron condiciones bajo las cuales el selenio era claramente anticarcinogénico; sin embargo, no dan explicación para ello (Oldfield, 1987).

Según estudios epidemiológicos en humanos se suponía que los niveles de selenio óptimos protegían contra la incidencia del cáncer (Flodin, 1988). Se ha comprobado que el selenio, a niveles que inhibe la proliferación de linfocitos y de líneas celulares neoplásicas cultivadas, no inhiben la actividad de las células NK (Kay *et al.*, 1986, -citado en Turner y Finch, 1991-). Más tarde, Kiremidjian-Schumacher *et al.* (1996) demostraron que la suplementación con selenio en la dieta provoca un aumento en la función de las células NK. Así, en un individuo con infecciones virales o en las etapas tempranas de un proceso neoplásico, es esperable que aumente la capacidad para destruir el agente causal.

En medicina humana, Murata (1991, -citado en Kolb, 1997-) determinó que una dieta rica en vitamina E inhibe el desarrollo del cáncer de pulmón en fumadores y también tiene relación con una menor incidencia del cáncer de colon.

2.5.2.6. MAMITIS

La incidencia y gravedad de las mamitis en el vacuno se han relacionado con la deficiencia de selenio y vitamina E (Smith *et al.*, 1984; Erskine *et al.*, 1989; Erskine *et al.*, 1990; Grasso *et al.*, 1990; Braun *et al.*, 1991; Maddox *et al.*, 1991; Hogan *et al.*, 1993; Coe *et al.*, 1993; Pehrson, 1993; Malbe *et al.*, 1995; Sandholm *et al.*, 1995; Kolb, 1997).



La deficiencia de selenio *per se* no produce la aparición de mamitis, se requieren factores adicionales como los errores en el manejo y la falta de higiene en el ordeño para que éstas aparezcan (Braun *et al.*, 1991).

Coe *et al.* (1993), para determinar si había una mayor predisposición a mamitis en las vacas deficientes en selenio, utilizó el contaje de células somáticas en leche y comparó con vacas no suplementadas, no encontrando diferencias significativas entre ambos grupos. Sin embargo, Sandholm *et al.* (1995) sí encontraron en las vacas suplementadas una menor incidencia de cuarterones afectados de mamitis y una disminución en el contaje de células somáticas y de N-acetil- β -D-glucosaminidasa, concluyendo que el selenio tiene un efecto preventivo sobre las mamitis.

Debido a la alteración del sistema inmunitario, se ha demostrado en vacas una mayor resistencia a mamitis por coliformes cuando los niveles de selenio son óptimos, ya que los recuentos de bacterias en leche fueron mucho menores en vacas con deficiencias (Erskine *et al.*, 1989; Grasso *et al.*, 1990; Maddox *et al.*, 1990; Braun *et al.*, 1991). Sin embargo, estos efectos no fueron observados en la infección experimental con *Staphylococcus aureus*, pudiendo atribuirse la pérdida de los efectos del selenio a la naturaleza de la infección de estas bacterias, que son de curso más crónico y de tipo subclínico, lo que permite su adaptación y sobrevivir en el nicho ecológico de la glándula mamaria (Erskine *et al.*, 1990; Grasso *et al.*, 1990).

Durante la deficiencia de selenio se ha observado que se altera la biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos, ambos implicados en la patogenia de la mastitis (Maddox, 1991).

Por otro lado, la suplementación con selenio produce una reducción del recuento de bacterias en leche, reduce el número total de bacterias al aumentar la

migración de PMN hacia la glándula y potencia la eficacia de los fagocitos. Además, las vacas con una menor concentración de bacterias en leche tienen menos endotoxinas, lo que reduce la gravedad de las mamitis y los signos clínicos, incluyendo la hipogalaxia (Erskine *et al.*, 1989).

La suplementación dietética en las etapas tempranas de la lactación en vacas con vitamina E produce un aumento de la actividad bacteriostática de los neutrófilos de bovinos y una reducción de la frecuencia y duración de las mamitis clínicas (Hogan *et al.*, 1992; Ali-Vehmas *et al.*, 1997).

Estos hallazgos parecen indicar el papel que el selenio tiene sobre la resistencia a las mamitis; sin embargo, el mecanismo exacto por el que está mediado no se conoce. La mayor incidencia de mamitis en la deficiencia de selenio ha sido orientada por Grasso *et al.* (1990), los cuales suponen que es debida a una pérdida de la capacidad fagocítica, bactericida y propiedades bioquímicas de los neutrófilos.

2.5.2.7. INFERTILIDAD

Muchos autores han encontrado una mayor fertilidad en los animales suplementados con selenio (Godwin *et al.*, 1970 -citado en Langlands *et al.*, 1991-b-; Donoghue y Kronfeld, 1990; Maas, 1990; Braun *et al.*, 1991; Lamand, 1991; Langlands *et al.*, 1991-b; Cao *et al.*, 1992; Allan *et al.*, 1993; Edmondson *et al.*, 1993; Mihailovic *et al.*, 1993; Pehrson, 1993; MacPherson, 1994; Sáez *et al.*, 1994; Behne *et al.*, 1996; Cappa, 1996; Andrés *et al.*, 1997-c). Se ha demostrado que la suplementación con seleniato de bario incrementa significativamente las tasas de concepción en vacas (Allan *et al.*, 1993; MacPherson, 1994), produce un incremento en la tasa de fecundación tras la primera inseminación y frecuencia de partos en aquellos animales que son suplementados con selenio, disminuyen los

casos de EMB neonatal y aumenta el número de terneros que llegan al destete (Allan *et al.*, 1993). El-Azab *et al.* (1993) encontraron diferencias significativas en los valores de selenio sérico entre las vacas que no presentaban ovulación (con unos menores niveles de selenio en suero) y el grupo control.

La deficiencia en selenio produce un ligero retraso en el crecimiento de las gónadas masculinas de ratas durante la pubertad; si persiste la deficiencia tras algunas generaciones, aparece una disminución de la masa y cambios en la morfología testicular, que histológicamente corresponde a una atrofia testicular con azoospermia completa y una reducción en el diámetro de los túbulos seminíferos, con presencia casi exclusiva de células de Sertoli y pocas células pluripotenciales. Estos cambios son reversibles y es posible recuperar la espermatogénesis si administramos una dieta adecuada en selenio. Así mismo, estos cambios reversibles se explican por una disminución en la producción de testosterona en los ratones deficientes, ya que se afecta la síntesis primaria de la hormona en las células de Leydig y no de forma secundaria (menor secreción de LH en hipófisis) o terciaria (menor secreción de GnRH en hipotálamo); de manera que se explica el papel importante que la actividad de la GSH-Px tiene en la protección contra la peroxidación en la ruta metabólica de la biosíntesis de testosterona y, por tanto, la menor fertilidad en los animales deficientes (Behne *et al.*, 1996).

En humanos varones con deficiencia de selenio se ha observado una subfertilidad debido a una reducción en la motilidad de los espermatozoides. En esta especie, se le ha reconocido al selenio un papel importante en la nutrición de las mujeres embarazadas, teniendo unos mayores requerimientos durante la gestación y en el inicio de la lactación. La concentración de selenio plasmático disminuye durante la gestación hasta alcanzar su valor más bajo inmediatamente antes del parto. El total de selenio maternal se utiliza para la producción del calostro, contribuyendo a la disminución del selenio durante el final de la gestación.

Se ha propuesto la suplementación con selenio a mujeres embarazadas y lactantes residentes en áreas que son deficientes en el mineral (MacPherson, 1994).

La deficiencia subclínica de selenio está aparentemente asociada con un incremento en la mortalidad embrionaria (Langlands *et al.*, 1991-a).

Sáez *et al.* (1994) no encontraron diferencias significativas en la prolificidad entre las ovejas suplementadas y las deficientes; sin embargo, sí encontraron mayor número de gestaciones en la primera inseminación, menor pérdida de peso en la época de cruzamiento y mayor fertilidad entre los animales suplementados.

Otros autores sugieren que el selenio no juega ningún papel importante en la reproducción (Braun *et al.*, 1991). Tampoco Mee *et al.* (1993 y 1995) encontraron ninguna diferencia entre las vacas suplementadas con selenio y yodo, y las deficientes en dichos minerales, en la incidencia de abortos, muertes perinatales, hipocalcemia postparto, distocias en el parto, separación prematura de placentas o retenciones placentarias.

Con respecto a la infertilidad, los hallazgos asociados a la deficiencia de selenio son la presencia de quistes ováricos y mayor incidencia de metritis; sin embargo, Coe *et al.* (1993) no encontraron diferencias significativas en la incidencia de estos dos procesos entre las vacas tratadas con selenio y las deficientes.

2.5.2.8. RETENCIONES PLACENTARIAS

El selenio (asociado o no a la vitamina E) es uno de los elementos que puede interferir en la liberación de la placenta debido a su acción protectora sobre

las membranas celulares. Las investigaciones realizadas al respecto son muy numerosas y los resultados obtenidos no son siempre concordantes (Cappa, 1996). Así, Trinder *et al.* (1973 -citado en Allan *et al.*, 1993-) y Wentink *et al.*, (1988 -citado en Binnerts *et al.*, 1993-) observaron una disminución del porcentaje de retenciones placentarias tras la administración parenteral de selenio a vacas situadas en regiones deficientes. Sin embargo otros autores como Mee *et al.* (1993 y 1995) no encontraron diferencias en la incidencia de retenciones placentarias entre vacas suplementadas y deficientes en selenio y yodo.

2.5.2.9. DERMATOSIS

Algunas lesiones dermatológicas pueden estar asociadas a deficiencia de selenio (Frost y Lish, 1975; Jones, 1984; Thompson y Foyt, 1984; Scott, 1988 -citado en Al-Qudah *et al.*, 1994-). Se ha observado una dermatitis hiperplásica con hiperqueratosis paraqueratótica producida por *Trichophyton verucosum* que no respondió al tratamiento con antifúngicos hasta que se administró selenio concomitantemente (Al-Qudah *et al.*, 1994).

También se ha estudiado que, además de otros oligoelementos como el zinc, el selenio aparece entre los minerales deficientes en granjas con problemas dermatológicos (MacDowell *et al.*, 1991).

2.5.2.10. DIARREA

Kennedy *et al.* (1987) reprodujeron experimentalmente la EMB en vacuno de leche y describieron, entre otros signos clínicos propios de la enfermedad, diarreas en los primeros días tras la administración de la dieta pobre en selenio, si bien la causa exacta de la diarrea no fue determinada.

2.5.2.11. MENOR PRODUCTIVIDAD

La deficiencia subclínica de selenio parece disminuir la productividad. Las ovejas jóvenes producen un 12% más de lana y también crecen más rápidamente (kg de peso vivo) tras la suplementación con selenio (Langlands *et al.*, 1991-a).

Por otro lado, la producción de lana y el diámetro medio de la fibra se vieron significativamente aumentados con la suplementación de selenio a ganado que presentaban deficiencia (Donald *et al.*, 1994-a).

Se ha comprobado que los pesos de los corderos al nacimiento, en mitad de la lactación y en el destete, son mayores en las ovejas suplementadas que en aquellas deficientes en selenio (Langlands *et al.*, 1990).

2.6. ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LA INTOXICACIÓN POR SELENIO

La seleniosis o intoxicación por selenio se presenta en dos formas clínicas: la aguda y la crónica. La ingestión de plantas acumuladoras de selenio como *Astragalus* spp. o *Staleya* spp., que contienen entre 1000 y 3000 mg de Se/kg de MS, pueden producir la intoxicación en un tiempo relativamente breve (Edmondson *et al.*, 1993). La intoxicación aguda por selenio también se puede producir por la sobresuplementación con selenio de las dietas, por la ingestión de pastos seleníferos donde se puede alcanzar una concentración de 10.000 ppm de selenio o por intoxicación iatrógena de selenio (se ha comprobado que una dosis de 0.4 mg/kg. de peso corporal es letal para corderos).

Debido a que existen numerosos factores que pueden afectar a la intoxicación por selenio, hay mucha controversia sobre cual es la dosis tóxica de selenio según la bibliografía consultada (Radostits *et al.*, 1994); así, Sanson (1990) estableció valores tóxicos de selenio cuando aparecen niveles superiores a 104.0 KU/L a 25°C de GSH-Px o valores superiores a 13.000 nmol/L de selenio en sangre entera; Radostits *et al.* (1994) establecieron niveles tóxicos cuando la ingesta diaria de selenio supera los 0.25 mg/kg de peso corporal en ovino y bovino, o cuando el alimento contenga más de 44 mg de selenio/kg de MS para caballos u 11 mg de selenio/kg de MS para cerdos.

Debido al uso generalizado del selenio para el tratamiento de EMB, se debe considerar siempre la dosis tóxica del selenio cuando se administre. En principio, la relación entre la dosis tóxica y la dosis terapéutica es de 50-100:1, con lo que es muy raro que ocurra una intoxicación de origen iatrogénico.

La sobrealimentación accidental con selenio puede producir seleniosis aguda con signos como distrés respiratorio, ataxia, diarrea, taquicardia, anorexia, fiebre, postración y muerte. La intoxicación crónica en áreas seleníferas por consumo de plantas con un contenido en selenio entre 5 y 20 mg de Se/kg de MS se caracteriza por la aparición de los signos de la "enfermedad del álcali", donde destacan las cojeras, alopecias y emaciación o por los signos de la ceguera, ataxia y tambaleo (Edmondson *et al.*, 1993; Radostits *et al.*, 1994).

El selenio puede detectarse en la leche, en la orina y en el pelo de los animales afectados. Los signos clínicos de la enfermedad se observan en animales con niveles sanguíneos superiores a 3 mg/kg o niveles urinarios superiores a 4 mg/kg (Radostits *et al.*, 1994).

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ANIMALES

Un total de 709 dromedarios (*Camelus dromedarius*), aparentemente sanos, fueron utilizados para el presente estudio. En las visitas a las granjas se realizó una inspección del ganado y se completó una ficha clínica donde se hacía constar:

- Isla
- Granja
- N° identificación
- Edad
- Sexo
- Estado productivo

Quedaron excluidos aquellos animales sospechosos de presentar alguna enfermedad, que tuvieran valores hematocrito menor o igual al 21%, que hubieran sido positivos de parasitosis hemática en frotis directo y aquellos que resultaron positivos serológicamente a la tripanosomosis por *T. evansi* mediante el método de aglutinación directa sobre tarjeta (CATT/ *T. evansi*, Instituto de Medicina Tropical, Amberes, Bélgica).

La fase de recogida de muestras se realizó entre los meses de junio de 1997 a marzo de 1999.

3.1.1. DISTRIBUCIÓN POR ISLAS Y GRANJAS

Los dromedarios incluidos en este estudio procedían de las 4 islas del archipiélago donde se crían estos animales: Lanzarote, Gran Canaria, Fuerteventura y Tenerife, y se reflejan en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 4. Distribución de los animales por islas.

	Nº animales	Porcentaje
Lanzarote	249	35
Gran Canaria	219	31
Fuerteventura	121	17
Tenerife	120	17
TOTAL	709	100

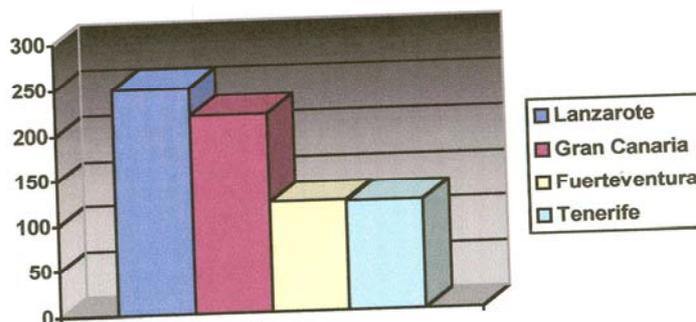


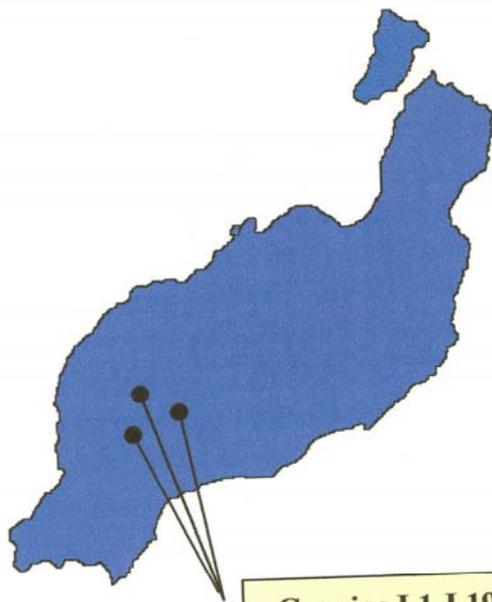
Gráfico 1. Distribución de los animales por islas.

Con relación a las granjas, para el presente estudio se seleccionaron un total de 27; 19 de las cuales estaban ubicadas en la isla de Lanzarote y fueron numeradas de LZ1 a LZ19; 4 en Gran Canaria y fueron numeradas de GC1 a GC4; 2 en Fuerteventura (FV1 y FV2) y 2 en Tenerife (TF1 y TF2).

Las granjas, en su totalidad, tenían una finalidad turística y los animales realizaban un ejercicio físico moderado. En general, todas las granjas examinadas presentaron unas condiciones higiénico-sanitarias y un manejo adecuados.

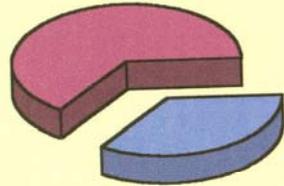
A continuación representamos la situación geográfica de cada granja y la población de dromedarios estudiados en cada isla.

Isla de Lanzarote



Granjas L1-L19

GRANJAS LZ



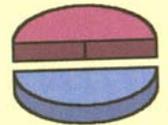
35 % de la población estudiada

Alimentación

Grupo A

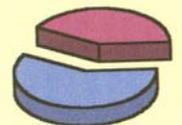
Animales

Censo estimado: 500
Examinados: 249
Porcentaje de la población: 50%



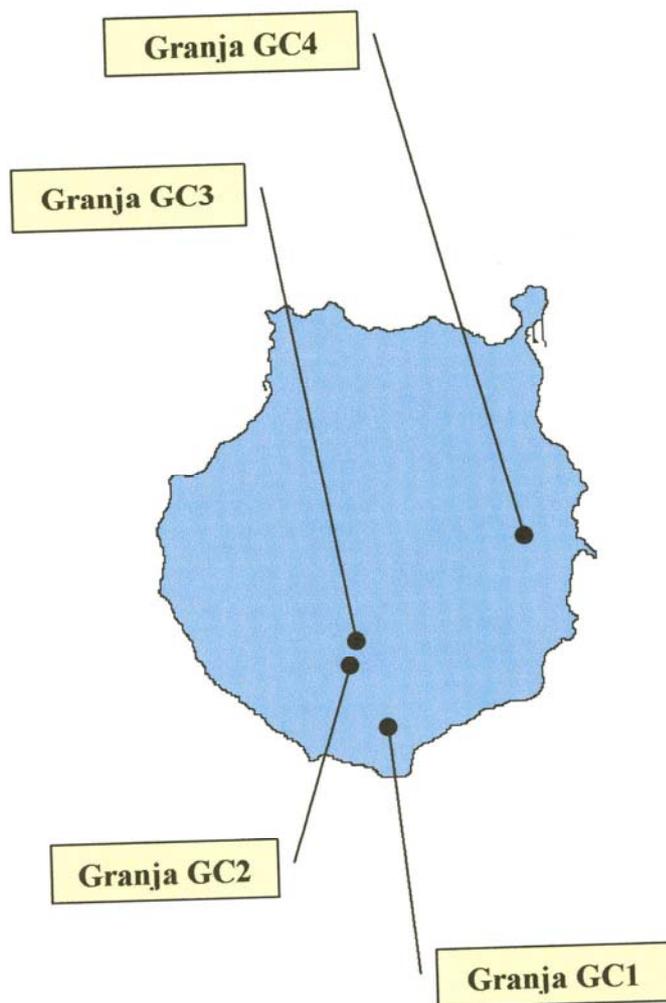
Granjas

Censo estimado: 27
Examinadas: 19
Porcentaje de la población: 70%

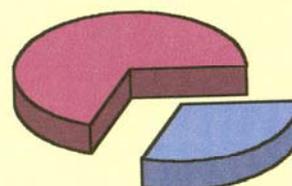




Isla de Gran Canaria



GRANJAS GC



31 % de la población estudiada

Alimentación

Grupo A (GC3)
Grupo B (GC1 y GC2)
Grupo C (GC4)

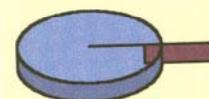
Animales

Censo estimado: 246
Examinados: 219
Porcentaje de la población: 89%

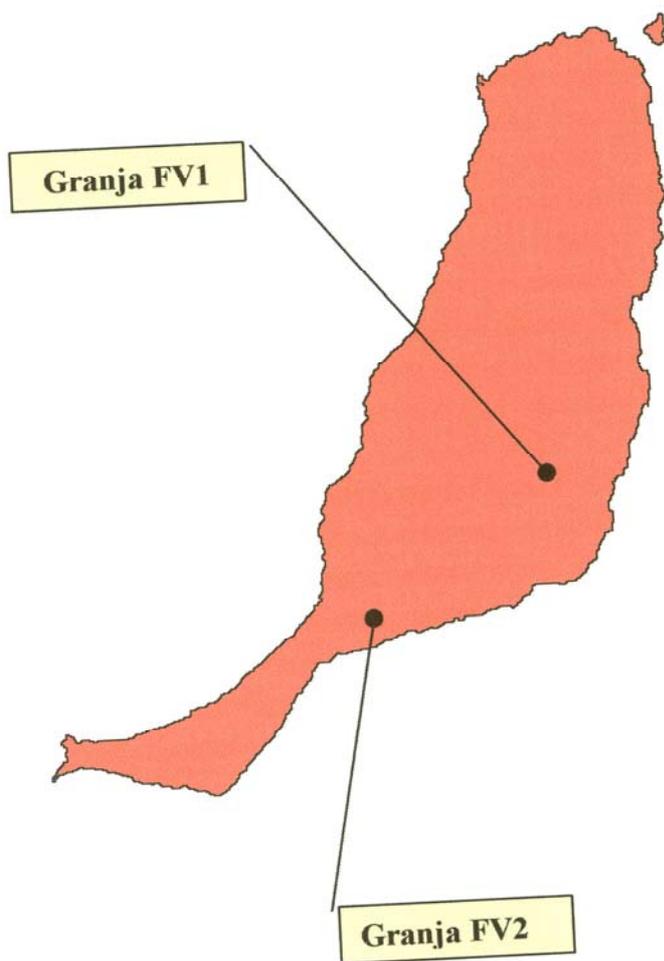


Granjas

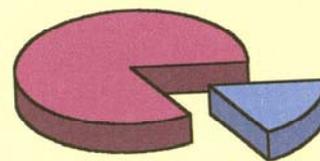
Censo estimado: 4
Examinadas: 4
Porcentaje de la población: 100%



Isla de Fuerteventura



GRANJAS FV



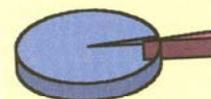
17 % de la población estudiada

Alimentación

Grupo A (FV1)
Grupo B (FV2)

Animales

Censo estimado: 125
Examinados: 121
Porcentaje de la población: 97%

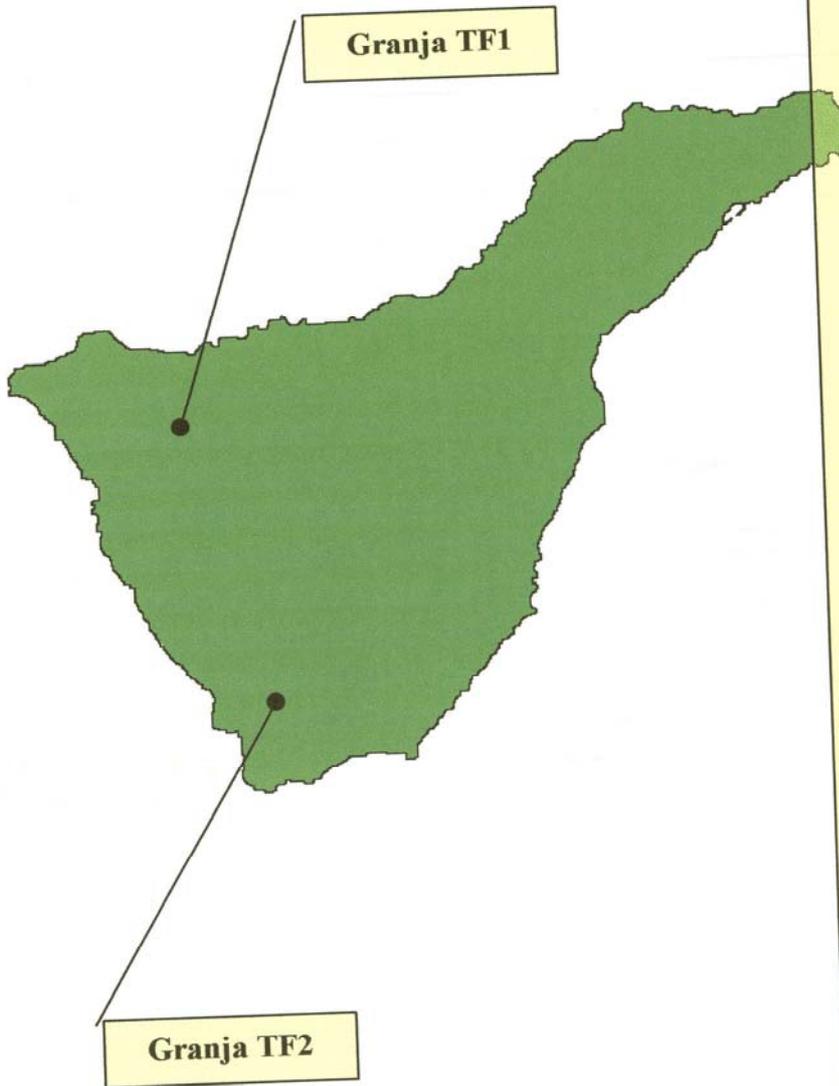


Granjas

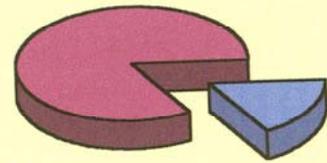
Censo estimado: 2
Examinadas: 2
Porcentaje de la población: 100%



Isla de Tenerife



GRANJAS TF



17 % de la población estudiada

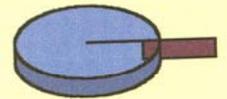
Alimentación

Grupo B (TF2)

Grupo C (TF1)

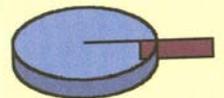
Animales

Censo estimado: 120
Examinados: 120
Porcentaje de la población: 100%



Granjas

Censo estimado: 2
Examinadas: 2
Porcentaje de la población: 100%



3.1.2. DISTRIBUCIÓN POR SEXOS

La distribución por sexos de la población estudiada se muestra en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 5. Distribución de los animales por sexos.

	Nº animales	Porcentaje
Hembras	442	62
Machos	267	38
TOTAL	709	100 %

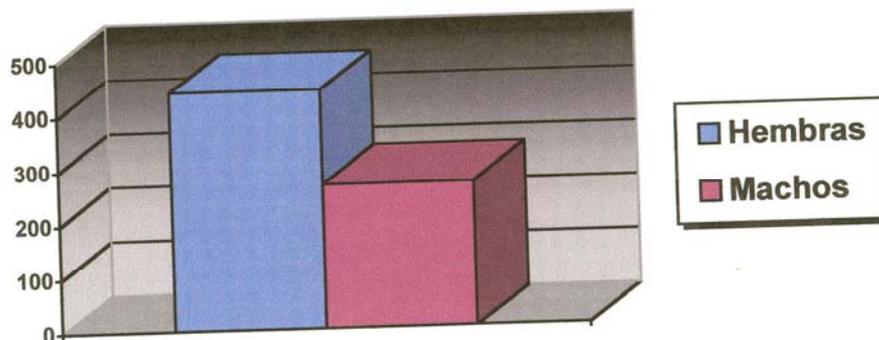


Gráfico 2. Distribución de los animales por sexos.

En las granjas visitadas se analizó toda su población; por tal, el número de animales por sexo que figura en este estudio correspondería a la distribución real de la cabaña camellar de las islas.

3.1.3. DISTRIBUCIÓN POR EDADES

Según las edades, la población de dromedarios se distribuye como se muestra en la tabla siguiente. Las categorías etales que se exponen se corresponden con los diferentes periodos del crecimiento, madurez y senectud que ocurren durante la vida de los dromedarios, es decir, jóvenes en primera fase de crecimiento (0-2 años), a su vez subdivididos en los periodos de 0-6 meses, 6-12 meses y 1-2 años,

en los cuales los animales tienen un desarrollo muy importante; jóvenes en la segunda fase de crecimiento (2-4 años); adultos jóvenes (4-10 años), cuando ocurre la madurez sexual y la mayor parte de su vida productiva; adultos viejos (10-15 años), donde comienza el declive de su vida productiva y fértil y animales seniles (más de 15 años), cuando se observa un deterioro físico importante y se ven imposibilitados para realizar trabajos de cierta magnitud.

Tabla 6. Distribución de los animales por grupos de edades.

Grupos de edades	Nº animales (%)	Subgrupos de edades	Nº animales (%)
0-2 años	100 (14)	0-6 meses	22 (3)
		6-12 meses	46 (6)
		1-2 años	32 (5)
2-4 años	63 (9)		
4-10 años	355 (50)		
10-15 años	165 (24)		
>15 años	26 (3)		
TOTAL	709 (100)		

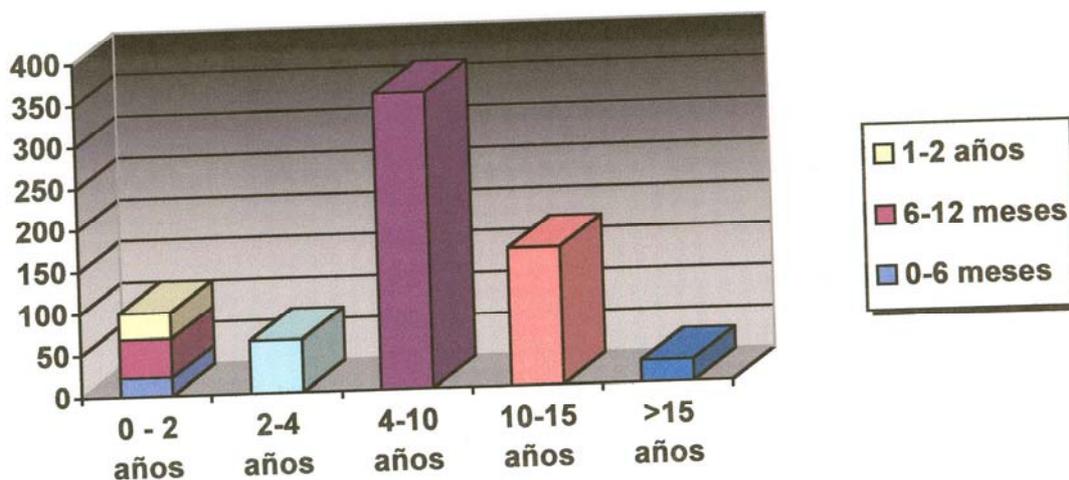


Gráfico 3. Distribución de los animales por grupos de edades.

3.1.4. DISTRIBUCIÓN RELACIONANDO EDAD Y SEXO DE LOS ANIMALES

La siguiente tabla y gráfico reflejan el número de machos y hembras clasificados por grupos de edades.

Tabla 7. Distribución de los animales según edad y sexo.

Grupos de edades	Nº machos (%)	Nº hembras (%)	Subgrupos de edades	Nº machos (%)	Nº hembras (%)
0-2 años	49 (49)	51 (51)	0-6 meses	12 (54)	10 (46)
			6-12 meses	23 (50)	23 (50)
			1-2 años	14 (44)	18 (56)
2-4 años	21 (33)	42 (67)			
4-10 años	134 (38)	221 (62)			
10-15 años	59 (36)	106 (64)			
15 años	4 (15)	22 (85)			

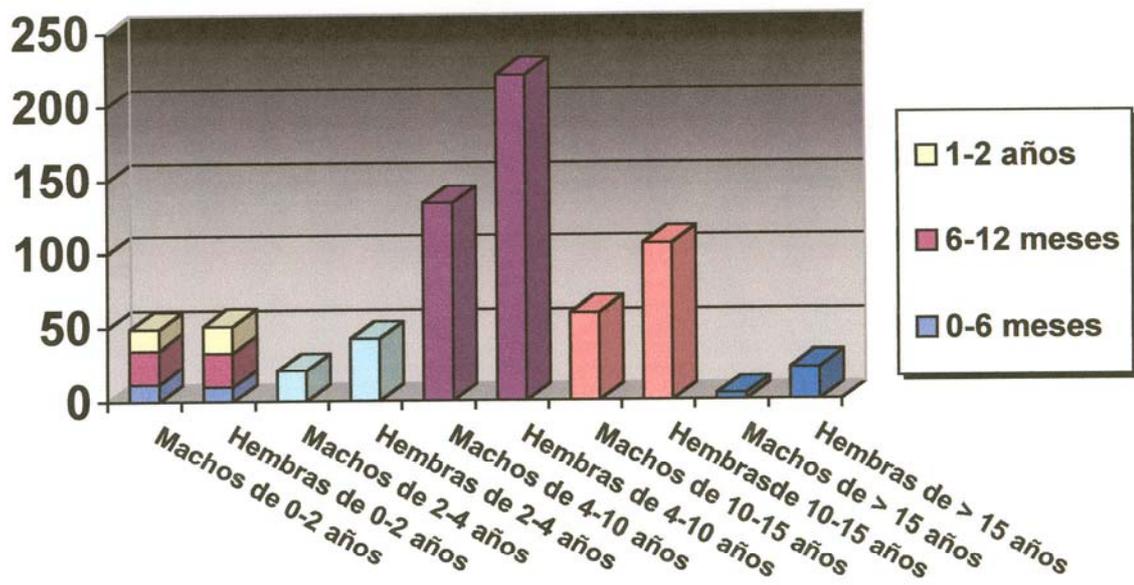


Gráfico 4. Distribución de los animales según edad y sexo.

La pirámide de edades de la población estudiada quedaría representada como sigue:

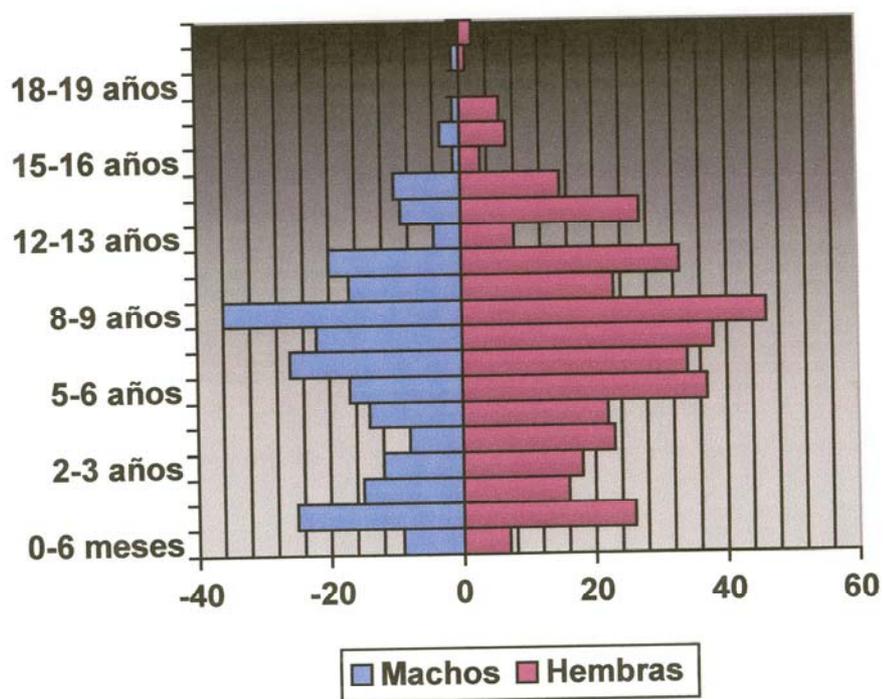


Gráfico 5. Pirámide de edades de la muestra.

3.1.5. DISTRIBUCIÓN SEGÚN ALIMENTACIÓN Y GRANJAS

La alimentación de los camellos de las islas puede ser clasificada en tres grandes grupos: Animales alimentados con concentrado de cereales y forraje que reciben plantas de la zona o pastorean por las inmediaciones de la granja (**Grupo A**), animales alimentados con concentrado y forraje (normalmente paja de trigo) y que son suplementados con bloques minerales (**Grupo B**) y animales con una alimentación básica sin suplemento de minerales (**Grupo C**).

Tabla 8. Distribución de los animales según alimentación y granjas.

Grupo según alimentación (N/ total)	Granja	Alimentos	Suplementa minerales	N/ Total
A (344/709)	FV-1	Pienso para camellos (FC-4-4 de Forrajera Canaria, a base de mezcla de alfalfa deshidratada granulada, avena, cebada, leguminosas y corrector vitamínico-mineral). Pastoreo por las inmediaciones de la granja.	NO	46/709
	GC-3	Cebada, maíz, paja de trigo y subproductos de la zona (tunera y palmera).	NO	49/709
	LZ	Maíz, paja de trigo, subproductos del maíz verde ("palote"), aulagas.	NO	249/709
B (305/709)	TF-2	Cebada, maíz, harina de soja, paja de cereal, a veces alfalfa peleteada y 150 g de sal y corrector vitamínico mineral	SI	67/709
	GC-2	Pienso comercial para caballos paseo (FC-4-1 de Forrajera Canaria, a base de mezcla de alfalfa deshidratada granulada, pulpa de remolacha, avena, cebada, leguminosas, corrector vitamínico-mineral).	SI	52/709
	GC-1	Pienso para camellos (FC-4-4 de Forrajera Canaria, a base de mezcla de alfalfa deshidratada granulada, avena, cebada, leguminosas y corrector vitamínico-mineral).	SI	111/709
	FV-2	Maíz, salvado, acacia, palmera y paja.	SI	75/709
C (60/709)	TF-1	Maíz, cebada y paja de trigo.	NO	53/709
	GC4	Avena, maíz, alfalfa deshidratada y paja de trigo.	NO	7/709

Representación gráfica de los tipos de alimentación y distribución de las granjas por alimentación:

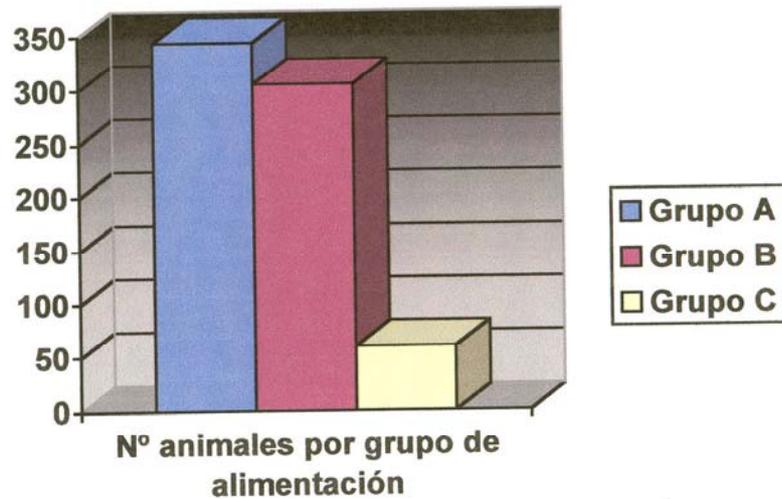


Gráfico 6. Distribución de los animales según alimentación.

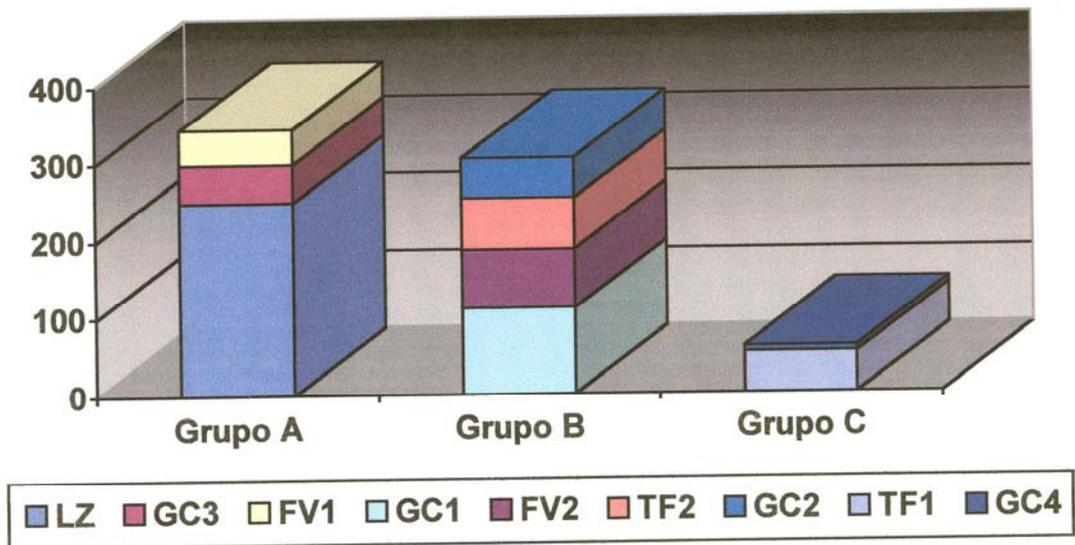


Gráfico 7. Distribución de los animales según alimentación y granjas.
Grupo A (LZ, GC3 y FV1); Grupo B (GC1, FV2, TF2 y GC2) y Grupo C (TF1 y GC4).

3.1.6. DISTRIBUCIÓN SEGÚN ESTADO REPRODUCTIVO

Atendiendo al estado reproductivo presente en el momento de la inspección, las hembras (442 animales) se distribuyeron según se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 9. Distribución de las hembras según el estado reproductivo y la alimentación.

Grupo según alimentación (N/total)	Granja	Gestación	Lactación	Vacías	N/ total
A (344/709)	FV-1	10	10	18	38/46
	GC-3	0	0	28	28/49
	LZ	10	5	152	167/249
B (305/709)	TF-2	2	7	23	32/67
	GC-2	3	2	21	26/52
	GC-1	20	25	34	79/111
	FV-2	12	12	24	48/75
C (60/709)	TF-1	2	2	17	21/53
	GC4	0	1	2	3/7
Totales		59	64	319	442/709

3.2. EXAMEN LABORATORIAL

3.2.1. TOMA DE MUESTRAS

3.2.1.1. TOMA DE SANGRE Y CONSERVACIÓN

Para la extracción de sangre se utilizaron tubos con heparina de litio de 5 mL al vacío y tubos para extracción de suero utilizando el sistema venoject (Terumo®). La sangre fue obtenida de la vena yugular tras la adecuada sujeción de los dromedarios y mantenida en refrigeración hasta la llegada al laboratorio para su posterior análisis. Las muestras fueron procesadas en las 24 horas posteriores a su extracción para la determinación de la GSH-Px y hemoglobina. Para la obtención del suero sanguíneo se procedió a la centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos y a su posterior congelación a -20°C en alícuotas de 1,5 cc.

Dado que la alimentación de los animales resulta similar durante todo el año, sólo se realizó una extracción de sangre por dromedario.

3.2.2. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

3.2.2.1. DETERMINACIÓN DE LA HEMOGLOBINA

Para la determinación de la hemoglobina se utilizó el test de hemoglobina de Boehringer Ingelheim (MPR 3, cat. N° 124729) según el método de hemoglobincianuro de Van Kampen y Zijlstra (1967), siguiendo las instrucciones del fabricante. La lectura de los valores se realizó utilizando un espectrofotómetro semiautomático Hitachi 4020 (Boehringer Mannheim), longitud de onda: Hg 546 nm.

3.2.2.1. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA GSH-Px

Para la determinación de la actividad de la enzima eritrocitaria GSH-Px se utilizó el método semimicro del test Ransel[®] (Cat. N° RS 506) de los Laboratorios Randox, basado en el método de Plagia y Valentine (1967). La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro semiautomático Hitachi 4020 (Boehringer Mannheim), longitud de onda: Hg 340 nm.

Los resultados de la GSH-Px se expresaron en función de los gramos de hemoglobina determinados en cada muestra (UI/g de Hb), tal y como se expresan habitualmente.

3.2.2.3. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE SELENIO SÉRICO

Con la finalidad de calcular la correlación con la actividad de la GSH-Px se determinó la concentración de selenio sérico en 42 sueros elegidos al azar y de aspecto no hemolizado mediante un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer. Estas determinaciones se realizaron en el servicio de Toxicología del Instituto de Medicina Preventiva "Capitán Médico Ramón y Cajal" del Ministerio de Defensa (Madrid). Los resultados se expresaron en µg/L.

3.2.2.1. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA GSH-Px

Para la determinación de la actividad de la enzima eritrocitaria GSH-Px se utilizó el método semimicro del test Ransel® (Cat. N° RS 506) de los Laboratorios Randox, basado en el método de Plagia y Valentine (1967). La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro semiautomático Hitachi 4020 (Boehringer Mannheim), longitud de onda: Hg 340 nm.

Los resultados de la GSH-Px se expresaron en función de los gramos de hemoglobina determinados en cada muestra (UI/g de Hb), tal y como se expresan habitualmente.

3.2.2.3. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE SELENIO SÉRICO

Con la finalidad de calcular la correlación con la actividad de la GSH-Px se determinó la concentración de selenio sérico en 42 sueros elegidos al azar y de aspecto no hemolizado mediante un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer. Estas determinaciones se realizaron en el servicio de Toxicología del Instituto de Medicina Preventiva "Capitán Médico Ramón y Cajal" del Ministerio de Defensa (Madrid). Los resultados se expresaron en µg/L.

3.3. PRUEBAS DE INMUNIDAD DE TIPO CELULAR

3.3.1. ANIMALES

Un total de 30 dromedarios adultos (15 machos y 15 hembras) aparentemente sanos fueron seleccionados para esta prueba. Todas las hembras utilizadas estaban gestantes (entre 8-9 meses de gestación) y todos los machos estaban castrados. Los animales pertenecían a la misma granja, y recibían el mismo sistema de manejo y alimentación. A todos los animales se les extrajo sangre con EDTA-tripotásico, para realizar un hemograma básico y descartar aquellos que tuvieran algún signo de infección o que no mostraran unos valores sanguíneos considerados normales para el dromedario; además se les extrajo sangre con heparina de litio para determinar la actividad de la GSH-Px antes del tratamiento.

Con estos animales se hicieron tres grupos de 10 dromedarios cada uno.

GRUPO Se (MEDICADO CON SELENIO):

Grupo formado por 5 machos y 5 hembras a los que se les administró 50 mg de seleniato de bario de acción prolongada (Zoselen® L.A. Esteve Veterinaria) por vía subcutánea. Dado que no existe en la literatura disponible ninguna dosis recomendada de selenio para dromedarios, la dosis anteriormente citada de selenio, así como la de vitamina E, empleada en el siguiente grupo fue la misma que la recomendada para el vacuno con unas características y peso similares.

GRUPO E (MEDICADO CON VITAMINA E):

Grupo compuesto por 5 machos y 5 hembras a los que se les administró 100 mg de vitamina E (Vitamina E® Laboratorios Ovejero) vía intramuscular.

GRUPO C (CONTROL):

Grupo formado por 5 machos y 5 hembras a los que no se les administró ninguna sustancia y que fueron utilizados como control en esta experiencia.

3.3.2. PRUEBA DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA

Dos meses después de la administración del selenio y la vitamina E se determinó de nuevo la actividad sanguínea de la GSH-Px y la concentración de hemoglobina en los 30 dromedarios de esta prueba.

La inmunidad de tipo celular fue valorada mediante la prueba de hipersensibilidad retardada *in vivo*. Ello consistió en la inoculación vía intradérmica de 0.1 mL de una solución de fitohemaglutinina (PHA, Sigma, 2.5 mg/ mL) en una región laxa de la piel (sobre la articulación del hombro y en la base del cuello). A 4 centímetros de distancia se inoculó un control (suero fisiológico estéril) y mediante un calibrador Hauptner se determinó el grosor de la piel a las 0 horas, a las 12, 24 y 48 horas postinoculación en ambos puntos. Se observó la variación que se produjo en el grosor de la piel de los animales inoculados (expresado en centímetros). Se le restó a este valor el diámetro de la piel sana de cada animal, con lo que sólo se evaluó la reacción, independientemente del grosor de la piel, que puede variar de un animal a otro.

A las 48 horas postinoculación se procedió a la toma de biopsias de la zona inoculada. La biopsia fue fijada mediante inmersión en formol tamponado al 10% para su posterior estudio histopatológico.

3.3.3. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Las muestras fijadas en formol tamponado al 10% fueron incluidas en parafina y de los bloques se obtuvieron cortes de 3-4 micras que fueron teñidos con Hematoxilina - Eosina para su ulterior estudio histológico.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para realizar el estudio estadístico se empleó el programa informático SPSS 9.0 para Windows®.

Las pruebas estadísticas utilizadas fueron el test de Scheffe para análisis de la varianza univariado y el coeficiente de correlación de Pearson para correlaciones.

En todos los casos se consideró a los resultados estadísticamente significativos si $p < 0.05$; sin embargo, se indica el valor de p en cada caso.

RESULTADOS

4.1. RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE HEMOGLOBINA

4.1.1. RESULTADOS DE LA HEMOGLOBINA EN LA POBLACIÓN

Los valores de la hemoglobina, indispensables para expresar las unidades de la actividad de la GSH-Px, hallados para toda la población figuran en las siguientes tabla y gráfico:

Tabla 10. Estadísticos descriptivos de la hemoglobina de toda la población.

Media \pm DT (g/dL)	Error típ. (g/dL)	Valor mínimo (g/dL)	Valor máximo (g/dL)	Tamaño (N)
13.0 \pm 3.0	0.11	5.5	22.1	709

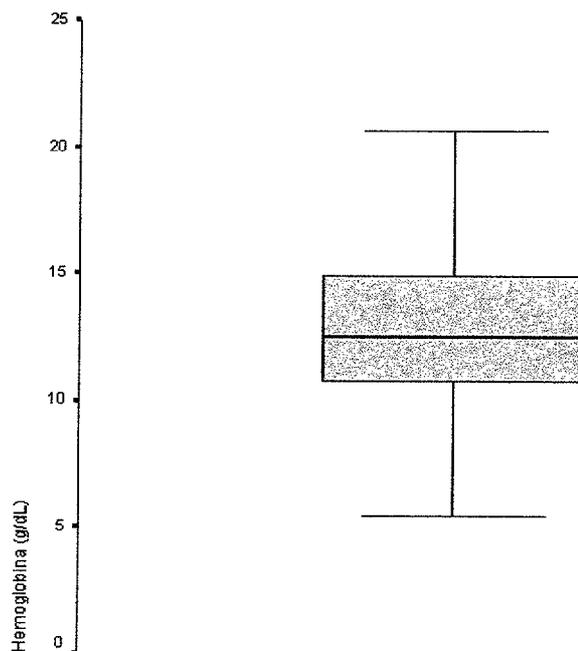


Gráfico 8. Diagrama de cajas de la hemoglobina de toda la población.

4.1.2. RESULTADOS DE LA HEMOGLOBINA SEGÚN LOS SEXOS

Los valores de la hemoglobina según el sexo de los animales estudiados figura en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 11. Estadísticos descriptivos de la hemoglobina según sexos.

Sexo	Media \pm DT (g/dL)	Error típ. (g/dL)	Valor mínimo (g/dL)	Valor máximo (g/dL)	Tamaño (N)
Macho	13.0 \pm 2.9	0.18	5.5	20.5	267
Hembra	13.0 \pm 3.1	0.15	5.8	22.1	442

No existen diferencias estadísticamente significativas entre sexos, $p= 0.755$

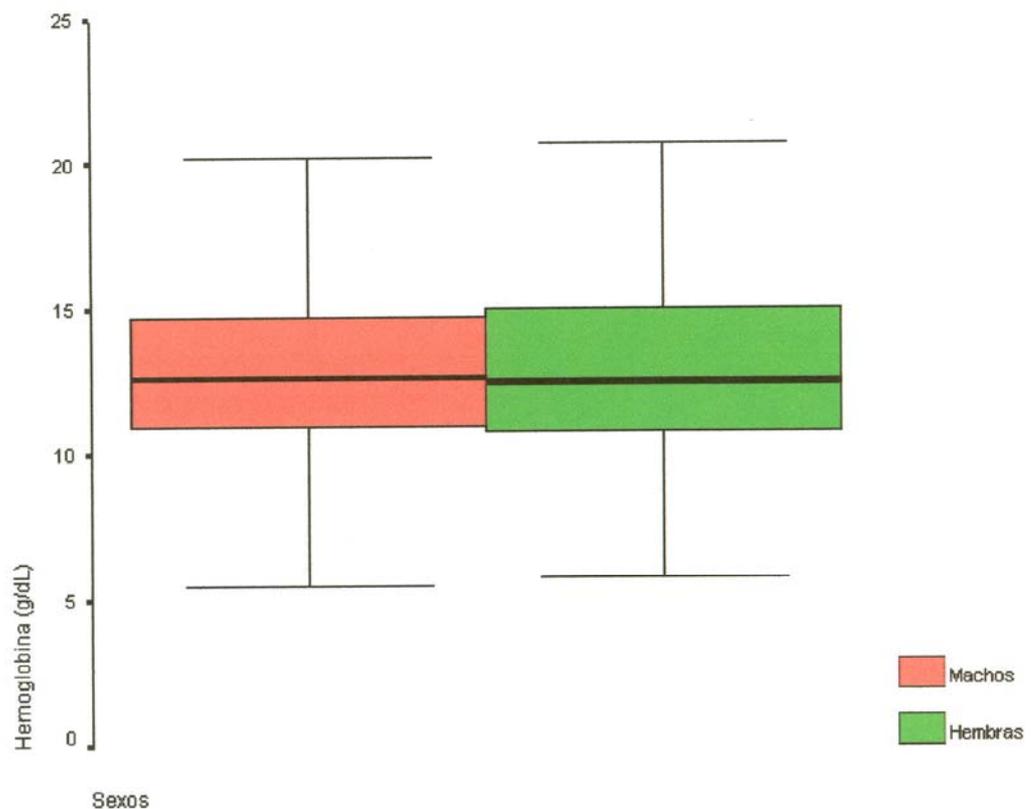


Gráfico 9. Diagrama de cajas de la hemoglobina según sexos.

4.1.3. RESULTADOS DE LA HEMOGLOBINA SEGÚN LA EDAD

Los valores de la hemoglobina según la edad de los animales estudiados figura en las siguientes tablas y gráfico:

Tabla 12. Estadísticos descriptivos de la hemoglobina según grupos de edades.

Grupos de edades	Media \pm DT (g/dL)	Error tip. (g/dL)	Valor mínimo (g/dL)	Valor máximo (g/dL)	Tamaño (N)
0-6 meses	13.8 \pm 3.4	0.74	6.6	18.2	22
6-12 meses	14.8 \pm 2.7	0.39	5.8	19.7	46
1-2 años	14.0 \pm 3.8	0.68	6.4	22.1	32
0-2 años	14.4 \pm 3.3	0.33	5.8	22.1	100
2-4 años	13.0 \pm 2.5	0.32	6.7	19.4	63
4-10 años	13.4 \pm 2.9	0.15	6.6	21.6	355
10-15 años	12.2 \pm 3.0	0.23	5.5	21.3	165
>15 años	11.0 \pm 2.9	0.56	7.6	18.5	26

Tabla 13. Comparación bilateral de medias de la hemoglobina según grupos de edades.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	0.918	1.000	0.987	0.987	0.459	0.116
6-12 meses		-----	0.966	0.131	0.032*	0.000*	0.000*
1-2 años			-----	0.876	0.826	0.093	0.021*
2-4 años				-----	1.000	0.665	0.196
4-10 años					-----	0.065	0.057
10-15 años						-----	0.763
> 15 años							-----

* Diferencias estadísticamente significativas

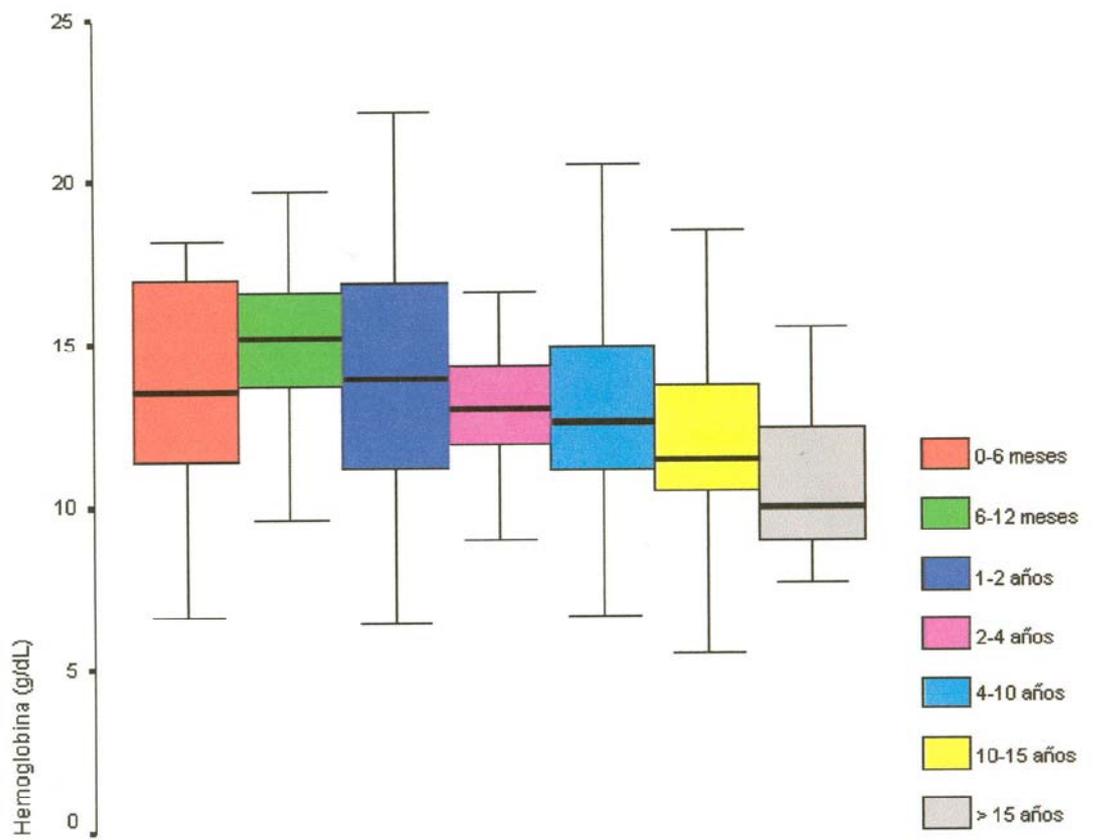


Gráfico 10. Diagrama de cajas de la hemoglobina según grupos de edades.

4.1.4. RESULTADOS DE LA HEMOGLOBINA SEGÚN SEXOS Y EDADES

La significación estadística obtenida tras realizar una comparación bilateral de medias de la hemoglobina relacionada con el sexo y la edad figura en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 14. Comparación bilateral de medias de la hemoglobina según sexos dentro de cada grupo de edad.

Grupos de edades	Machos		Hembras		Significación estadística
	Media \pm DT (g/dL)	N	Media \pm DT (g/dL)	N	
0-6 meses	14.4 \pm 4.4	12	14.2 \pm 3.9	10	0.621
6-12 meses	15.7 \pm 2.0	23	14.0 \pm 3.0	23	0.036*
1-2 años	13.1 \pm 3.7	14	14.8 \pm 3.9	18	0.239
0-2 años	14.6 \pm 3.3	49	14.3 \pm 3.5	51	0.903
2-4 años	12.7 \pm 1.8	21	13.2 \pm 2.8	42	0.487
4-10 años	13.1 \pm 2.8	134	13.2 \pm 3.1	221	0.966
10-15 años	11.7 \pm 2.9	59	12.3 \pm 3.2	106	0.167
> 15 años	14.0 \pm 4.7	4	10.5 \pm 2.2	22	0.021*

* Diferencias estadísticamente significativas

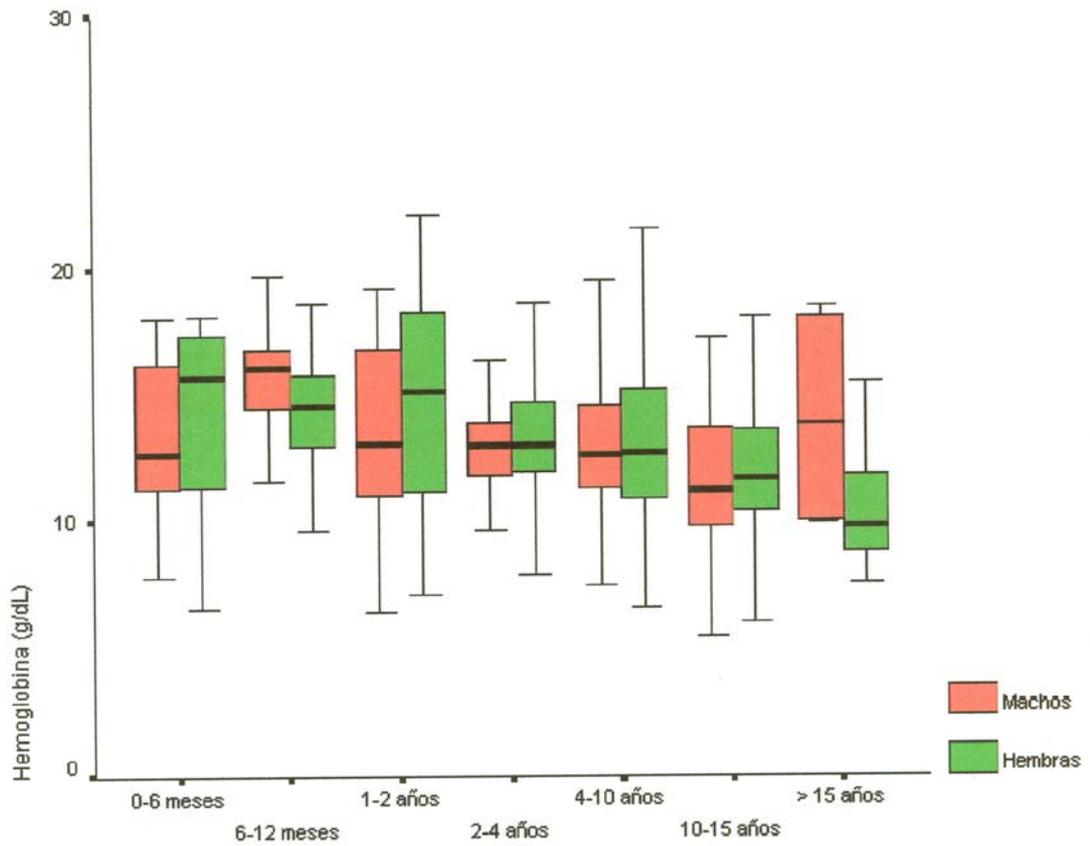


Gráfico 11. Diagrama de cajas de la hemoglobina según sexos y grupos de edades.

4.1.5. RESULTADOS DE LA HEMOGLOBINA SEGÚN TIPO DE ALIMENTACIÓN Y GRANJAS

Los hallazgos de la hemoglobina en relación con las granjas estudiadas figura en las siguientes tabla y gráfico:

Tabla 15. Estadísticos descriptivos de la hemoglobina según tipo de alimentación y granjas.

Alimentación	Granjas	Media \pm DT (g/dL)	Error típ. (g/dL)	Valor mínimo (g/dL)	Valor máximo (g/dL)	Tamaño (N)
A	GC3	10.6 \pm 1.9	0.27	6.4	15.2	49
	LZ	12.8 \pm 3.4	0.21	5.5	22.1	249
	FV1	10.8 \pm 2.2	0.33	5.8	16.4	46
B	TF2	12.1 \pm 2.0	0.24	6.6	16.7	67
	GC2	12.4 \pm 1.6	0.23	9.2	17.0	52
	GC1	14.7 \pm 2.7	0.27	7.8	21.3	111
	FV2	13.9 \pm 2.3	0.26	10.1	19.8	75
C	TF1	15.1 \pm 2.3	0.32	10.0	19.7	53
	GC4	12.5 \pm 2.8	1.04	7.8	15.9	7

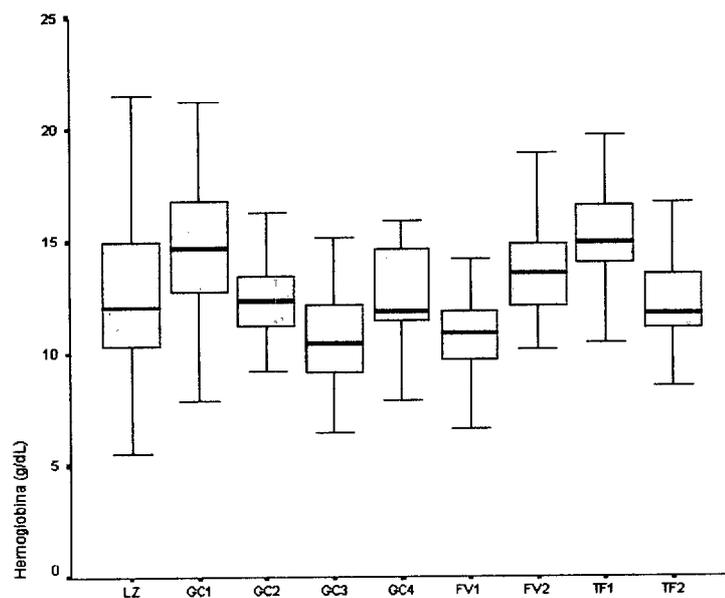


Gráfico 12. Diagrama de cajas de la hemoglobina según las granjas.

4.2. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA GSH-Px

4.2.1. ACTIVIDAD DE LA GSH-Px EN TODA LA POBLACIÓN DE DROMEDARIOS

La actividad de la GSH-Px para toda la población estudiada figura en la siguiente tabla y gráficos.

Tabla 16. Estadísticos descriptivos de la actividad del a GSH-Px.

Media \pm DT (UI/g Hb)	Error tip. (UI/g Hb)	Valor mínimo (UI/g Hb)	Valor máximo (UI/g Hb)	Tamaño (N)
288.5 \pm 157.5	5.92	7	694	709

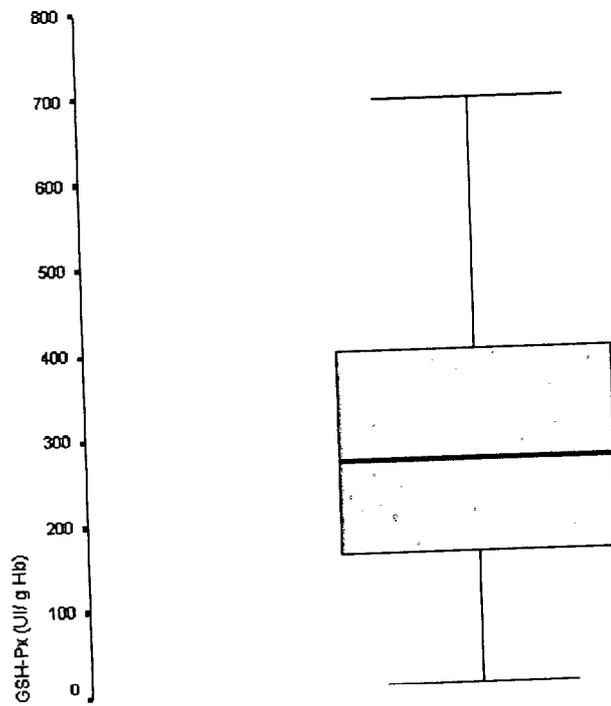


Gráfico 13. Diagrama de cajas de la actividad de la GSH-Px de toda la población.

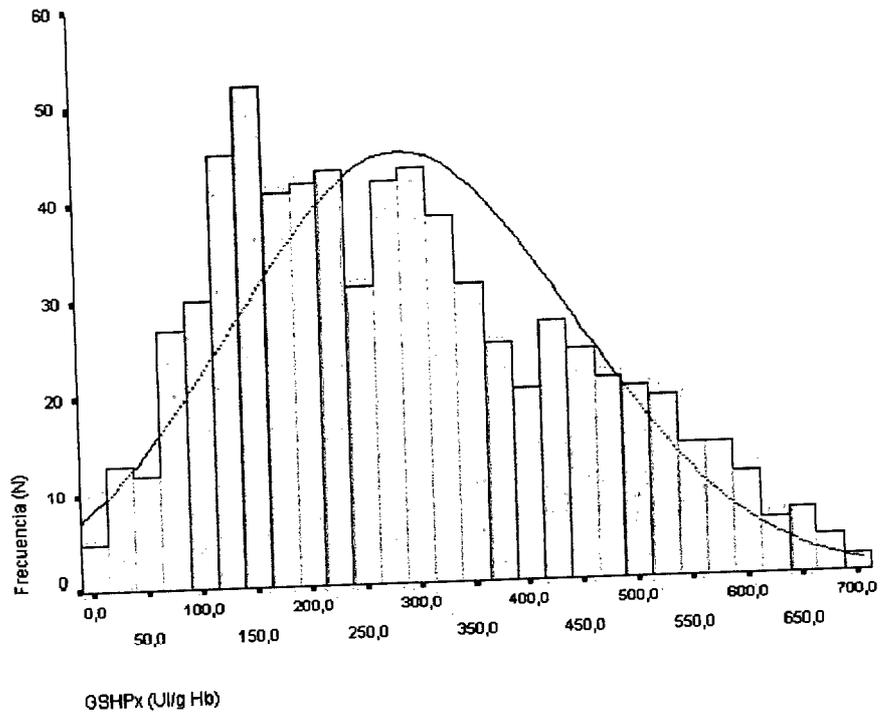


Gráfico 14. Histograma de la actividad de la GSH-Px en toda la población.

4.2.2. RANGOS DE REFERENCIA DE GSH-Px PARA TODA LA POBLACIÓN

Dado los valores de la media observados (288.5 UI/g Hb), de la mediana (268.0 UI/g Hb), así como el histograma resultante y el índice de asimetría (0.447) y de curtosis (-0.618), la población estudiada no parece seguir una distribución de tipo normal o gaussiana.

Así, para este tipo de poblaciones, Kaneko (1989) establece dos formas para determinar los rangos de referencia, la transformación logarítmica o las raíces cuadradas de los valores obtenidos y el uso de los percentiles; determinando además, este segundo método como el de mayor fiabilidad al reflejar la verdadera distribución de la población estudiada. Según este mismo autor y teniendo en cuenta que la población estudiada eran animales aparentemente sanos, hemos considerado los valores superiores o iguales al percentil 3, que representan el 97% de la población, como actividades de la enzima GSH-Px adecuadas.

Tabla 17. Rangos de referencia de la GSH-Px para toda la población según el percentil.

Categorías	Percentil	Frecuencia (N/N:total)	GSH-Px (UI/g Hb)
Normales	> 3	687 /709	>51
Deficientes + marginales	< 3	22/709	<51

4.2.3. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN SEXOS

Los resultados de la actividad de la enzima GSH-Px según el sexo se muestran en las siguientes tabla y gráficos:

Tabla 18. Estadísticos descriptivos de la actividad de la GSH-Px según sexos.

Sexo	Media \pm DT (U/l·g·Hb)	Error tip. (U/l·g·Hb)	Valor mínimo (U/l·g·Hb)	Valor máximo (U/l·g·Hb)	Tamaño (N)
Machos	272.6 \pm 155.7	9.53	7	681	267
Hembras	298.1 \pm 158.1	7.52	9	694	442

Diferencias entre sexos con significación estadística, $p=0.037$

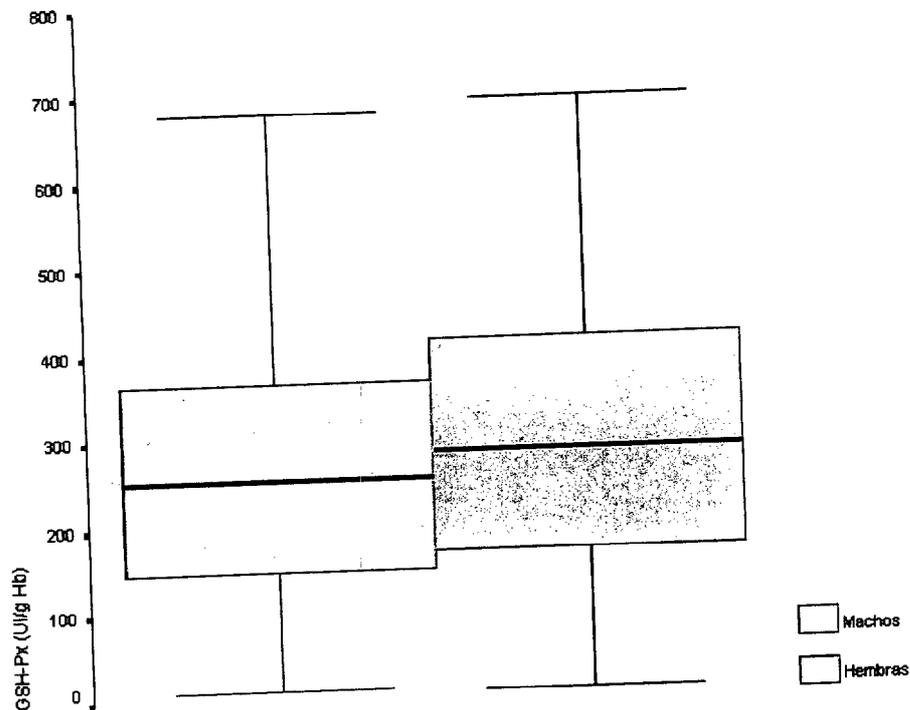
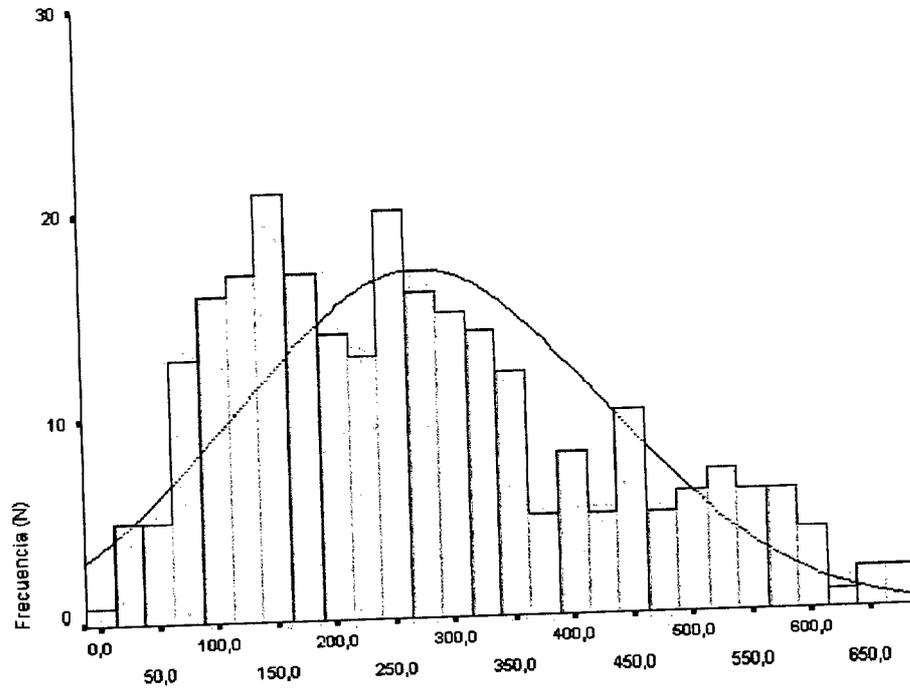
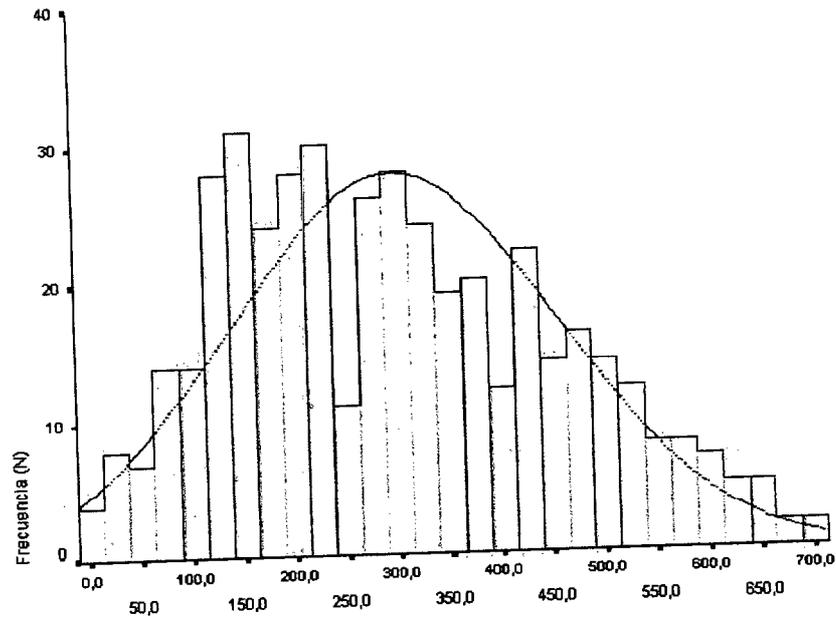


Gráfico 15. Diagrama de cajas de la GSH-Px según sexos.



GSHPx (U/g Hb)

Gráfico 16. Histograma de la actividad de la GSH-Px de los machos.



GSHPx (U/g Hb)

Gráfico 17. Histograma de la actividad de la GSH-Px de las hembras.

4.2.3.1. RANGOS DE REFERENCIA DE LA GSH-Px SEGÚN SEXOS

Los rangos de referencia según sexo quedan reflejados en la siguiente tabla:

Tabla 19. Rangos de referencia de la GSH-Px de machos y hembras según el percentil.

Sexo	Categorías	Percentil	Frecuencia (N)	GSH-Px (UJ/g.Hb)
Machos	Normales	> 3	259/267	> 56
	Deficientes + Marginales	< 3	8/267	< 56
Hembras	Normales	> 3	429/442	> 50
	Deficientes + Marginales	< 3	13/442	< 50

4.2.4. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN EDADES

Los resultados de la actividad de la GSH-Px según los grupos de edades figuran en la siguientes tablas y gráficos:

Tabla 20. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px según grupos de edades.

Grupos de edades	Media \pm DT (U/g·Hb)	Error tip: (U/g·Hb)	Valor mínimo (U/g·Hb)	Valor máximo (U/g·Hb)	Tamaño (N)
0 - 6 meses	248.3 \pm 173.7	37.03	24	572	22
6 -12 meses	278.8 \pm 132.8	19.59	60	638	46
1-2 años	243.0 \pm 148.5	26.25	74	645	32
0-2 años	260.6 \pm 147.0	14.70	24	645	100
2-4 años	302.6 \pm 146.9	18.51	49	694	63
4-10 años	282.1 \pm 160.6	8.52	7	690	355
10-15 años	315.0 \pm 156.6	12.19	26	681	165
>15 años	280.2 \pm 169.6	33.27	28	621	26

Tabla 21. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px según grupos de edades.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	0.997	1.000	0.924	0.987	0.743	0.998
6-12 meses		-----	0.986	0.996	1.000	0.927	1.000
1-2 años			-----	0.802	0.935	0.467	0.992
2-4 años				-----	0.989	1.000	0.999
4-10 años					-----	0.552	1.000
10-15 años						-----	0.981
> 15 años							-----

Sin diferencias estadísticamente significativas

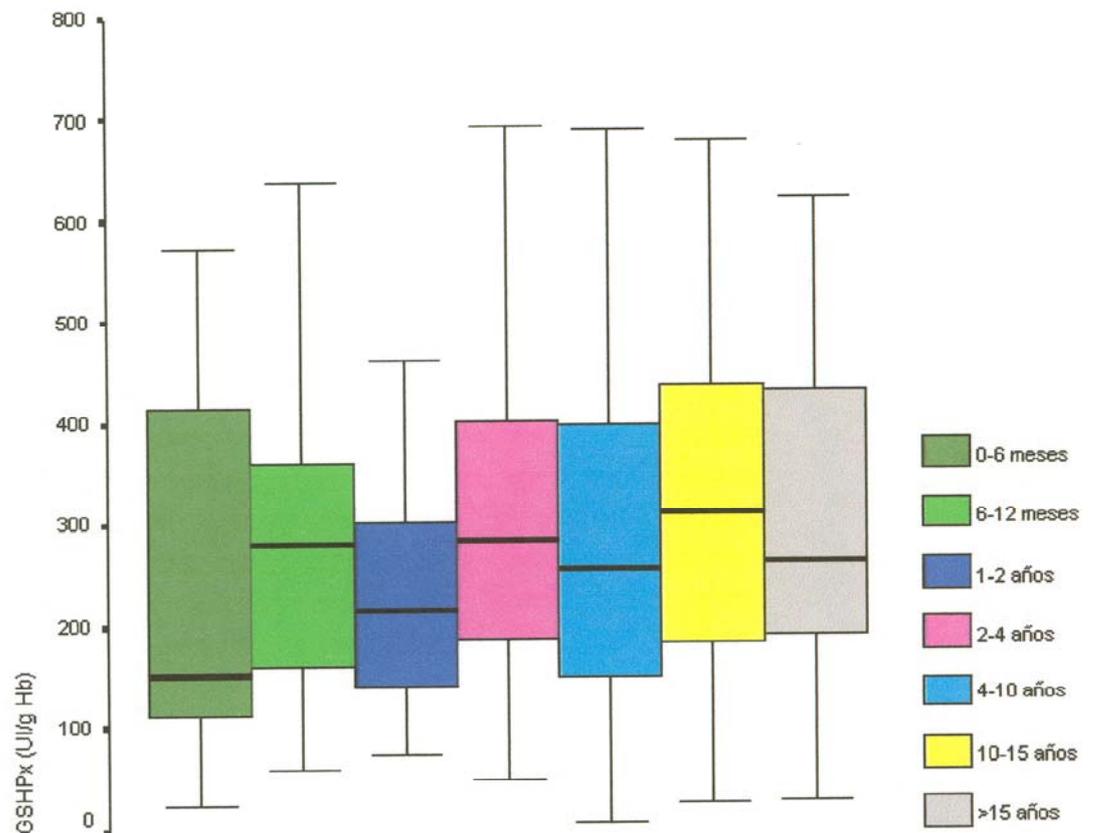


Gráfico 18. Diagrama de cajas de la GSH-Px según grupos de edades.

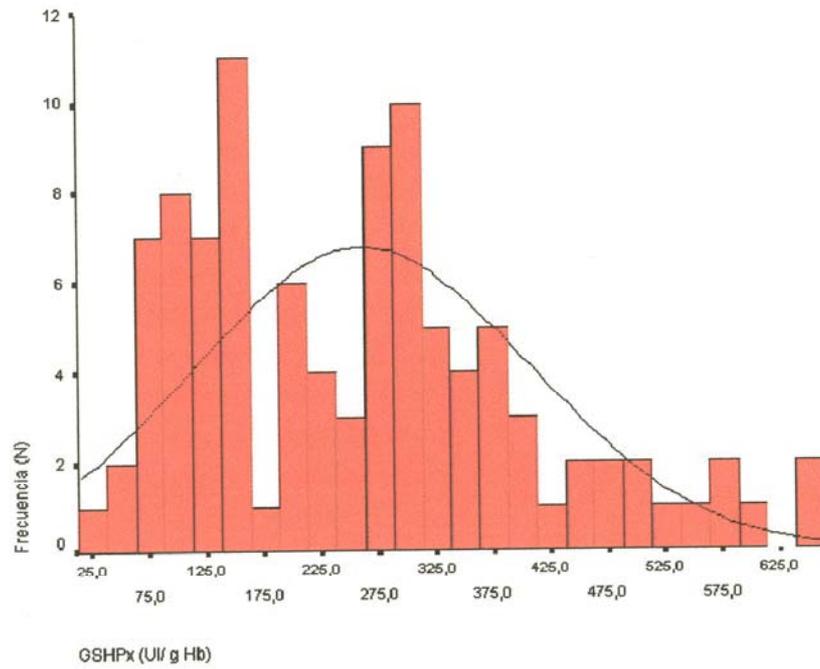


Gráfico 19. Histograma de la GSH-Px de los animales menores de 2 años.

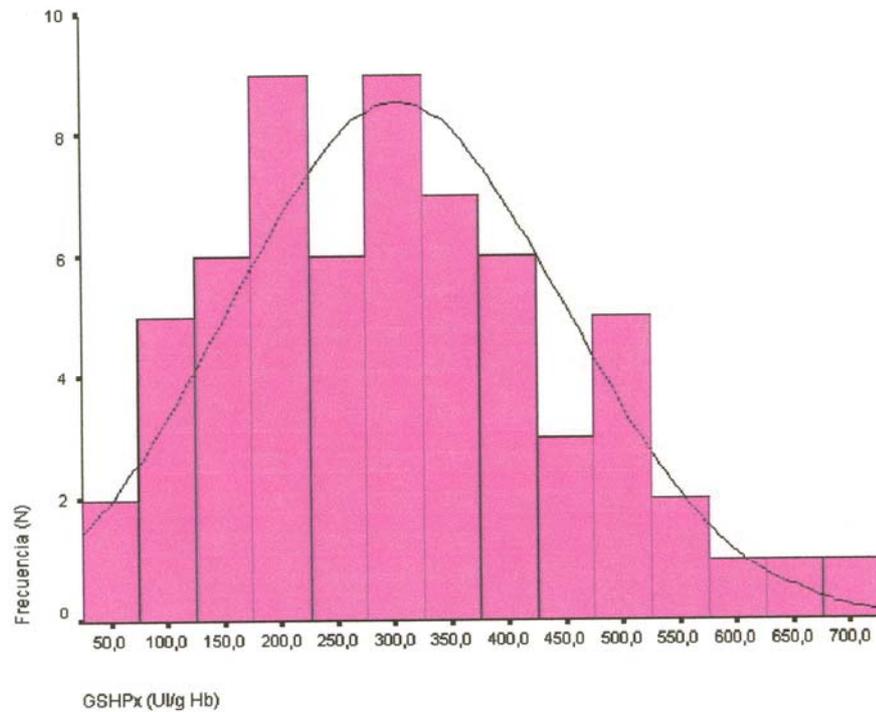


Gráfico 20. Histograma de la GSH-Px de los animales entre 2 y 4 años.

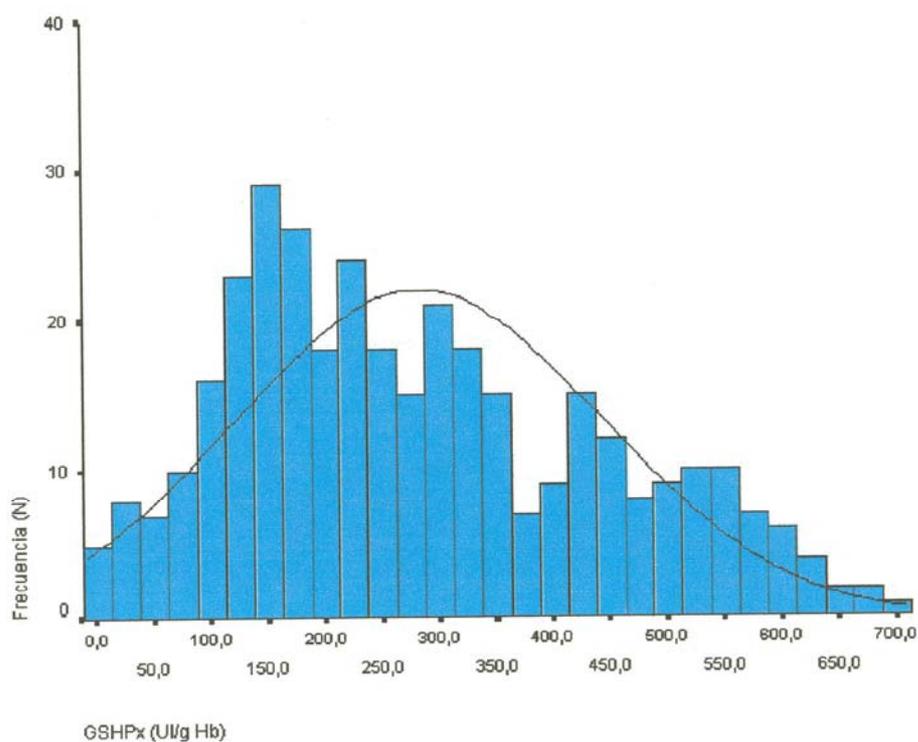


Gráfico 21. Histograma de la GSH-Px de los animales entre 4 y 10 años.

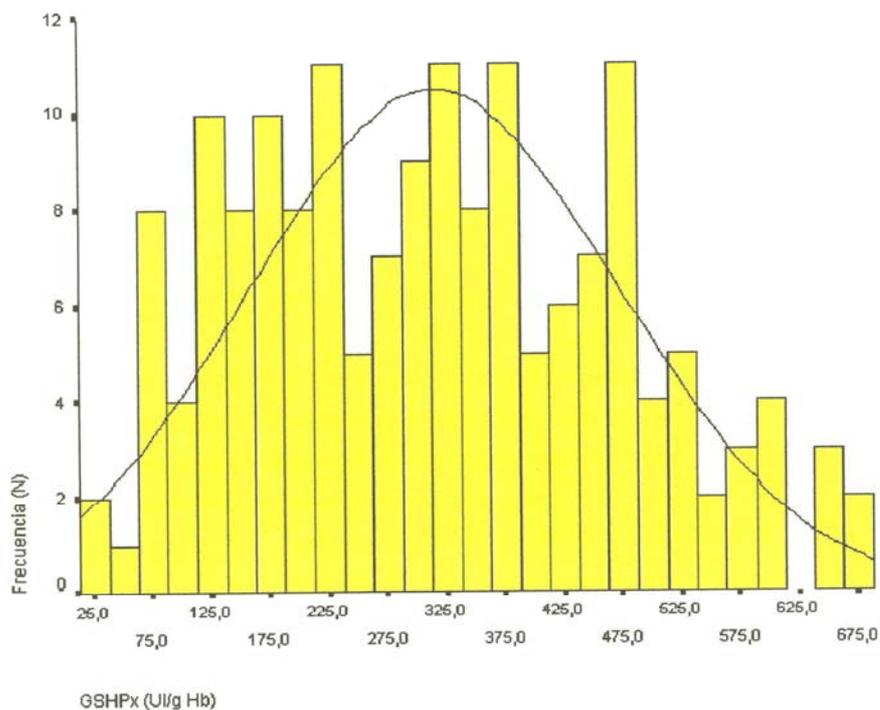


Gráfico 22. Histograma de la GSH-Px de los animales entre 10 y 15 años.

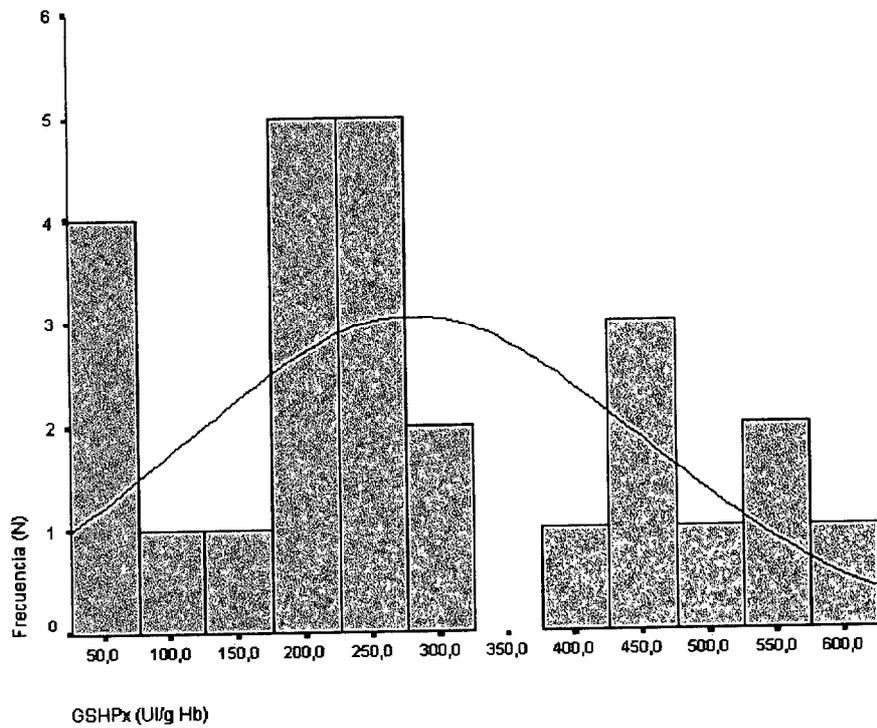


Gráfico 23. Histograma de la GSH-Px de los animales mayores de 15 años.

4.2.4.1. RANGOS DE REFERENCIA DE LA GSH-Px SEGÚN EDADES

Los rangos de referencia de los animales estudiados según grupos de edades figura en la siguiente tabla:

Tabla 22. Rangos de referencia de la GSH-Px para los grupos de edades según el percentil.

Grupo de edades	Categorías	Percentil	Frecuencia (N/N total)	GSH-Px (UI/g Hb)
0-6 meses	Normales	> 3	22/22	> 23
	Deficientes + Marginales	< 3	0/22	< 23
6-12 meses	Normales	> 3	45/46	> 60
	Deficientes + Marginales	< 3	1/46	< 60
1-2 años	Normales	> 3	31/32	> 74
	Deficientes + Marginales	< 3	1/32	< 74
0-2 años	Normales	> 3	98/100	> 62
	Deficientes + Marginales	< 3	2/100	< 62
2-4 años	Normales	> 3	62/63	> 65
	Deficientes + Marginales	< 3	1/63	< 65
4-10 años	Normales	> 3	345/355	> 33
	Deficientes + Marginales	< 3	10/355	< 33
10-15 años	Normales	> 3	158/165	> 71
	Deficientes + Marginales	< 3	7/165	< 71
> 15 años	Normales	> 3	25/26	> 28
	Deficientes + Marginales	< 3	1/26	< 28

4.2.5. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN EDADES Y SEXOS

En cuanto a la comparación de la actividad de la GSH-Px utilizando las variables edad y sexo, las siguientes tablas y gráfico muestran los valores obtenidos así como su significación.

Tabla 23. Comparación de medias de la GSH-Px entre sexos según grupos de edades.

Grupos de edades	Machos		Hembras		Significación estadística
	Media \pm DT (UI/g Hb)	N	Media \pm DT (UI/g Hb)	N	
0 - 6 meses	202.2 \pm 167.9	12	303.5 \pm 172.3	10	0.179
6 -12 meses	226.6 \pm 115.5	23	330.9 \pm 130.6	23	0.006*
1-2 años	270.6 \pm 154.0	14	221.6 \pm 144.7	18	0.363
0-2 años	233.2 \pm 140.3	49	286.9 \pm 149.8	51	0.067
2-4 años	273.4 \pm 136.4	21	317.1 \pm 151.4	42	0.269
4-10 años	272.3 \pm 163.1	134	288.0 \pm 159.2	221	0.370
10-15 años	308.2 \pm 157.2	59	318.8 \pm 156.9	106	0.679
>15 años	235.2 \pm 44.3	4	288.4 \pm 183.1	22	0.575

* Diferencias estadísticamente significativas

Tabla 24. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px de los machos entre grupos de edades.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	1.000	0.973	0.951	0.880	0.585	1.000
6-12 meses		-----	0.994	0.985	0.931	0.595	1.000
1-2 años			-----	1.000	1.000	0.995	1.000
2-4 años				-----	1.000	0.992	1.000
4-10 años					-----	0.922	1.000
10-15 años						-----	0.991
> 15 años							-----

Sin diferencias estadísticamente significativas

Tabla 25. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px de las hembras entre grupos de edades.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	1.000	0.942	1.000	1.000	1.000	1.000
6-12 meses		-----	0.565	1.000	0.950	1.000	0.992
1-2 años			-----	0.595	0.828	0.444	0.939
2-4 años				-----	0.971	1.000	0.998
4-10 años					-----	0.816	1.000
10-15 años						-----	0.995
> 15 años							-----

Sin diferencias estadísticamente significativas

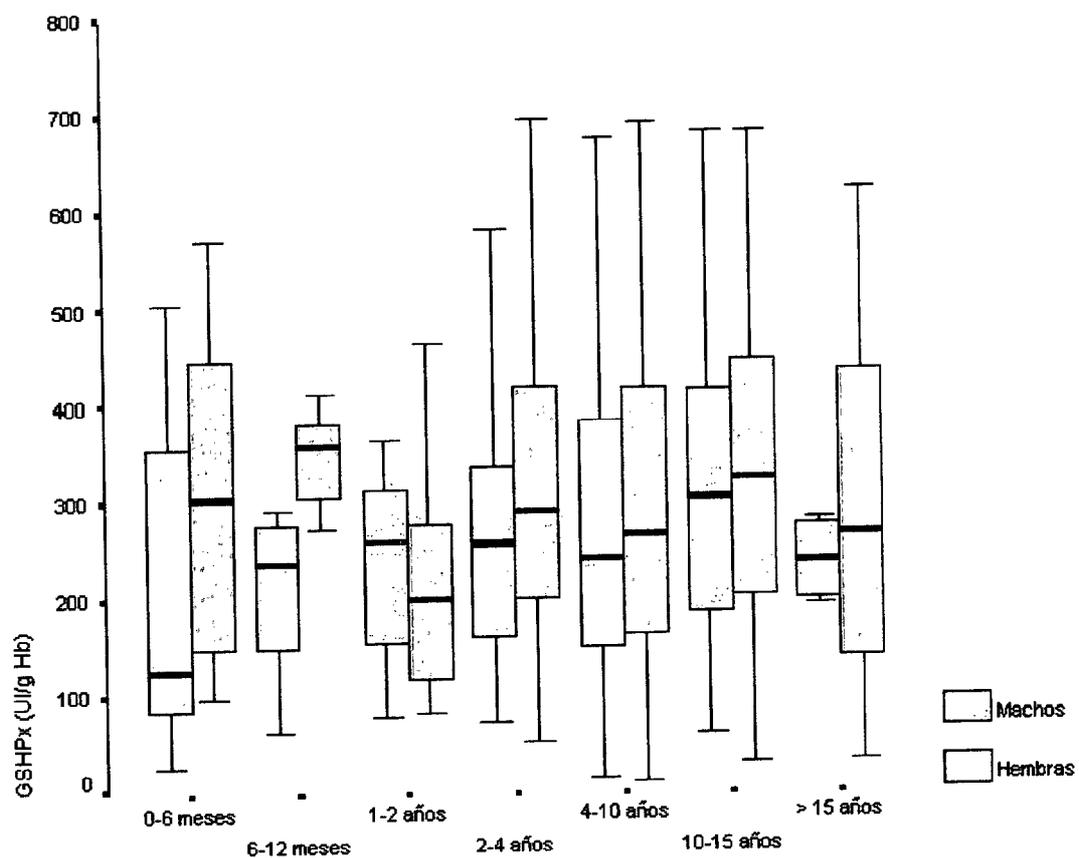


Gráfico 24. Diagrama de cajas de la GSH-Px según grupos de edades y sexos.

4.2.6. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN TIPO DE ALIMENTACIÓN

Los valores de la actividad de la GSH-Px en relación con los grupos de alimentación observados en las granjas figura en las siguientes tabla y gráficos:

Tabla 26. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px según tipo de alimentación.

Alimentación	Media \pm DT (U/g Hb)	Error tip. (U/g Hb)	Valor mínimo (U/g Hb)	Valor máximo (U/g Hb)	Tamaño (N)
A	339.7 \pm 156.7	8.45	7	694	344
B	260.2 \pm 145.0	8.30	10	690	305
C	138.2 \pm 65.9	8.51	11	291	60

Significación obtenida en la comparación de la actividad de la GSH-Px entre los diferentes grupos de alimentación figura en la siguiente tabla:

Tabla 27. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px según tipo de alimentación.

Significación estadística	A	B	C
A	-----	0.000*	0.000*
B		-----	0.000*
C			-----

* Diferencias estadísticamente significativas

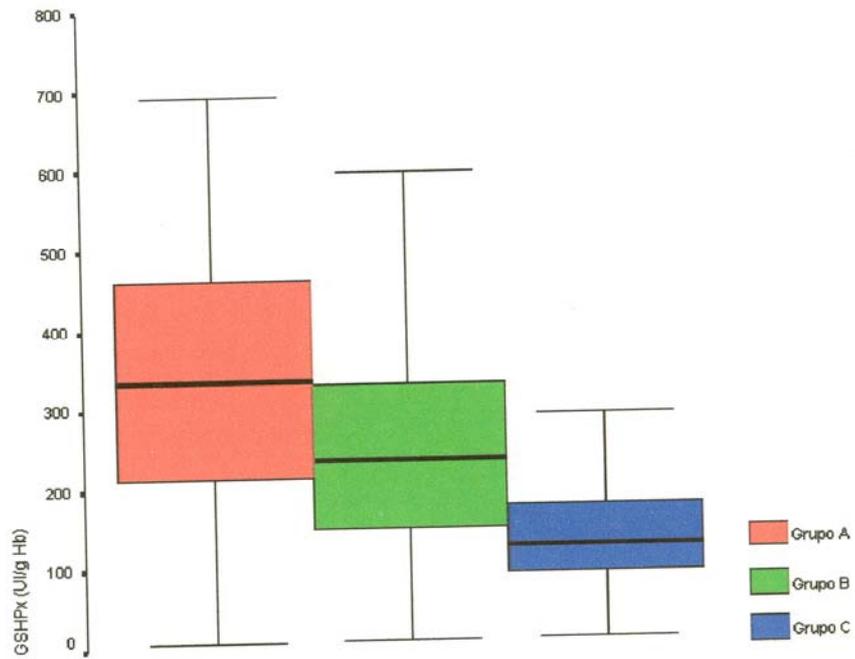


Gráfico 25. Diagrama de cajas de la GSH-Px según tipo de alimentación.

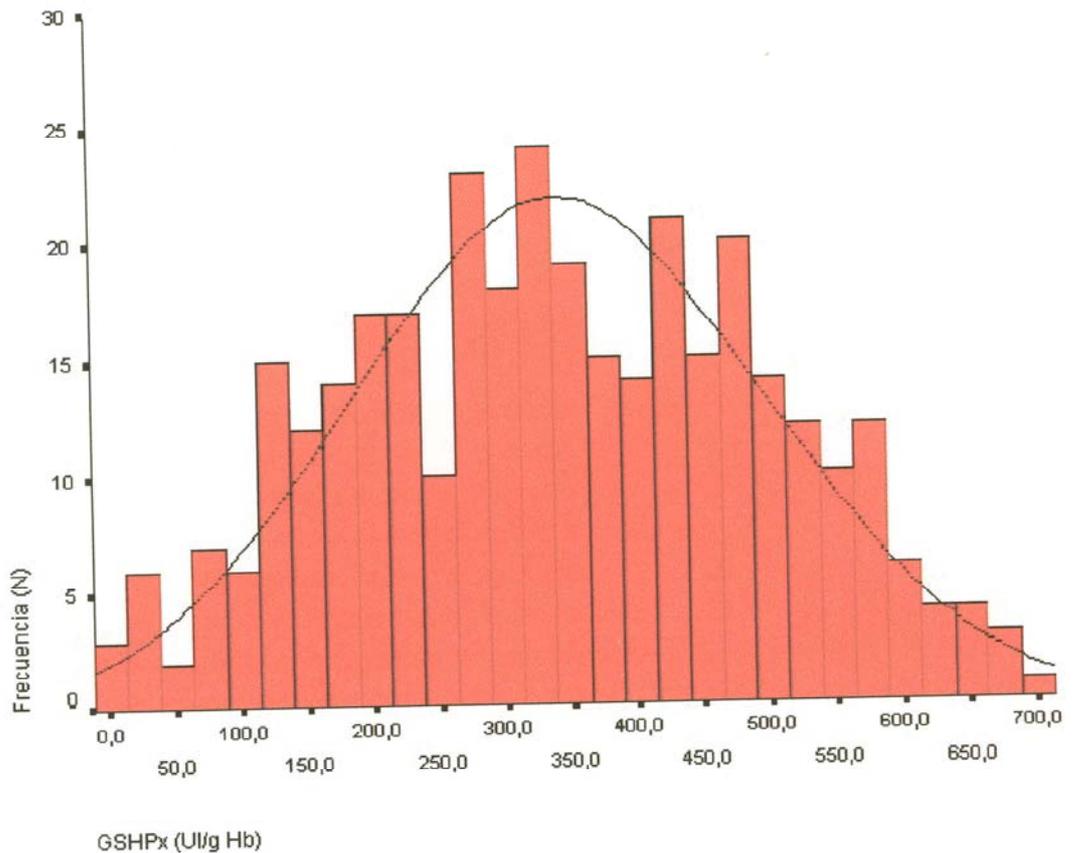


Gráfico 26. Histograma de la GSH-Px en el grupo de alimentación tipo A.

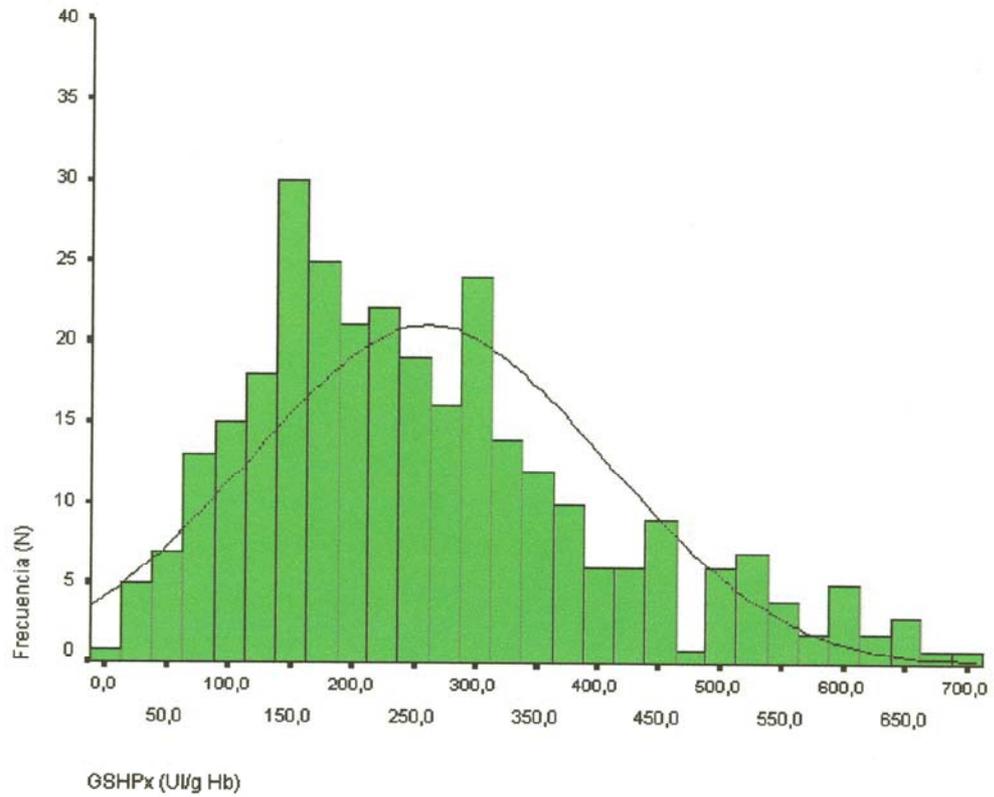


Gráfico 27. Histograma de la GSH-Px en el grupo de alimentación tipo B.

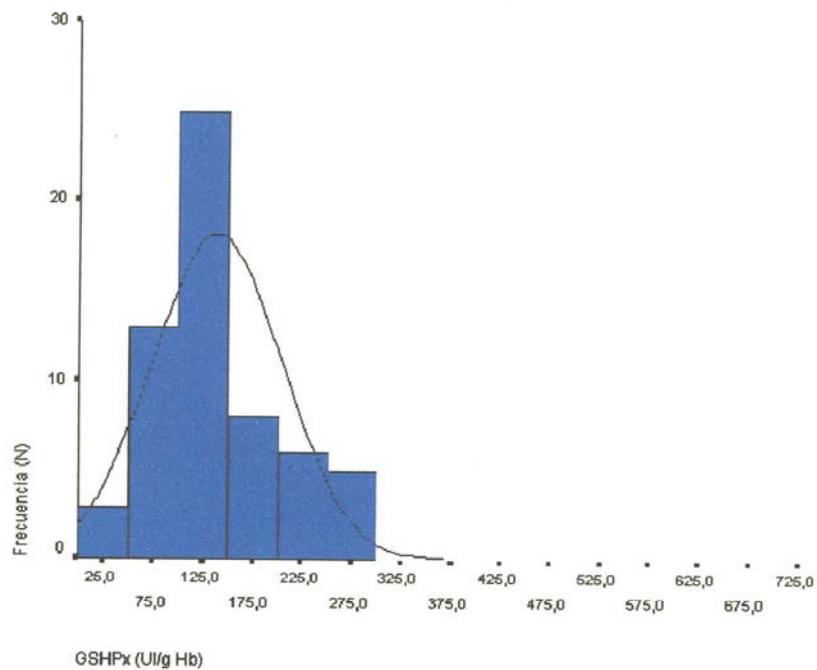


Gráfico 28. Histograma de la GSH-Px en el grupo de alimentación tipo C.

4.2.7. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN TIPO DE ALIMENTACIÓN Y GRANJAS

Los valores obtenidos de la actividad de la GSH-Px en las diferentes granjas estudiadas figuran en las siguientes tabla y gráfico.

Tabla 28. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px según la alimentación y granjas.

Alimentación	Granja	Media \pm DT (U/g.Hb)	Error típ. (U/g.Hb)	Valor mínimo (U/g.Hb)	Valor máximo (U/g.Hb)	Tamaño (N)
A	GC3	372.2 \pm 101.1	14.44	214	637	49
	LZ	336.5 \pm 165.3	10.48	7	694	249
	FV1	322.5 \pm 155.1	22.86	59	672	46
B	TF2	293.1 \pm 191.3	23.37	37	676	67
	GC2	259.3 \pm 84.4	11.70	147	497	52
	GC1	248.1 \pm 146.5	13.91	10	690	111
	FV2	249.2 \pm 124.9	14.42	21	645	75
C	TF1	141.2 \pm 64.0	8.80	11	291	53
	GC4	115.7 \pm 81.0	30.60	24	220	7

La significación obtenida en la comparación de la actividad de la GSH-Px entre las granjas estudiadas figura en la siguiente tabla:

Tabla 29. Comparación bilateral de la GSH-Px entre las granjas.

Significación estadística	Alimentación	A			B			C		
Alimentación	Granjas	GC3	LZ	FV1	TF2	GC2	GC1	FV2	TF1	GC4
A	GC3	----	0.964	0.949	0.407	0.060*	0.002*	0.008*	0.000*	0.016*
	LZ		----	1.000	0.792	0.152	0.001*	0.009*	0.000*	0.050*
	FV1			----	0.997	0.802	0.393	0.518	0.000*	0.145
B	TF2				----	0.991	0.859	0.921	0.000*	0.315
	GC2					----	1.000	1.000	0.030*	0.651
	GC1						----	1.000	0.015*	0.712
	FV2							----	0.032*	0.719
C	TF1								----	1.000
	GC4									----

* Diferencias estadísticamente significativas.

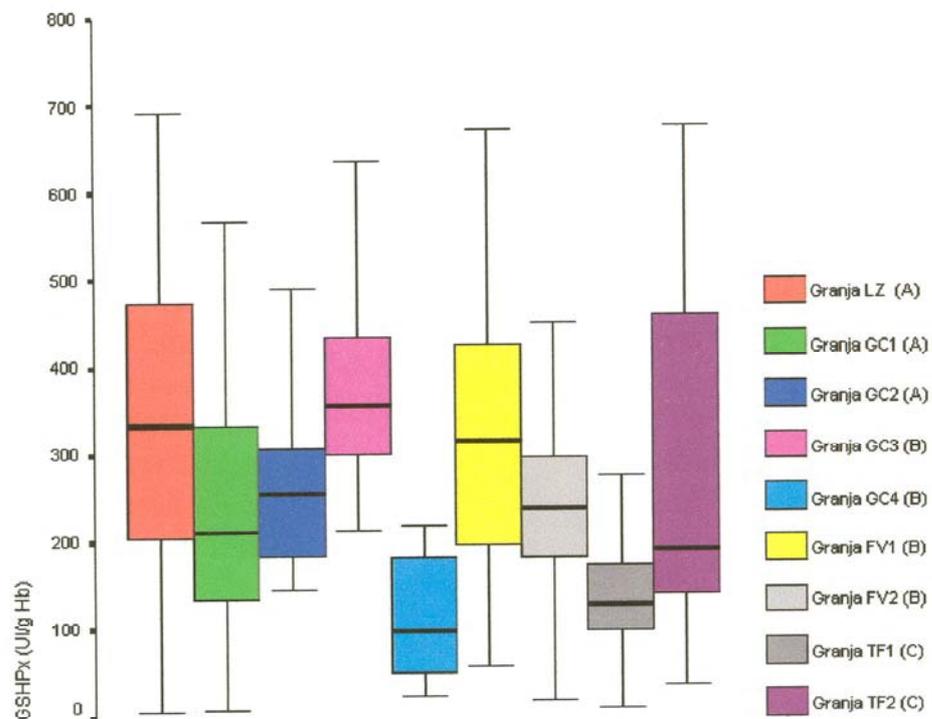


Gráfico 29. Diagrama de cajas de la actividad de la GSH-Px según tipo de alimentación y granjas.

4.2.8. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN TIPO DE ALIMENTACIÓN Y SEXOS

Los valores de la actividad de la GSH-Px con relación a los grupos de alimentación y sexo de los animales estudiados figuran en la tabla y gráfico siguiente:

Tabla 30. Comparación de medias de GSH-Px entre sexos según tipo de alimentación.

Alimentación	Machos		Hembras		Significación estadística
	Media \pm DT (UI/g Hb)	N	Media \pm DT (UI/g Hb)	N	
A	341.0 \pm 160.0	111	339.2 \pm 155.4	233	0.921
B	244.8 \pm 139.7	120	270.1 \pm 147.8	185	0.137
C	154.1 \pm 74.5	36	114.3 \pm 41.4	24	0.021*

* Diferencias estadísticamente significativas

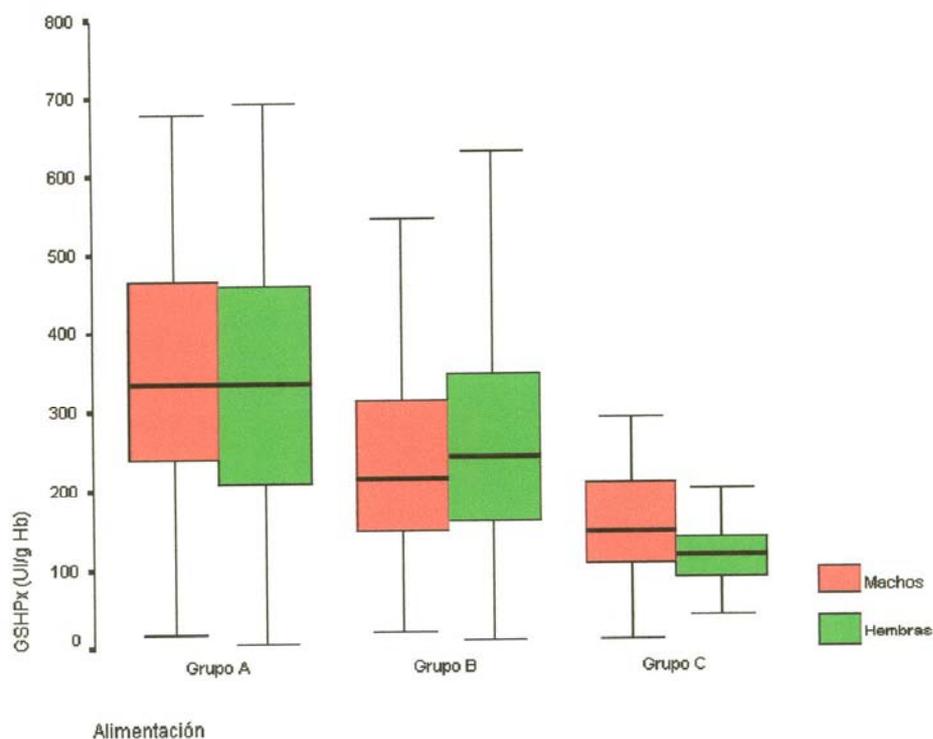


Gráfico 30. Diagrama de cajas de la GSH-Px según tipo de alimentación y sexos.

En las siguientes tablas se detalla la significación estadística cuando se compara de forma bilateral dentro de cada sexo las medias de la actividad de la GSH-Px entre grupos de alimentación.

Tabla 31. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px dentro de los machos entre los grupos de alimentación

Significación estadística	A	B	C
A	----	0.000*	0.000*
B		----	0.004*
C			----

* Diferencias estadísticamente significativas

Tabla 32. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px dentro las hembras entre los grupos de alimentación

Significación estadística	A	B	C
A	----	0.000*	0.000*
B		----	0.000*
C			----

* Diferencias estadísticamente significativas

4.2.9. RESULTADOS DE LA GSH-PX SEGÚN TIPO DE ALIMENTACIÓN Y EDADES

Los resultados de la actividad de la GSH-Px en relación con los grupos de alimentación y a las edades de los animales estudiados figuran en las siguientes tablas y gráficos. Además, se presentan las comparaciones múltiples en cada grupo de alimentación.

4.2.9.1. RESULTADOS DE LA GSH-PX SEGÚN EDADES EN EL GRUPO DE ALIMENTACIÓN A

Tabla 33. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px según grupos edades en el grupo de alimentación A.

Grupo de edades	Media \pm DT (UI/g.Hb)	Error tip. (UI/g.Hb)	Valor mínimo (UI/g.Hb)	Valor máximo (UI/g.Hb)	Tamaño (N)
0-6 meses	320.1 \pm 165.0	42.60	70	572	15
6-12 meses	400.5 \pm 184.8	75.45	130	638	6
1-2 años	254.1 \pm 132.1	35.33	79	550	14
0-2 años	307.5 \pm 160.2	27.09	70	638	35
2-4 años	334.2 \pm 155.0	25.48	67	694	37
4-10 años	343.1 \pm 155.3	12.72	7	672	149
10-15 años	364.3 \pm 151.5	15.39	26	681	97
>15 años	280.2 \pm 169.6	33.27	28	621	26

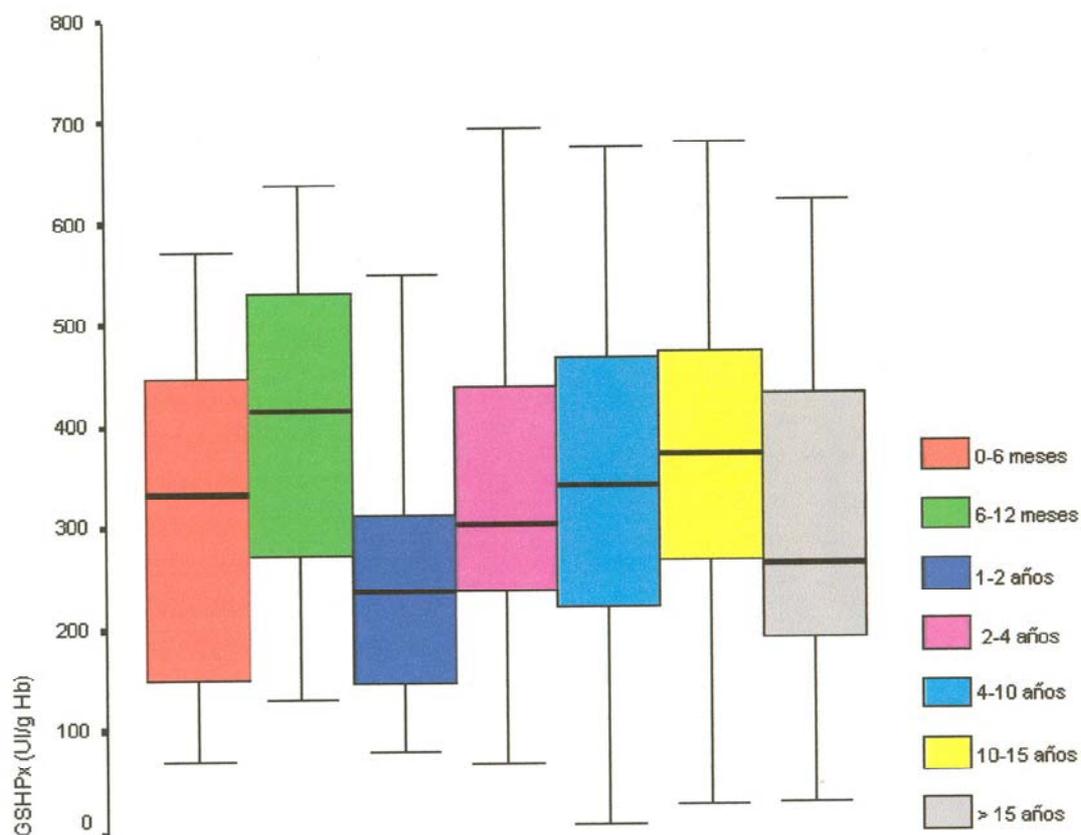


Gráfico 31. Diagrama de cajas de la actividad de la GSH-Px según grupos de edades dentro del grupo de alimentación A.

Tabla 34. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px entre grupos de edades dentro del grupo de alimentación A.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	0.979	0.971	1.000	1.000	0.983	0.996
6-12 meses		-----	0.714	0.988	0.992	0.999	0.818
1-2 años			-----	0.845	0.651	0.409	1.000
2-4 años				-----	1.000	0.985	0.933
4-10 años					-----	0.981	0.727
10-15 años						-----	0.424
> 15 años							-----

No existen diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos de edades.

4.2.9.2. RESULTADOS DE LA GSH-PX SEGÚN EDADES EN EL GRUPO DE ALIMENTACIÓN B

Tabla 35. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px según grupos edades en el grupo de alimentación B.

Grupo de edades	Media \pm DT (UI/g.Hb)	Error tip. (UI/g.Hb)	Valor mínimo (UI/g.Hb)	Valor máximo (UI/g.Hb)	Tamaño (N)
0 - 6 meses	106.0 \pm 25.0	10.22	76	148	6
6 -12 meses	291.0 \pm 118.8	22.86	60	568	27
1-2 años	325.3 \pm 167.9	53.11	155	645	10
0-2 años	273.2 \pm 140.3	21.40	60	645	43
2-4 años	257.5 \pm 123.9	24.30	49	521	26
4-10 años	257.6 \pm 152.2	11.47	10	690	176
10-15 años	259.6 \pm 137.7	17.78	37	645	60
>15 años	-	-	-	-	0

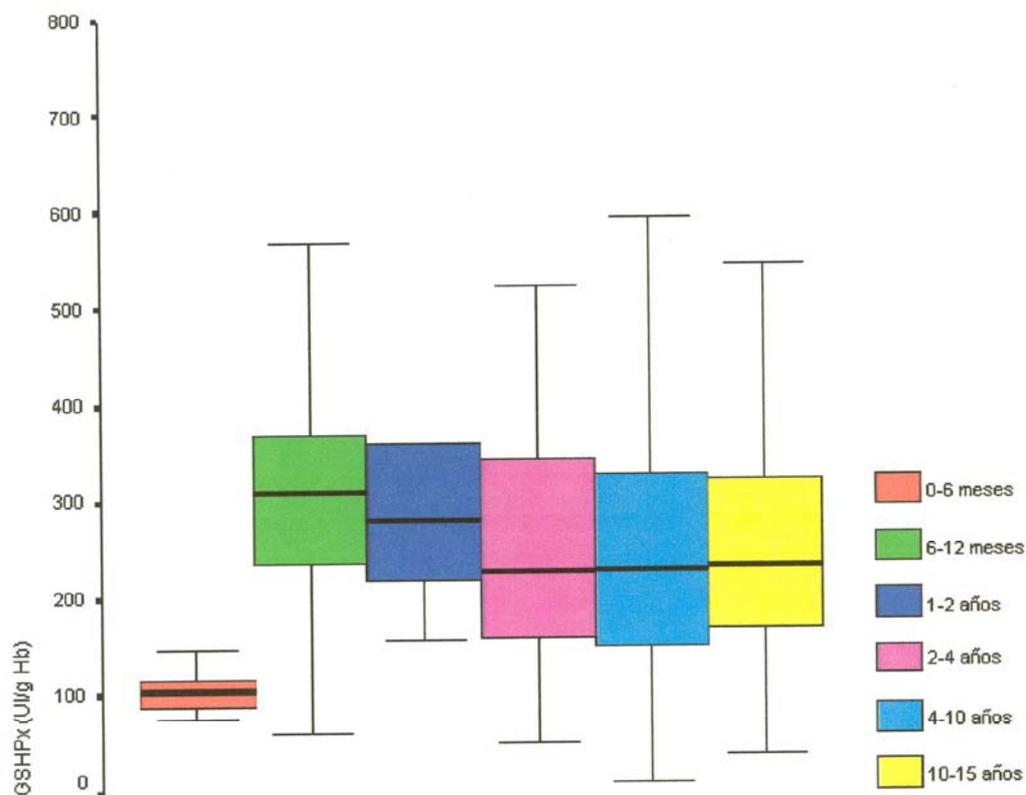


Gráfico 32. Diagrama de cajas de la actividad de la GSH-Px según grupos de edades dentro del grupo de alimentación B.

Tabla 36. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px entre grupos de edades dentro del grupo de alimentación B.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	0.153	0.124	0.370	0.268	0.288	-
6-12 meses		-----	0.995	0.982	0.938	0.971	-
1-2 años			-----	0.900	0.835	0.877	-
2-4 años				-----	1.000	1.000	-
4-10 años					-----	1.000	-
10-15 años						-----	-
> 15 años							-----

4.2.9.3. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN EDADES EN EL GRUPO DE ALIMENTACIÓN C

Tabla 37. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px según grupos edades en el grupo de alimentación C.

Grupo de edades	Media \pm DT (UI/g Hb)	Error típ. (UI/g Hb)	Valor mínimo (UI/g Hb)	Valor máximo (UI/g Hb)	Tamaño (N)
0 - 6 meses	23.7				1
6 -12 meses	197.1 \pm 79.9	22.17	62	291	13
1-2 años	120.6 \pm 43.2	15.26	74	201	8
0-2 años	161.4 \pm 81.2	17.31	24	291	22
2-4 años	-	-	-	-	0
4-10 años	122.8 \pm 55.0	10.05	11	253	30
10-15 años	132.2 \pm 14.0	14.02	83	220	8
>15 años	-	-	-	-	0

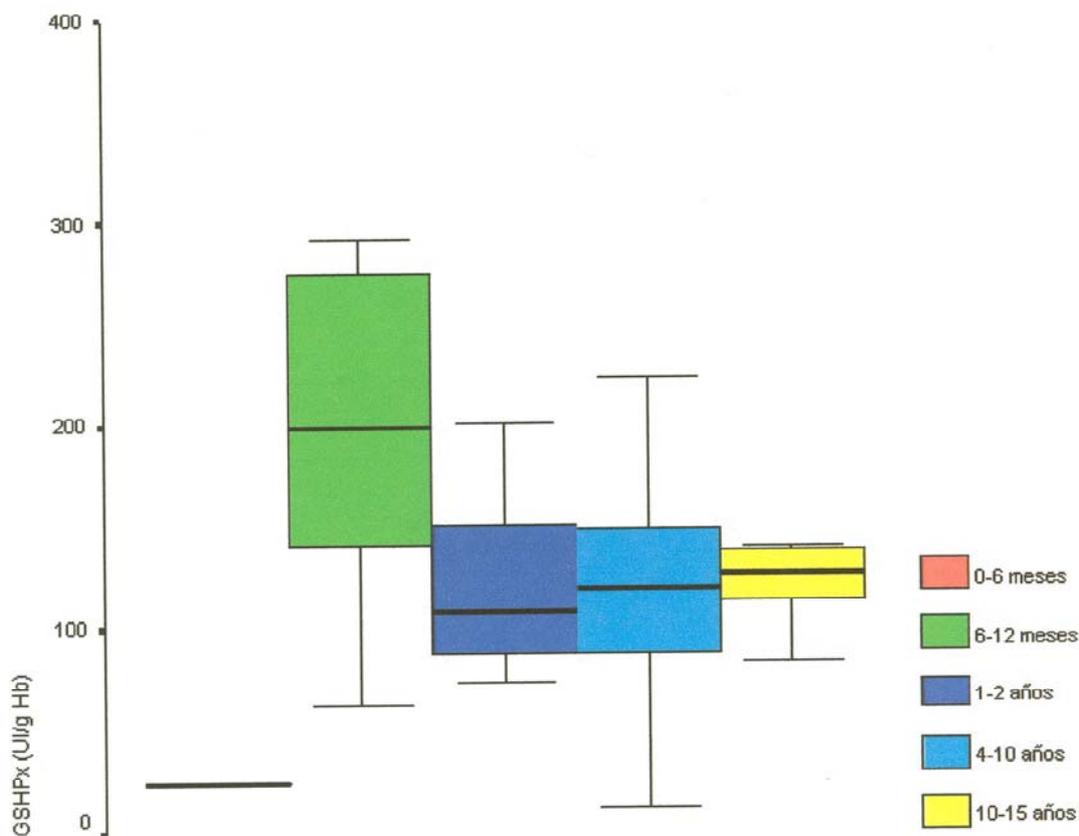


Gráfico 33. Diagrama de cajas de la actividad de la GSH-Px según grupos de edades dentro del grupo de alimentación B.

Debido al escaso número de animales pertenecientes a estos grupos de edades dentro del grupo de alimentación tipo C, no es posible realizar la comparación múltiple entre ellos.



4.2.10. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN TIPO DE ALIMENTACIÓN, SEXOS Y EDADES

Las actividades de la enzima GSH-Px tomando en cuenta las variables de alimentación, edades y sexos figura en las siguientes tablas y gráficos.

4.2.10.1 RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN SEXOS Y EDADES EN EL GRUPO DE ALIMENTACIÓN A

Tabla 38. Comparación bilateral entre sexos de la GSH-Px según edades en el grupo de alimentación A.

Grupos de edades	Machos		Hembras		Significación estadística
	Media \pm DT (UI/g-Hb)	N	Media \pm DT (UI/g-Hb)	N	
0 - 6 meses	265.7 \pm 172.9	8	382.3 \pm 142.1	7	0.181
6 -12 meses	352.2 \pm 185.4	4	497.0 \pm 199.4	2	0.426
1-2 años	268.7 \pm 159.8	6	243.2 \pm 117.9	8	0.737
0-2 años	285.9 \pm 165.0	18	330.3 \pm 156.8	17	0.421
2-4 años	262.5 \pm 146.4	11	364.5 \pm 151.0	26	0.067
4-10 años	362.7 \pm 165.6	49	333.5 \pm 150.0	100	0.282
10-15 años	382.7 \pm 143.5	29	356.5 \pm 155.2	68	0.438
>15 años	235.2 \pm 44.3	4	288.4 \pm 183.1	22	0.575
Totales	341.0 \pm 160.0	111	339.2 \pm 155.4	233	0.921

No existen diferencias estadísticamente significativas.

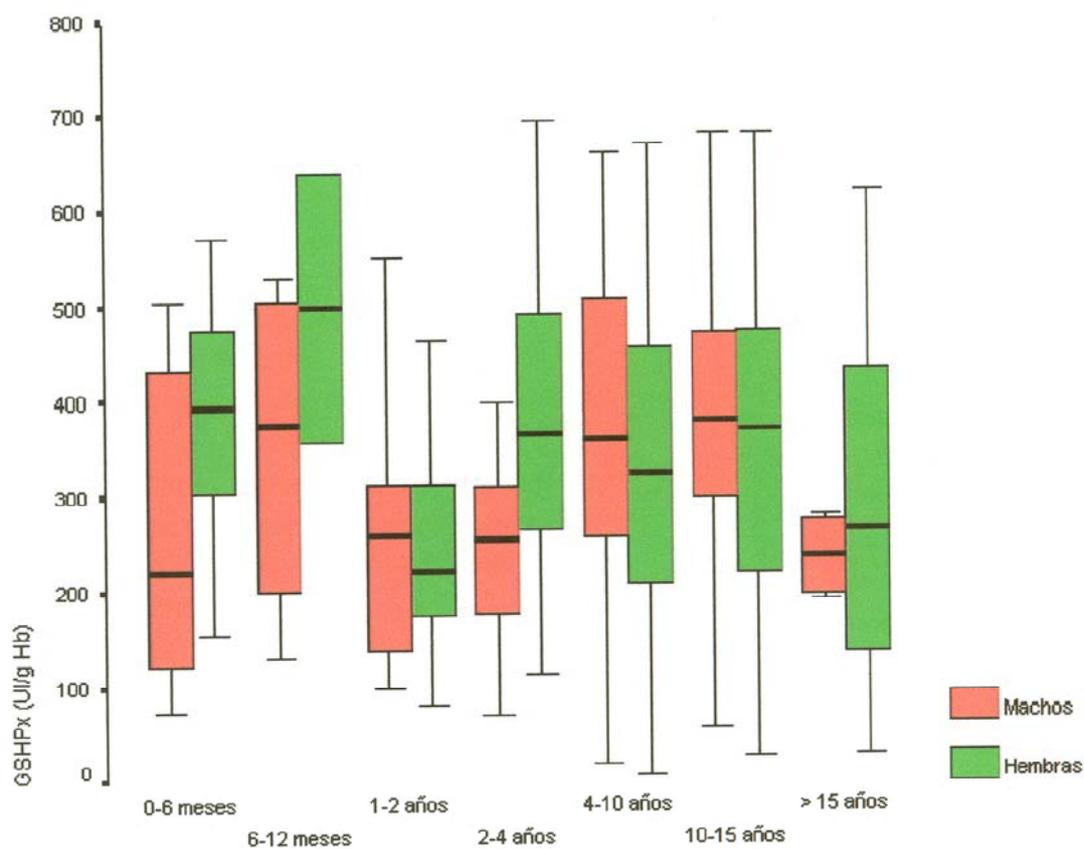


Gráfico 34. Diagrama de cajas de la GSH-Px según sexos y edades en el grupo de Alimentación A.

Tabla 39. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px de los machos según grupos de edades en el grupo de alimentación A.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	0.990	1.000	1.000	0.785	0.724	1.000
6-12 meses		-----	0.994	0.985	1.000	1.000	0.978
1-2 años			-----	1.000	0.885	0.838	1.000
2-4 años				-----	0.624	0.560	1.000
4-10 años					-----	1.000	0.825
10-15 años						-----	0.776
> 15 años							-----

Sin diferencias estadísticamente significativas

Tabla 40. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px de las hembras según grupos de edades en el grupo de alimentación A.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	0.991	0.809	1.000	0.994	1.000	0.924
6-12 meses		-----	0.641	0.968	0.893	0.953	0.769
1-2 años			-----	0.713	0.887	0.703	0.998
2-4 años				-----	0.985	1.000	0.825
4-10 años					-----	0.978	0.971
10-15 años						-----	0.783
> 15 años							-----

Sin diferencias estadísticamente significativas

4.2.10.2. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN SEXOS Y EDADES EN EL GRUPO DE ALIMENTACIÓN B

Tabla 41. Comparación bilateral entre sexos de la GSH-Px según edades en el grupo de alimentación B.

Grupos de edades	Machos		Hembras		Significación estadística
	Media \pm DT (UI/g Hb)	N	Media \pm DT (UI/g Hb)	N	
0 - 6 meses	92.3 \pm 18.2	3	119.7 \pm 26.0	3	0.210
6 -12 meses	206.8 \pm 86.2	6	315.1 \pm 117.3	21	0.047*
1-2 años	324.7 \pm 149.0	6	326.2 \pm 218.3	4	0.989
0-2 años	231.1 \pm 137.0	15	295.7 \pm 139.3	28	0.152
2-4 años	285.4 \pm 131.3	10	240.1 \pm 120.0	16	0.375
4-10 años	240.9 \pm 143.9	68	268.1 \pm 156.9	108	0.251
10-15 años	247.3 \pm 138.2	27	269.7 \pm 138.6	33	0.534
>15 años	-	0	-	0	-
Totales	244.8 \pm 139.7	120	270.1 \pm 147.8	185	0.137

* Diferencias estadísticamente significativas

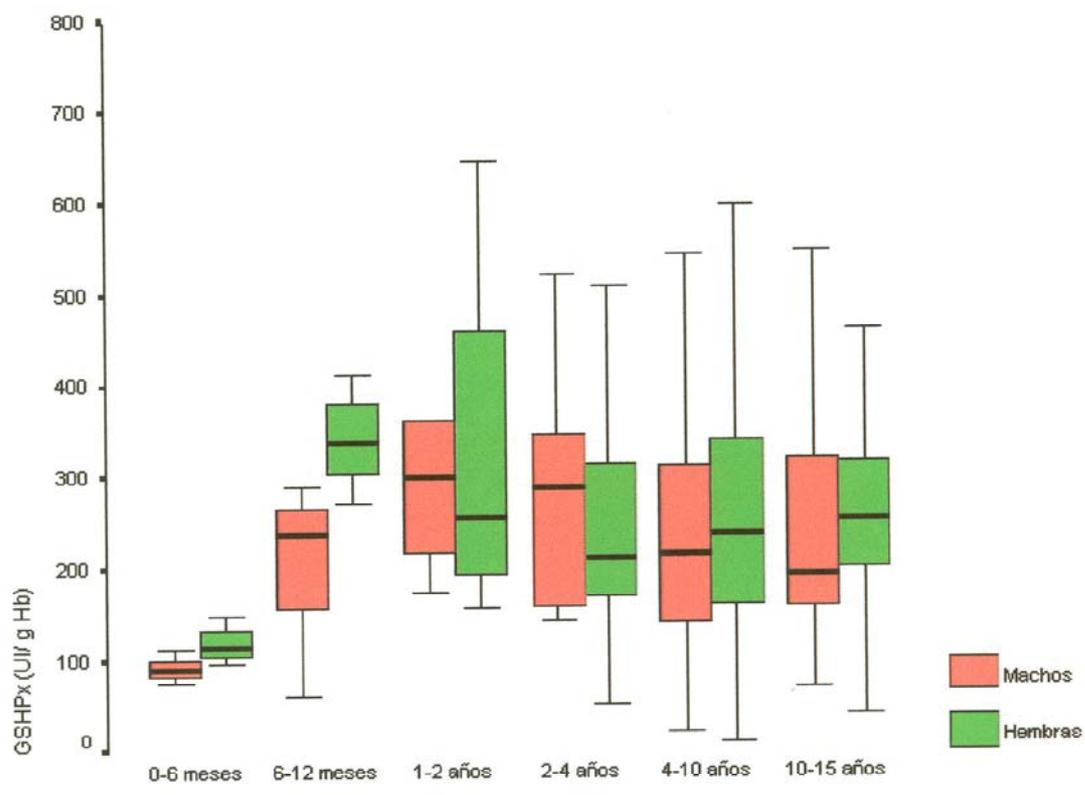


Gráfico 34. Diagrama de cajas de la GSH-Px según sexos y edades en el grupo de Alimentación B

Tabla 42. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px de los machos según grupos de edades en el grupo de alimentación B.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	0.927	0.351	0.486	0.654	0.643	
6-12 meses		-----	0.824	0.943	0.997	0.995	
1-2 años			-----	0.998	0.846	0.908	
2-4 años				-----	0.970	0.990	
4-10 años					-----	1.000	
10-15 años						-----	
> 15 años							-----

Sin diferencias estadísticamente significativas

Tabla 43. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px de las hembras según grupos de edades en el grupo de alimentación B.

Significación estadística	0-6 meses	6-12 meses	1-2 años	2-4 años	4-10 años	10-15 años	> 15 años
0-6 meses	-----	0.467	0.643	0.890	0.706	0.722	
6-12 meses		-----	1.000	0.797	0.877	0.943	
1-2 años			-----	0.954	0.988	0.991	
2-4 años				-----	0.992	0.994	
4-10 años					-----	1.000	
10-15 años						-----	
> 15 años							-----

Sin diferencias estadísticamente significativas

4.2.10.3. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN SEXOS Y EDADES EN EL GRUPO DE ALIMENTACIÓN C

Tabla 44. Comparación bilateral entre sexos de la GSH-Px según edades en el grupo de alimentación C.

Grupos de edades	Machos		Hembras		Significación estadística
	Media \pm DT (UI/g Hb)	N	Media \pm DT (UI/g Hb)	N	
0 - 6 meses	23.7	1	-	0	-
6 -12 meses	197.08 \pm 79.9	13	-	0	-
1-2 años	114.00 \pm 56.6	2	122.8 \pm 44.1	6	0.823
0-2 años	175.9 \pm 88.1	16	122.8 \pm 44.1	6	0.179
2-4 años	-	0	-	0	-
4-10 años	136.8 \pm 57.9	17	104.6 \pm 47.1	13	0.113
10-15 años	136.6 \pm 73.0	3	129.6 \pm 8.2	5	0.830
>15 años	-	0	-	0	-
Totales	154.1 \pm 74.5	36	114.3 \pm 41.4	24	0.021*

* Diferencias estadísticamente significativas

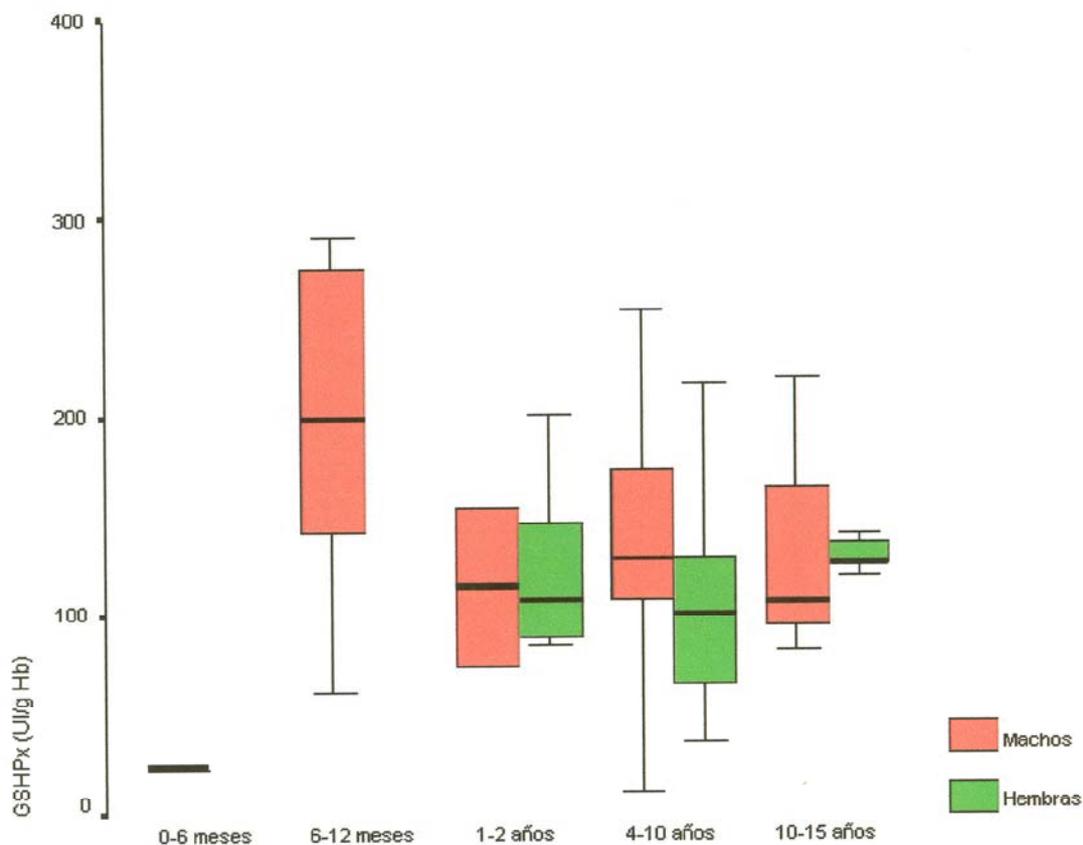


Gráfico 35. Diagrama de cajas de la GSH-Px según sexos y edades en el grupo de Alimentación C

Debido al escaso número de animales pertenecientes a cada sexo dentro de estos grupos de edades del tipo de alimentación C, no fue posible estudiar la comparación múltiple entre ellos.

4.2.11. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN EL ESTADO REPRODUCTIVO

Los valores hallados de la actividad de la GSH-Px según el estado reproductivo de las hembras examinadas figuran en las siguientes tablas y gráfico.

Tabla 45. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px según el estado reproductivo de las hembras.

Estado reproductivo	Media \pm DT (UI/g Hb)	Error tip. (UI/g Hb)	Valor mínimo (UI/g Hb)	Valor máximo (UI/g Hb)	Tamaño (N)
Vacías	321.7 \pm 161.6	9.05	9	694	319
Lactantes	248.6 \pm 136.0	17.00	29	654	64
Gestantes	224.1 \pm 124.1	16.15	10	672	59

Tabla 46. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px según es estado reproductivo de las hembras.

Significación estadística	Vacías	Lactantes	Gestantes
Vacías	-----	0.003*	0.000*
Lactantes		-----	0.677
Gestantes			-----

* Diferencias estadísticamente significativas

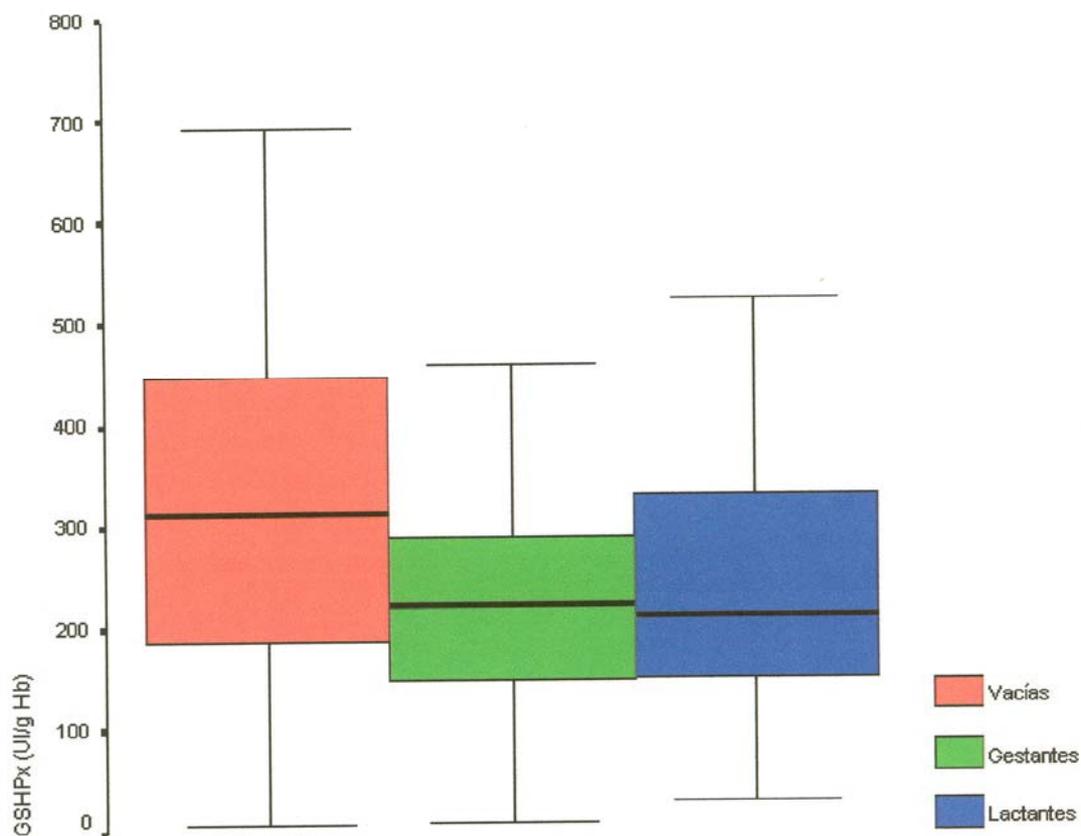


Gráfico 36. Diagrama de cajas de la GSH-Px según el estado reproductivo de las hembras.

4.2.12. RESULTADOS DE LA GSH-PX SEGÚN EL ESTADO REPRODUCTIVO Y ALIMENTACIÓN

Los resultados de la actividad de la GSH-Px relacionando el estado reproductivo y el tipo de alimentación recibido figura en la siguiente tabla y gráfico:

Tabla 47. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px según el estado reproductivo y el grupo de alimentación.

Grupo de alimentación	Estado reproductivo	Media \pm DT (UI/gHb)	Error tip. (UI/gHb)	Valor mínimo (UI/gHb)	Valor máximo (UI/gHb)	Tamaño (N)
A	Gestantes	288.4 \pm 128.2	28.67	129	672	20
	Lactantes	287.5 \pm 110.5	28.53	134	520	15
	Vacías	348.0 \pm 159.56	11.34	9	694	198
B	Gestantes	198.1 \pm 107.8	17.73	10	461	37
	Lactantes	248.0 \pm 138.8	20.47	29	654	46
	Vacías	306.2 \pm 153.8	15.23	37	690	102
C	Gestantes	60.0 \pm 2.8	2.00	58	62	2
	Lactantes	63.7 \pm 25.5	14.74	37	88	3
	Vacías	128.1 \pm 34.1	7.83	86	216	19

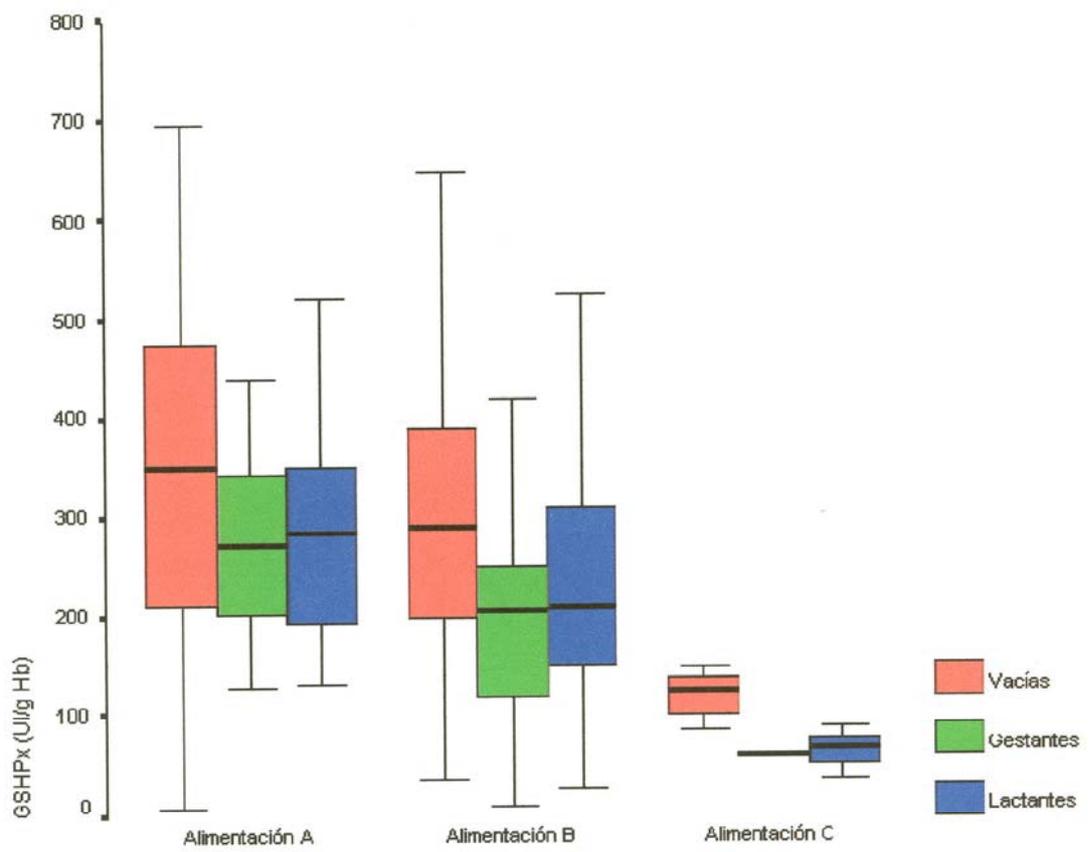


Gráfico 37. Diagrama de cajas de la GSH-Px según grupos de alimentación y estado reproductivo de las hembras.

4.2.13. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN SEXO, ESTADO REPRODUCTIVO Y EDADES

Tabla 48. Resultados de la GSH-Px según sexos, estados reproductivos y edades.

Grupos de edades	Machos		Hembras vacías		Hembras lactantes		Hembras gestantes	
	Media ± DT (UI/g Hb)	N	Media ± DT (UI/g Hb)	N	Media ± DT (UI/g Hb)	N	Media ± DT (UI/g Hb)	N
0-6 meses	202.2 ± 167.9	12	303.5 ± 172.3	10	-	0	-	0
6-12 meses	226.6 ± 115.5	23	330.9 ± 130.6	23	-	0	-	0
1-2 años	270.5 ± 154.0	14	221.5 ± 144.7	18	-	0	-	0
0-2 años	233.2 ± 140.2	49	286.9 ± 149.8	51	-	0	-	0
2-4 años	273.4 ± 136.4	21	317.1 ± 151.4	42	-	0	-	0
4-10 años	274.2 ± 162.0	133	348.8 ± 171.7	99	248.6 ± 136.0	64	224.1 ± 124.0	59
10-15 años	308.2 ± 157.2	59	318.7 ± 156.8	106	-	0	-	0
>15 años	235.2 ± 44.3	4	288.4 ± 183.1	22	-	0	-	0
Totales	273.5 ± 155.1	266	320.7 ± 162.3	320	224.1 ± 124.0	59	248.6 ± 136.0	64

Tabla 49. Comparación bilateral de medias de la GSH-Px de los animales en edad reproductiva (4-10 años) según sexos y estados reproductivos

Significación estadística	Machos	Vacías	Lactantes	Gestantes
Machos	----	0.005*	0.757	0.233
Vacías		----	0.001*	0.000*
Lactantes			----	0.664
Gestantes				----

* Diferencias estadísticamente significativas

4.3. RESULTADOS DE LA CORRELACIÓN ENTRE EL SELENIO SÉRICO Y LA ACTIVIDAD SANGUÍNEA DE LA GSH-Px

Los valores de selenio sérico en los animales estudiados (N=42) así como los valores obtenidos de GSH-Px en los mismos animales fueron comparados para hallar una correlación entre ambos valores.

Tabla 50. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px y selenio del grupo de 42 animales para determinar la correlación.

Parametro	Media ± DT	Error tip.	Valor mínimo	Valor máximo	Tamaño
GSH-Px (UI/g Hb)	173.1 ± 65.3	10.0	62.2	350.0	42
Selenio (µg/L)	52.0 ± 22.9	3.53	25	121	42

En la figura que a continuación se expone se muestra el gráfico de dispersión, así como, la recta de regresión entre las dos variables, siendo el eje x = la concentración de selenio en suero (µg /L) y el eje y = la actividad de la enzima GSH-Px (UI/g Hb).

Se obtuvo una correlación de Pearson de $r = 0.88$ (siendo $N=42$ y $p<0.001$) y la correspondiente recta de regresión ($y=2.5101x + 42.423$).

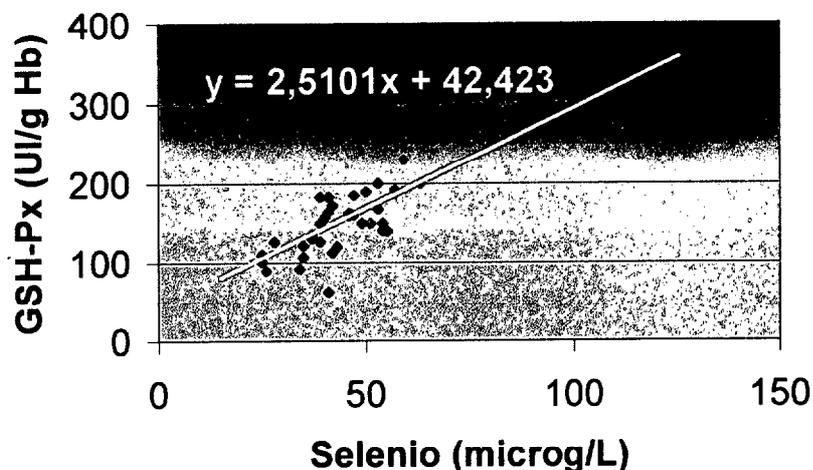


Gráfico 38. Recta de regresión GSH-Px/selenio sérico.

4.4. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE INMUNIDAD DE TIPO CELULAR

4.4.1. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD DE LA GSH-Px

4.4.1.1. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN LOS GRUPOS DE TRATAMIENTO

4.4.1.1.1. Grupo Se

En el grupo de animales inoculados con selenio se obtuvieron los resultados expresados en las siguientes tablas:

Tabla 51. Resultados de la GSH-Px antes y después del tratamiento con selenio.

Animal inoculado	Sexo	GSH-Px antes (UI/g.Hb)	GSH-Px después (UI/g.Hb)
1	H	147	544
2	H	88	122
3	H	123	141
4	H	159	182
5	H	146	284
6	M	256	531
7	M	110	367
8	M	69	423
9	M	204	257
10	M	158	177

Tabla 52. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px antes y después del tratamiento con selenio.

Determinación	Media \pm D.T. (UI/g.Hb)	Error típ. (UI/g.Hb)	Valor mínimo (UI/g.Hb)	Valor máximo (UI/g.Hb)	Tamaño (N)
Antes	146.4 \pm 54.6	17.2	69	256	10
Después	302.8 \pm 156.5	49.5	122	544	10

4.4.1.1.2. Grupo E

En el grupo de animales inoculados con vitamina E se obtuvieron los resultados expresados en las siguientes tablas:

Tabla 53. Resultados de la GSH-Px antes y después del tratamiento con vitamina E.

Animal inoculado	Sexo	GSH-Px antes (UI/g Hb)	GSH-Px después (UI/g Hb)
11	H	235	251
12	H	70	334
13	H	115	342
14	H	125	154
15	H	49	158
16	M	192	201
17	M	113	473
18	M	208	182
19	M	311	222
20	M	238	246

Tabla 54. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px antes y después del tratamiento con vitamina E.

Determinación	Media \pm D.T. (UI/g Hb)	Error típ. (UI/g Hb)	Valor mínimo (UI/g Hb)	Valor máximo (UI/g Hb)	Tamaño (N)
Antes	166.1 \pm 83.8	26.5	49	311	10
Después	256.3 \pm 100.2	31.6	154	473	10

4.4.1.1.3. Grupo control

El grupo de animales que sirvió como control mostró los resultados que se reflejan en las siguientes tablas:

Tabla 55. Resultados de la GSH-Px antes y después del grupo control.

Animal inoculado	Sexo	GSH-Px antes (UI/g Hb)	GSH-Px después (UI/g Hb)
21	H	368	516
22	H	264	209
23	H	158	207
24	H	150	100
25	H	147	184
26	M	168	136
27	M	225	134
28	M	125	134
29	M	158	88
30	M	148	230

Tabla 56. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px antes y después del grupo control.

Determinación	Media \pm D.T. (UI/g Hb)	Error tip. (UI/g Hb)	Valor mínimo (UI/g Hb)	Valor máximo (UI/g Hb)	Tamaño (N)
Antes	191.5 \pm 74.7	23.6	125	368	10
Después	193.8 \pm 122.9	38.8	88	516	10

4.4.1.2. COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA GSH-Px ANTES Y DESPUÉS POR GRUPOS DE TRATAMIENTO

4.4.1.2.1. Antes del tratamiento

Los valores de la actividad de la GSH-Px obtenidos antes de administrar el selenio y la vitamina E quedan reflejados en las siguientes tablas. Tampoco se obtuvieron de estos valores diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 57. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px antes según grupos.

Grupo	Media \pm D.T. (UI/g-Hb)	Error típ. (UI/g-Hb)	Valor	Valor	Tamaño (N)
			mínimo (UI/g-Hb)	máximo (UI/g-Hb)	
Se	146.4 \pm 54.6	17.2	69	256	10
E	166.1 \pm 83.8	26.5	49	311	10
C	191.5 \pm 74.7	23.6	125	368	10

Tabla 58. Comparación múltiple de la GSH-Px antes obtenido según grupos.

Significación estadística	Se	E	C
Se	----	0.830	0.389
E		----	0.736
C			----

No existen diferencias estadísticamente significativas.

4.4.1.2.2. Después del tratamiento

Los valores de la actividad de la GSH-Px obtenidos después de administrar el tratamiento por grupos quedan reflejados en las siguientes tablas. Tampoco se obtuvieron de estos valores diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 59. Estadísticos descriptivos de la GSH-Px después según grupos.

Grupo	Media \pm D.T. (UI/g Hb)	Error tip. (UI/g Hb)	Valor mínimo (UI/g Hb)	Valor máximo (UI/g Hb)	Tamaño (N)
Se	302.8 \pm 156.5	49.50	122	422	10
E	256.3 \pm 100.1	31.68	154	473	10
C	193.8 \pm 122.9	38.88	88	516	10

Tabla 60. Comparación múltiple de la GSH-Px después obtenido según grupos.

Significación estadística	Se	E	C
Se	----	0.724	0.186
E		----	0.561
C			----

No existen diferencias estadísticamente significativas.

4.4.2. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE INMUNIDAD CELULAR *IN VIVO*

4.4.2.1. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE HIPERSENSIBILIDAD INTRADÉRMICA POR GRUPOS DE TRATAMIENTO

4.4.2.1.1. Grupo Se

Las respuestas inflamatorias frente a la presencia de la fitohemaglutinina obtenidas en el grupo que se le administró el selenio se detallan en las siguientes tabla y gráfico.

Tabla 61. Resultados del grosor de la piel en la prueba de hipersensibilidad intradérmica del grupo de animales inoculados con selenio

Animal inoculado	Sexo	T=0h antes inoculación (cm)	T=0h después (cm)	T=12h (cm)	T=24h (cm)	T=48h (cm)
1	H	0.6	0.05	0.8	0.6	0.6
2	H	1.1	0.05	0.8	0.6	0.6
3	H	0.8	0.1	0.9	0.9	0.7
4	H	0.85	0.05	0.7	0.5	0.3
5	H	0.65	0.05	0.8	0.6	0.4
6	M	1.1	0.1	1.0	1.2	1.0
7	M	0.65	0.1	0.9	0.7	0.7
8	M	0.95	0.1	1.1	0.9	0.8
9	M	0.9	0.1	1.1	1.1	1.1
10	M	1	0.1	0.9	0.7	0.6

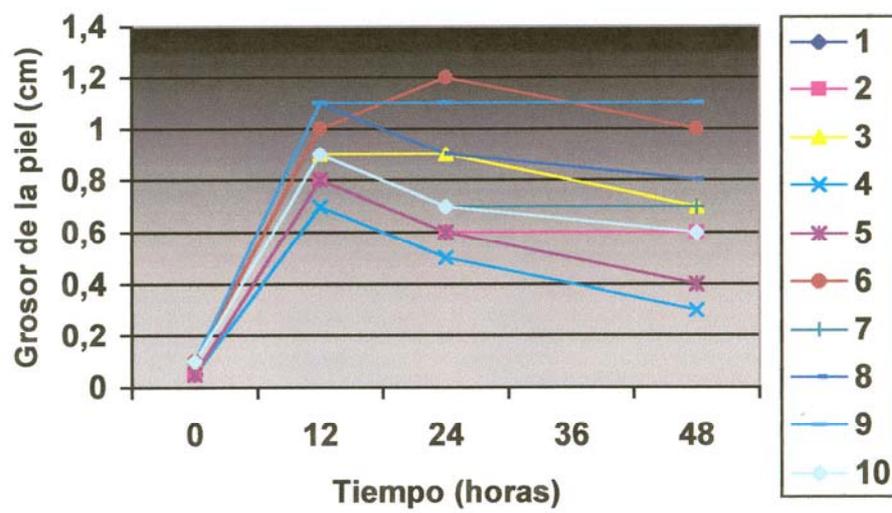


Gráfico 39. Resultados de la prueba de hipersensibilidad intradérmica del grupo de animales inoculados con selenio.

4.4.2.1.2. Grupo E

Las respuestas inflamatorias frente a la presencia de la fitohemaglutinina obtenidas en el grupo que se le administró la vitamina E se detallan en las siguientes tabla y gráfico.

Tabla 62. Resultados del grosor de la piel en la prueba de hipersensibilidad intradérmica del grupo de animales inoculados con vitamina E.

Animal inoculado	Sexo	T= 0 h antes inoculación (cm)	T=0h después (cm)	T=12h (cm)	T=24h (cm)	T=48h (cm)
11	H	0.7	0.1	1.0	1.1	0.9
12	H	0.5	0.1	0.7	0.5	0.5
13	H	0.6	0.1	0.9	0.9	0.7
14	H	0.7	0.05	0.5	0.6	0.6
15	H	0.7	0.05	0.4	0.6	0.6
16	M	0.7	0.1	0.9	1.0	0.7
17	M	1.3	0.1	0.6	0.6	0.7
18	M	0.9	0.1	0.9	0.7	0.7
19	M	0.65	0.05	1.0	0.9	0.7
20	M	0.7	0.1	0.7	0.6	0.6

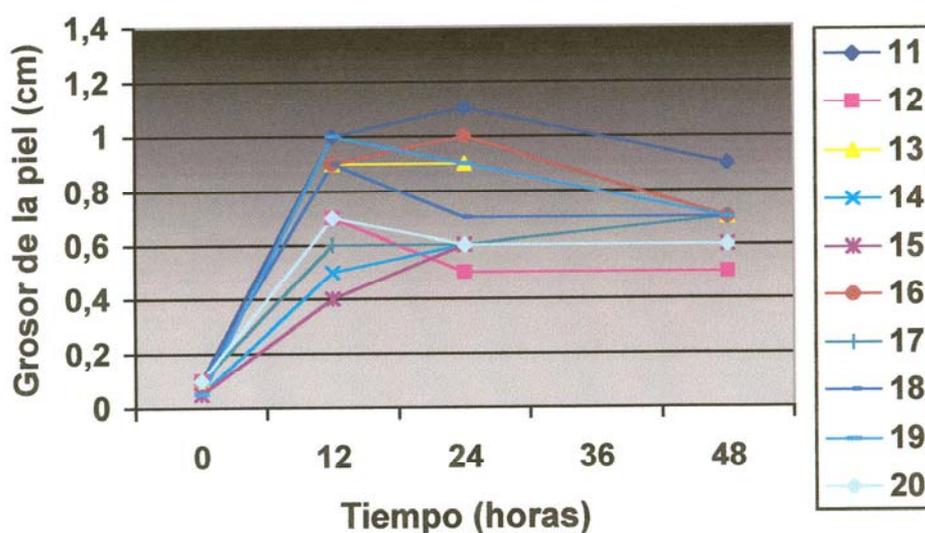


Gráfico 40. Resultados de la prueba de hipersensibilidad intradérmica del grupo de animales inoculados con selenio.

4.4.2.1.3. Grupo control

Las respuestas inflamatorias frente a la presencia de la fitohemaglutinina obtenidas en el grupo que se le administró el selenio se detallan en las siguientes tabla y gráfico.

Tabla 63. Resultados del grosor de la piel en la prueba de hipersensibilidad intradérmica del grupo control.

Animal inoculado	Sexo	T= 0 h antes inoculación (cm)	T=0h después (cm)	T=12h (cm)	T=24h (cm)	T=48h (cm)
21	H	0.6	0.15	0.6	0.65	0.4
22	H	0.6	0.1	1.0	1.0	0.8
23	H	0.6	0.25	1.0	1.05	1.0
24	H	0.7	0.1	0.65	0.5	0.5
25	H	0.8	0.15	0.5	0.5	0.4
26	M	0.85	0.25	0.5	1.1	0.85
27	M	0.65	0.1	0.6	0.75	0.55
28	M	0.45	0.15	0.55	0.35	0.25
29	M	0.75	0.05	0.35	0.6	0.5
30	M	0.8	0.1	0.6	0.6	0.5

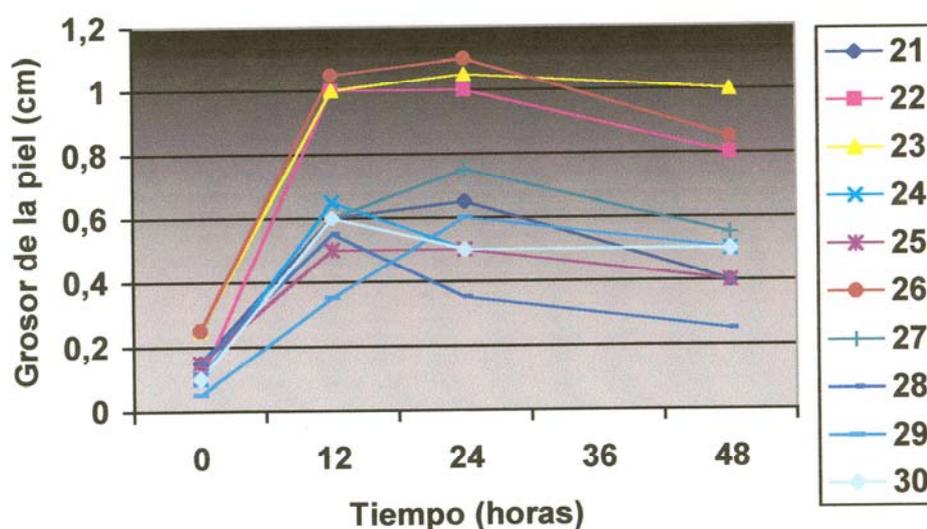


Gráfico 41. Resultados de la prueba de hipersensibilidad intradérmica del grupo control.

4.4.2.2. RESULTADOS DE LAS PRUEBA DE HIPERSENSIBILIDAD INTRADÉRMICA SEGÚN SEXOS

Tomando el valor máximo de respuesta inflamatoria frente a la presencia del mitógeno (diámetro máximo de la piel) y comparando dicha respuesta según los sexos estudiados podemos observar, tal y como figura en la siguiente tabla, que no existen diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 64. Estadísticos descriptivos del grosor de la piel máximo obtenido según sexos.

Sexo	Media \pm D.T. (cm)	Error típ. (cm)	Valor mínimo (cm)	Valor máximo (cm)	Tamaño (N)
Machos	0.86 \pm 0.21	0.05	0.55	1.2	15
Hembras	0.78 \pm 0.17	0.04	0.5	1.1	15

No existen diferencias estadísticamente significativas.

4.4.2.3. RESULTADOS MEDIOS DE LAS PRUEBA DE HIPERSENSIBILIDAD INTRADÉRMICA SEGÚN GRUPOS

Cuando los resultados son expresados con relación a los grupos estudiados se obtuvieron los valores reflejados en la siguiente tabla y de los cuales aplicando la significación de Scheffe no se obtuvieron diferencias estadísticas.

Tabla 65. Estadísticos descriptivos del grosor de la piel máximo obtenido según grupos.

Grupo	Media \pm D.T. (cm)	Error tip. (cm)	Valor mínimo (cm)	Valor máximo (cm)	Tamaño (N)
Se	0.92 \pm 0.16	0.05	0.7	1.2	10
E	0.82 \pm 0.19	0.06	0.6	1.1	10
C	0.73 \pm 0.20	0.06	0.50	1.1	10

Tabla 66. Comparación múltiple del grosor de la piel máximo obtenido según grupos.

Significación estadística	Se	E	C
Se	----	0.445	0.127
E		----	0.716
C			----

No existen diferencias estadísticamente significativas.

4.4.2.4. RESULTADOS DE LA HISTOPATOLOGÍA

El análisis histopatológico de las biopsias obtenidas en los 30 animales inoculados con fitohemaglutinina reveló un infiltrado perivascular abundante de polimorfonucleares neutrófilos, una presencia moderada de polimorfonucleares eosinófilos, macrófagos y linfocitos, siendo el infiltrado mucho más abundante, fundamentalmente de linfocitos, en el grupo de animales inoculados con selenio y vitamina E comparado con el grupo control. Igualmente fue importante la presencia de edema en algunas de las muestras y la presencia de úlceras epidérmicas que afectaban a todo el grosor de la piel desde el estrato basal, úlceras que fueron observadas en 8 de las 10 muestras del grupo de animales inoculados con selenio.

En la siguiente tabla se exponen los hallazgos del infiltrado observados en las diferentes muestras y se expresan según la abundancia de células encontradas en cada lote.

Tabla 67. Resultados de la histopatología según los grupos.

Animal inoculado	Grupo	Infiltrado celular
1	Se	++
2		+++
3		+++
4		+++
5		++++
6		++
7		++++
8		+++
9		+++
10		+++
11	E	++++
12		++
13		++
14		++++
15		+++
16		++++
17		+++
18		++
19		++
20		++++
21	C	++
22		-
23		+++
24		++
25		++
26		+
27		++
28		+++
29		+
30		-

(- negativo, + ocasional, ++ escasos, +++ abundante, ++++ muy abundante)

DISCUSIÓN

5.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN

La población estudiada, 709 dromedarios, representa el 64% de la población tota que se ha estimado entre 1000-1200 animales, por lo que puede considerarse al tamaño muestral como representativo de la población de dromedarios de Canarias. Por otro lado, el presente estudio representaría el más amplio que se haya realizado sobre la actividad de la GSH-Px en esta especie, pues en los únicos artículos existentes en la literatura sólo se utilizaron 20 animales (15 machos y 5 hembras) (El-Magwary *et al.*, 1988) y 53 animales (17 machos y 36 hembras) (Hamliri *et al.*, 1990-b).

Los animales estudiados pertenecían en su totalidad a granjas con finalidad turística, y la alimentación era de tipo intensivo. Sólo tres granjas (Tabla 8) complementaban la dieta con forrajes procedentes de las inmediaciones (pastoreo o siega); por esto, debemos tener en cuenta que la incidencia mínima que tiene la EMB en el dromedario cuando este se encuentra en su hábitat natural (Higgins, 1986), puede verse incrementada, como así ha sido descrito por Kovác *et al.* (1996), cuando se les introduce en un sistema intensivo donde no se cubren las necesidades mínimas de minerales, concretamente de selenio, necesidades que aún no han sido estudiadas en esta especie.

Al observar la distribución por edades (Tabla 6) debemos destacar que el 50% de la población (355 animales) tiene entre 4 y 10 años, que es cuando tiene lugar la vida reproductiva de estos animales, el 23% son animales en crecimiento y que tan solo el 3% de la población supera los 15 años de edad. Estos datos nos indican que el 78% de la población se encuentra en la edad de mayor predisposición para el padecimiento de la enfermedad.



5.2. RESULTADOS DE LA HEMOGLOBINA

Los valores de la concentración de hemoglobina obtenidos en este estudio (Tabla 10) (13.0 ± 3.0 g/dL) pueden ser considerados como normales para la especie (Higgins, 1986; Yagoub, 1988).

Al comparar los resultados de la concentración de la hemoglobina por sexos no se han observado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 11), lo que también ha sido descrito en bovinos (Adams *et al.*, 1992; Subba *et al.*, 1993; Biondo *et al.*, 1998) y en perros (Gomez *et al.*, 1990). Igualmente, se han descrito diferencias entre sexos en perros (Antuncul, 1997), bovinos (Kleczkowski *et al.* 1996) así como en gacelas (Rietkerk *et al.*, 1994).

La comparación estadística de los resultados entre grupos de edades (Tabla 13) mostró diferencias estadísticamente significativas entre los animales jóvenes (6-12 meses) y los animales adultos con más de 4 años, observándose esas diferencias más acentuadas ($p < 0.001$) cuanto más avanzada era la edad del animal (grupo de edad > 15 años). Estos resultados coinciden con los descritos por Mbassa y Poulsen, (1993) y Biondo *et al.* (1998) al observar las variaciones que se producen en la concentración de la hemoglobina según las edades de los animales de forma inversamente proporcional.

Relacionando los niveles de hemoglobina con las variables sexo y edad se han detectado unos niveles más elevados en machos que en hembras en animales jóvenes (Tabla 14), hallazgos también descritos por Kmiec y Baranowski (1999) en corderos y Das *et al.* (1992) en cabritos. Nuestros resultados también aportaron diferencias estadísticamente significativas entre los machos y hembras de edad mayor a 15 años. Sin embargo, estos datos deben ser interpretados con cautela dado el escaso número de animales pertenecientes a este grupo de edad.

Los resultados de la hemoglobina observada según grupos de edades (Tabla 12), y granjas (Tabla 15) estuvieron siempre dentro de los rangos fisiológicos para esta especie (Higgins *et al.*, 1986).

5.3. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD DE LA GSH-Px

5.3.1. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD DE LA GSH-Px EN TODA LA POBLACIÓN

Los valores de la actividad de la GSH-Px detectados en este estudio (288.5 ± 157.5 UI/g Hb) (Tabla 16) son considerablemente mayores que los obtenidos por El-Magawry *et al.* (1988) -25 ± 0.64 UI/g Hb- o Hamliri *et al.* (1990-b) $-15-36$ UI/g Hb- en estudios similares realizados en esta especie.

La alimentación, elemento fundamental en las valoraciones de los oligoelementos orgánicos, puede variar de forma importante de una región a otra. Así, en Canarias, la mayoría de las granjas son de tipo intensivo, donde normalmente se aporta gran cantidad de nutrientes. En los estudios anteriormente citados no se describe la alimentación de los dromedarios, sólo se menciona la zona geográfica, concretamente Egipto y una zona semiárida de Marruecos, respectivamente, donde los animales se encontraban en régimen extensivo o de pastoreo.

En segundo lugar, el número de animales investigados en ambos estudios parece muy reducido (20 y 53 animales, respectivamente), lo que unido a la normal variabilidad de la actividad de la GSH-Px (Sáez *et al.*, 1995) hacen que estos estudios puedan tener un valor limitado.

A pesar de ello, es importante resaltar que los animales incluidos en los estudios citados, así como en el presente, eran aparentemente sanos. A estas diferencias han podido contribuir también los materiales y los métodos empleados, fundamentalmente los equipos de laboratorio y reactivos. Estas posibles variaciones han sido descritas por muchos autores y los hallazgos y las comparaciones entre estudios deben citar la metodología y los materiales utilizados (Kaneko, 1989).

Como hemos indicado, los estudios sobre la actividad de la enzima GSH-Px en el dromedario son escasos, por tanto, debemos comparar los niveles que hemos encontrado con los obtenidos para otras especies; así, en ovino, Zachara *et al.* (1992) describieron, para animales alimentados con pastos deficientes en selenio, unos valores entre 41 ± 10 UI/g Hb y 152 ± 44 UI/g Hb, mientras que los animales suplementados presentaron actividades más altas (entre 178 ± 61 y 687 ± 116 UI/g Hb), siendo estas actividades de la GSH-Px comparables a las obtenidas en el presente estudio. También en ovino, Verde *et al.* (1995) obtuvieron, en animales sanos y suplementados con selenio, unas actividades medias de 250.6 ± 68.9 UI/g Hb. De otro lado, Sáez *et al.* (1994) hallaron en ovejas adultas que pastoreaban en regiones deficientes, actividades entre 98 ± 14 y 50 ± 107 UI/g Hb; sin embargo, en animales suplementados, los valores variaron entre 436 ± 106 y 519 ± 107 UI/g Hb. Otros autores, Andrés *et al.* (1997-c) obtuvieron niveles inferiores en animales control (que consumían pastos deficientes) (entre 43.5 ± 7.5 y 159.0 ± 16.4 UI/g Hb); sin embargo, en aquellos animales que fueron tratados, las actividades alcanzaban niveles entre 326.5 ± 16.0 UI/g Hb y 570.2 ± 28.5 UI/g Hb. También en España, Ramos *et al.* (1995), realizando un estudio epidemiológico en la provincia de Zaragoza detectaron grandes deficiencias en la población ovina, con actividades medias en las granjas que variaban entre 88 ± 30 UI/g Hb y 268 ± 72 UI/g Hb. Posteriormente, realizaron un estudio experimental y los valores de los animales control (alimentados correctamente) oscilaban entre 470 ± 214 UI/g Hb y 710 ± 129 UI/g Hb, mientras que los animales

suplementados con selenio los niveles de la actividad de la enzima alcanzaban valores de 868 ± 191 UI/g Hb.

Por otro lado, las desviaciones típicas tan elevadas que hemos obtenido (157.5 UI/g Hb) (Tabla 16) son similares a las descritas por otros autores utilizando el ovino como especie de estudio (Zachara *et al.*, 1992; Zachara *et al.*, 1993; Sáez *et al.*, 1994; Sáez *et al.*, 1995; Ramos *et al.*, 1995; Verde *et al.*, 1995; Andrés *et al.*, 1996; Sáez *et al.*, 1996-a; Andrés *et al.*, 1997-c; Ramos *et al.*, 1998) y utilizando, algunos de ellos, la misma metodología y un número significativo de animales. Esto refleja la gran variabilidad que muestra la actividad de la GSH-Px ya descrita por Sáez *et al.* (1995).

5.3.2. RANGOS DE REFERENCIA PARA TODA LA POBLACIÓN

Según el sistema de clasificación de categorías utilizados más comúnmente en rumiantes, se consideran niveles adecuados (>120 UI/g Hb), marginales (120-60 UI/g Hb) y deficientes (<60 UI/g Hb); de este modo, los niveles en dromedarios obtenidos por El-Magawry *et al.* (1988) y Hamliri *et al.* (1990), se considerarían deficientes, a pesar de que los autores especificaron que los animales eran aparentemente sanos. En otro sistema de clasificación, Maas *et al.* (1996) consideraron niveles marginales entre 15 y 25 UI/g Hb, y deficientes con menos de 15 UI/g Hb. en estos rangos de clasificación, los valores obtenidos por los autores citados estarán dentro de los niveles adecuados.

Según los rangos de referencia determinados en el presente estudio mediante el percentil 3 y para toda la población (Tabla 17), consideramos animales con actividades inadecuadas (marginales y deficientes) cuando presentan actividades inferiores a 51 UI/g Hb.

5.3.3. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN SEXO Y EDADES

Los resultados de la GSH-Px cuando consideramos a toda la población y según el sexo de los animales estudiados (Tabla 18) reflejaron unas diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.037$) con unos niveles superiores en las hembras (298.1 ± 158.1 UI/g Hb) que en los machos (272.6 ± 155.7 UI/g Hb). Esto puede ser debido a que de las 442 hembras estudiadas (Tabla 45) sólo 59 estaban gestantes y 64 lactantes, por lo que la gran mayoría de hembras (319) sólo presentaban unos requerimientos de selenio que podríamos considerar de mantenimiento o basales, requerimientos que podrían ser similares a los que presentan los machos e incluso inferiores.

Así, si comparamos (Tabla 48) a los machos en edades reproductivas (4-10 años) (133) con las hembras de la misma edad y no gestantes ni lactantes (99), (Tabla 49); podemos suponer que ambos grupos sólo presentan necesidades de mantenimiento o basales del mineral; sin embargo, los machos (274.2 ± 162.0 UI/g Hb) tienen unos niveles más bajos de GSH-Px que las hembras (348.8 ± 171.7 UI/g Hb), diferencias que fueron estadísticamente significativas ($p=0.005$). Estas diferencias pueden ser debidas a que los machos presentan unas necesidades metabólicas de selenio superiores a las hembras, como ya ha sido descrito por otros autores (García-Belenguer *et al.*, 1992; Edmonson *et al.*, 1993; Cappa, 1996; Sáez *et al.*, 1996-a). Sin embargo, cuando comparamos con hembras lactantes (248.6 ± 136.0 UI/g Hb) o gestantes (224.1 ± 124.1 UI/g Hb) (Tabla 45), observamos niveles inferiores a los obtenidos para machos (aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas), lo que refleja las mayores necesidades del mineral que se presentan en las hembras en estos estadios.

Actividades de la GSH-Px más elevadas en machos que en hembras han sido descritas en bovino por Chaiyabutr *et al.* (1983) y Campbell *et al.* (1990); de igual manera, estas diferencias fueron asociadas a los mayores requerimientos de selenio que tienen las hembras durante los períodos de lactación y, en mayor

medida, durante la gestación (Tabla 45). Estos hallazgos también coinciden con los descritos en bovino al principio de la lactación por Kleczkowski *et al.* (1996) y en ovino por Zachara *et al.* (1992) y López-Alonso *et al.* (1998).

Algunos autores han sugerido que la actividad de la GSH-Px va disminuyendo ligeramente con la edad (Atroshi *et al.*, 1981); sin embargo, el análisis de nuestros datos (Tabla 20) no refleja esta disminución y tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de edades (Tabla 21). No obstante, en las etapas de máximo crecimiento (0-6 meses), época en la que los requerimientos son mayores (García-Belenguer *et al.*, 1992; Edmonson *et al.*, 1993; Cappa, 1996; Sáez *et al.*, 1996-a) y sobretodo en los machos (Kleczkowski *et al.*, 1996), observamos (Tabla 23) niveles más bajos (202.2 ± 167.9 UI/g Hb) si los comparamos con las actividades en los adultos (272.3 ± 163.1 UI/g Hb).

En relación con los rangos de referencia según las edades (Tabla 22), debemos indicar la gran variabilidad individual que existe en las poblaciones (Sáez *et al.*, 1995) y que, por tanto, los resultados de las actividades de la GSH-Px van a depender del número de animales de cada grupo; así, los grupos con gran número de individuos tienen unos valores de corte inferiores a los grupos con escaso número de individuos.

En nuestro estudio sólo encontramos diferencias entre sexos estadísticamente significativas ($p=0.006$) cuando comparamos animales del grupo de edades 6-12 meses (226.6 ± 115.5 UI/g Hb en machos y 330.9 ± 130.6 UI/g Hb en hembras) (Tabla 23). La explicación de estos hallazgos refleja las mayores necesidades de selenio en las primeras etapas del crecimiento, que ocurre de manera más marcada en los machos. Estos mismos hallazgos fueron también observados en terneros por Kleczkowski *et al.* (1996).

En lo referente al estado reproductivo de los animales, Kleczkowski *et al.* (1996) encontraron niveles más bajos en vacas en las etapas tempranas de la lactación por las mayores pérdidas de selenio que ocurren al inicio de la producción láctea.

5.3.4. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN GRANJAS

Al comparar estadísticamente las 27 granjas del estudio (Tabla 29) se observó que la actividad de la GSH-Px presentaba exclusivamente diferencias significativas en relación con los tres tipos de alimentación básicos que hemos encontrado en todas las islas. Así, otros condicionantes derivados del manejo no parecen haber influido, probablemente debido a que este resulta similar en todas las granjas de la región.

5.3.5. RESULTADOS DE LA GSH-Px SEGÚN ALIMENTACIÓN

Cuando comparamos los resultados entre los tres sistemas de alimentación (A, B y C) (Tablas 26 y 27) aparecen unas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$), lo que refleja que la alimentación es el principal factor de variación que afecta a la actividad de la enzima.

Al comparar los valores de la actividad de la enzima entre sexos (Tabla 30), observamos que en los grupos de alimentación A (341.0 ± 160.0 UI/g Hb en machos y 339.2 ± 155.4 UI/g Hb en hembras) y B (244.8 ± 139.7 UI/g Hb en machos y 270.1 ± 147.8 UI/g Hb en hembras) no existen diferencias estadísticamente significativas; sin embargo, al observar el grupo C (154.1 ± 74.5 UI/g Hb en machos y 114.3 ± 41.4 UI/g Hb en hembras) estas diferencias sí fueron significativas ($p=0.021$). La alimentación del grupo C, la más básica de los tres tipos, parece aportar los requerimientos de mantenimiento de los animales.

Los niveles de GSH-Px observados en las hembras de este lote, los más bajos del estudio, podrían corresponder a las mayores demandas observadas durante la lactación o gestación. Más aún, si se comparan las hembras vacías (128.1 ± 34.1 UI/g Hb) con los machos (154.1 ± 74.5 UI/g Hb) del grupo de alimentación C, las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0.155$).

Al relacionar los resultados de la actividad de la enzima entre los animales jóvenes (0-2 años) (307.5 ± 160.2 UI/g Hb) y los adultos (4-10 años) (343.1 ± 155.3 UI/g Hb) en el grupo de alimentación más completa, tipo A (Tablas 33 y 34), observamos que no existen diferencias estadísticamente significativas. Esto podría ser debido a que los animales reciben aportes adecuados de selenio, con lo que, independientemente de las necesidades durante el crecimiento o en la época reproductiva, los niveles permanecen dentro de la normalidad.

Por otro lado, al observar las actividades de la enzima en el grupo de alimentación tipo B (Tablas 35 y 36), no observamos grandes diferencias entre los animales jóvenes en crecimiento (0-2 años) (273.2 ± 140.3 UI/g Hb) con los animales adultos (4-10 años) (257.6 ± 152.2 UI/g Hb); determinando que existe la variación normal que ya describieron Atroshi *et al.* (1981), de que cuanto mayor sea la edad de los animales menores serán las actividades sanguíneas de la GSH-Px. Sin embargo, si analizamos con mayor detenimiento los resultados (Tabla 35), observamos que de los 27 jóvenes que pertenecen al grupo de alimentación B y con edades entre 6 y 12 meses (los que provocan la mayor variación debido a su crecimiento exponencial) sólo 6 son machos (206.8 ± 86.2 UI/g Hb) y el resto, 21, son hembras (315.1 ± 117.3 UI/g Hb). Esta alta proporción de hembras puede provocar errores de interpretación, ya que con dietas adecuadas no deberían observarse diferencias entre jóvenes y adultos, como ya hemos observado en el sistema de alimentación A, pues la actividad de la GSH-Px, considerando sólo como factor de variación a la edad, no se ve afectada por los mayores requerimientos que se producen durante el crecimiento para el grupo de animales

jóvenes (pues disminuye la actividad en los machos) o en la época reproductiva en el grupo de animales adultos (pues disminuye la actividad en las hembras).

Al estudiar el grupo de alimentación C (Tabla 37), debemos considerar que el grupo de animales es muy reducido (60) y el estudio estadístico está limitado. Sin embargo, podemos observar que en los machos (Tabla 44), la variación con respecto a la edad es la misma que describieron Atroshi *et al.* (1981), con actividades que van disminuyendo conforme avanza la edad del individuo.

Al comparar la variación de la actividad de la enzima GSH-Px entre sexos y en cada grupo de edades dentro del grupo de alimentación A (Tabla 38), no se han encontrado diferencias significativas, esto puede ser debido a que el aporte del mineral es adecuado y no aparecen necesidades superiores a las aportadas en la dieta. Sí encontramos diferencias, pero que fueron estadísticamente casi significativas ($p= 0.067$), entre el grupo de edades 2-4 años, siendo la explicación más probable que el número de machos comparado con el de hembras es diferente (11 frente a 26). Entre los grupos de máximo crecimiento, 0-6 meses y 6-12 meses existieron grandes diferencias dentro de los machos (265.7 ± 172 UI/g Hb y 352.2 ± 185.4 UI/g Hb, respectivamente) y dentro de las hembras (352.2 ± 185.4 UI/g Hb y 497.0 ± 199.4 UI/g Hb, respectivamente), pero dado que el número de animales de cada grupo fue pequeño; en los machos 8 y 4, respectivamente; y en las hembras 7 y 2, respectivamente; estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas (Tablas 39 y 40).

Con respecto al grupo de alimentación B (Tabla 41), hemos observado diferencias entre machos (206.8 ± 86.8 UI/g Hb) y hembras (315.1 ± 117.3 UI/g Hb) que fueron estadísticamente significativas ($p= 0.047$) en el grupo de animales jóvenes (6-12 meses), precisamente cuando los requerimientos durante el crecimiento son mayores en machos que en hembras y la cantidad de selenio presente en la dieta puede no ser suficiente para cubrir las demandas que se producen en este periodo. Por otro lado, en el grupo de animales entre 4-10 años,

cuando comparamos las actividades de la enzima entre machos (240.9 ± 143.9 UI/g Hb) y hembras (268.1 ± 156.9 UI/g Hb) no existen diferencias estadísticamente significativas ($p=0.251$). Sin embargo, en el mismo grupo de edad, si consideramos las actividades de la enzima en las hembras gestantes (198.1 ± 107.8 UI/g Hb) son inferiores a las obtenidas en los machos (240.9 ± 143.9 UI/g Hb).

En lo referente al grupo de alimentación C (Tabla 44), el número de animales que lo componen no es suficiente para realizar un tratamiento estadístico de los datos, aunque sí observamos diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras, como ya se detalló anteriormente, diferencias que aparecen con mayor claridad entre los machos (136.8 ± 57.9 UI/g Hb) y las hembras (104.6 ± 47.1 UI/g Hb) aunque no significativas ($p=0.113$) en el grupo de animales entre 4 y 10 años y que son debidas posiblemente a las mayores demandas del mineral en las épocas de gestación y lactación, cuando tiene lugar la actividad reproductiva en esta especie. Sin embargo, cuando comparamos sólo con las hembras vacías (8 de las 13), esas diferencias entre los machos (136.8 ± 57.9 UI/g Hb) y las hembras (131.0 ± 31.1 UI/g Hb) desaparecen ($p=0.539$).

5.4. RESULTADOS DE LA CORRELACIÓN DEL SELENIO SÉRICO CON LA ACTIVIDAD DE LA GSH-Px

La correlación entre el selenio sanguíneo y la actividad de la enzima GSH-Px eritrocitaria ha sido determinada para toda las especies domésticas, observándose un alto grado de correlación y pudiéndose utilizar, como así figura ampliamente en la literatura, la GSH-Px para estudiar poblaciones dada la mayor sencillez de la técnica y su menor carestía (Andrés *et al.*, 1996; Maas *et al.*, 1996; Sáez *et al.*, 1996-c).

Para el ganado camellar, esta correlación fue demostrada por El Magawry *et al.* (1988) y por Hamliri *et al.* (1990-b) obteniendo ambos autores una correlación similar ($r=0.935$, $p < 0.001$).

En nuestro estudio hemos determinado selenio sérico en 42 animales para determinar la curva de correlación ente la GSH-Px y selenio sérico. Los resultados obtenidos ($r=0.88$, $p<0.001$) parecen indicar que, al igual que ocurre en otras especies y que ya fue demostrado por Maas *et al.* (1993), el selenio sérico en el dromedario tampoco parece ser el mejor indicador del status de selenio debido a los posibles efectos de la hemólisis en la interpretación colorimétrica. Sin embargo, el selenio sérico también puede ser utilizado de forma aproximativa como así han descrito algunos autores al estudiar la EMB (Thompson *et al.*, 1991; Žust *et al.*, 1996).

5.5. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA

La respuesta inflamatoria de tipo aguda-subaguda (48-72 horas) producida tras la administración de fitohemaglutinina por vía intradérmica ha sido descrita por muchos autores y se utiliza como método sencillo para medir la inmunidad de tipo celular. En el presente estudio hemos observado la mayor respuesta a las 12-24 horas postinoculación (Gráficos 39, 40 y 41), comenzando luego a disminuir el grosor de la zona inoculada hasta las 48 horas postinoculación, momento en el cual se tomaron las biopsias de la zona. Estos mismos resultados han sido observados en porcino (Raszyk y Pillich, 1990; Raszyk, 1992; Heugton *et al.*, 1994; Whyte *et al.*, 1994), en perros (Reddy y Rao, 1992) y en aves (Parmentier *et al.*, 1998; Singh y Mohanty, 1998).

Ekkel *et al.* (1995) postularon que una alteración de la función inmune podría expresarse como un retraso en la reacción y una menor elevación en la

curva de progresión del grosor de la zona inoculada. En nuestro estudio, al comparar entre grupos el grosor máximo del punto de inoculación (Tabla 65) observamos que los animales del grupo suplementado con selenio presentaron un grosor superior al grupo suplementado con vitamina E y éste superior al grupo control; sin embargo, el análisis estadístico de los datos no determina como significativa esta variación (diferencias máximas entre grupo Se y grupo C a un $p=0.127$)

Para valorar la reacción inflamatoria se procedió a calibrar el grosor de la piel en el punto de inoculación en comparación con la piel sana del mismo animal, descartando así posibles errores individuales e incluso de sexo, ya que los machos presentan una piel más gruesa que las hembras 0.82 ± 0.21 cm y 0.70 ± 0.14 cm, respectivamente (diferencias casi significativas a $p=0.074$). Al observar los resultados de la determinación del grosor de la piel (valor máximo de respuesta) mediante el calibrador (Tabla 64); no hemos observado variaciones de la respuesta inflamatoria debidas al sexo de los animales estudiados (0.86 ± 0.21 cm y 0.78 ± 0.17 cm, en machos y hembras, respectivamente).

En cuanto a la medición de la actividad de la GSH-Px en estos grupos después del tratamiento (Tabla 59); también existe una correlación entre la pertenencia al grupo de animales medicados con selenio y las mayores actividades de la enzima por otro lado, los animales medicados con vitamina E muestran valores intermedios y los menores los del grupo control, aunque estas variaciones no resultaron estadísticamente significativas (diferencias entre grupo Se y grupo C a $p=0.186$).

5.6. RESULTADOS DE LA HISTOPATOLOGÍA

A nivel histológico, en el estudio de las biopsias (Tabla 67) se observó un infiltrado abundante de polimorfonucleares neutrófilos, una presencia moderada

de polimorfonucleares eosinófilos y presencia moderada de macrófagos y linfocitos. Los mismos hallazgos fueron descritos en porcino por Whyte *et al.* (1994), en codornices por Singh y Mohanty (1998) y en pollos por Parmentier *et al.* (1998)

Así mismo, en el grupo de animales suplementados con selenio se observó, en 8 de las 10 muestras, úlceras epidérmicas que afectaban a toda la piel desde el estrato basal. También se observó en el infiltrado celular una mayor presencia de linfocitos en los grupos de animales suplementados con selenio y vitamina E comparado con el grupo control. Por tanto, en estos dos grupos la respuesta inflamatoria puede ser considerada de carácter más marcado si la comparamos con el grupo control; así mismo, al observar las úlceras epidérmicas en el grupo suplementados con selenio y comparado con los otros dos grupos, esta reacción podría deberse a una mayor respuesta inflamatoria en estos animales. Estos hallazgos también fueron observados en bóvidos por Sato (1998) donde concluyó que la administración de vitamina E y selenio estimula la respuesta mitogénica de la fitohemaglutinina. Por otro lado, Singh, y Mohanty (1998), realizaron un estudio similar en codornices, destacaron que en las primeras horas aparecía un infiltrado de heterófilos, monocitos y basófilos; sin embargo, a las 24-48 horas el infiltrado estaba constituido principalmente por linfocitos, que más tarde desarrollaron agregados linfoides.

La presencia de edema local que aparece en algunas de las muestras es característico de los agentes sensibilizantes como la fitohemaglutinina y aparece clásicamente a las 4 horas de la administración; sin embargo, a las 24 horas es cuando aparece el fenómeno inflamatorio típico de una hipersensibilidad de tipo retardado, que se caracteriza por la presencia de diversas poblaciones celulares, aunque son los linfocitos T los que predominan mediados por la quimiotaxis que les produce la fitohemaglutinina (Parmentier *et al.*, 1998).

Todos estos resultados evidencian una mayor respuesta inmunológica de tipo celular en los animales tratados con selenio o vitaminas E comparado con los animales no tratados. Este hecho justificaría la suplementación de selenio al menos en aquellas granjas con actividad de la glutatión peroxidasa baja, de cara a la prevención de enfermedades infecciosas o parasitarias en los animales.

CONCLUSIONES

PRIMERA.- La actividad media de la GSH-Px en el dromedario es de 288.5 ± 157.5 UI/g Hb. El límite por debajo del cual se consideran actividades de la enzima marginales o deficientes es de 51 UI/g Hb,

SEGUNDA.- La actividad de la GSH-Px mostró diferencias estadísticamente significativas en función de la alimentación de los dromedarios. Los dromedarios tienen una mayor susceptibilidad al padecimiento de enfermedad del músculo blanco en la época de mayores requerimientos de selenio (crecimiento, gestación y lactación), cuando la alimentación es del tipo C.

TERCERA.- La actividad de la GSH-Px fue mayor en las hembras con necesidades de mantenimiento, menor en los machos e inferior aún (con significación estadística) en las hembras lactantes o gestantes. Asimismo, durante el crecimiento la actividad de la enzima fue menor en los machos que en las hembras.

CUARTA.- La actividad de la GSH-Px no parece depender de la edad de los animales cuando el aporte de selenio en la dieta es adecuado, con excepción de la época de mayores requerimientos nutricionales. Cuando el aporte de selenio es inadecuado, los valores de la GSH-Px son inversamente proporcionales a la edad de los dromedarios.

QUINTA.- El coeficiente de correlación entre la concentración de selenio en suero y la actividad sanguínea de la GSH-Px fue de 0.88, y con una significación $p < 0.001$.

SEXTA.- En los animales tratados con selenio o vitamina E parece evidenciarse una mayor respuesta inmunológica de tipo celular cuando son comparados con los animales no tratados.

RESUMEN

En la presente Tesis Doctoral se ha realizado un estudio epidemiológico de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) en 709 animales, lo que supone el 64% de toda la población de dromedarios (*Camelus dromedarius*) del archipiélago canario. Todos los animales eran sanos y pertenecían a granjas con manejo de tipo intensivo. Los resultados muestran unas actividades medias de la GSH-Px de 288.5 ± 157.5 UI/g Hb. Además se determinaron los valores de la enzima con respecto a las diferentes variables (tipo de dieta, edad, sexo y estado reproductivo).

También, se determinó la correlación entre las actividades sanguíneas de la GSH-Px, enzima clásica que refleja los niveles de selenio, y la concentración de selenio en suero; observándose una correlación estadísticamente significativa ($r=0.88$; $N=42$ y $p<0.001$); así mismo, se determinó la recta de regresión para estas dos variables ($y = 2.5101x + 42.423$).

Por último y debido a la relación entre la deficiencia de selenio y la alteración de la función del sistema inmune, se comparó la respuesta inmunológica de tipo celular *in vivo*, mediante la prueba de hipersensibilidad retardada utilizando fitohemaglutinina como mitógeno. Para ello se utilizaron 30 animales sanos, divididos en tres grupos: 10 animales suplementados con selenio, 10 con vitamina E y otros 10 se utilizaron como grupo control. También se estudió la reacción tisular mediante estudio histopatológico de biopsias de la zona inoculada. Se observa una mayor respuesta inflamatoria en el grupo de animales tratados con selenio y vitamina E comparado con el grupo control.

9

SUMMARY

709 healthy dromedary camels (*Camelus dromedarius*) were included in the study, which represent 64% of total population. All animals were from the Canary Islands and were maintained on intensive management. The mean glutathione peroxidase (GSH-Px) activity obtained in the population was 288.5 ± 157.5 U/g Hb; also the influence of diet, age, sex, lactation and pregnancy were studied.

The correlation between GSH-Px and serum selenium was determined ($r = 0.88$; $N=42$ and $P<0.001$). The regression equation obtained was $y = 2.5101x + 42.423$.

Due to the influence of selenium deficiency on immune system function, an intradermal hypersensitivity, also called skin test reaction, was carried out. For this purpose, phytohaemagglutinin was injected intradermally in three different groups, one was supplemented with selenium, other supplemented with vitamin E and other was used as control. 48 hours later, skin biopsies were studied. The highest skin test reaction was observed in the selenium and vitamin E supplemented group.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi agradecimiento a los amigos que me han ayudado a terminar este trabajo:

A Carlos, por su dedicación incansable, por su constante guía en el sendero de la ciencia e investigación y por que sin él este trabajo no tiene sentido.

A Alberto, por su positivismo y energía que nos impulsa a conseguir todo lo que deseemos.

A Manolo, por ser como es y por soportarme a su lado.

A mis compañeros de la UMIIV Cande, Inmaculada, M^a Carmen, Oti, Paco y Tania, que están conmigo en las alegrías y en las penas, por su compañerismo y amistad. A Pino y Mayte por ayudarme en lo imposible.

A José Luis Rodríguez y Paco Rodríguez sin los que no hubiera podido completar el estudio histopatológico.

A los compañeros veterinarios de las otras islas Paco Fabelo, Manolo Padrón y Ursula Schulz, sin los que no hubiéramos completado el estudio en sus islas.

A todos los ganaderos y camelleros que nos echaron una mano en la sujeción de los animales, y en especial a Paco Jiménez ya que sin su apoyo incondicional no podríamos estudiar esta especie.

A mis alumnos, que me ayudaron en la realización de este trabajo y me estimulan al continuo estudio.

ICONOGRAFÍA

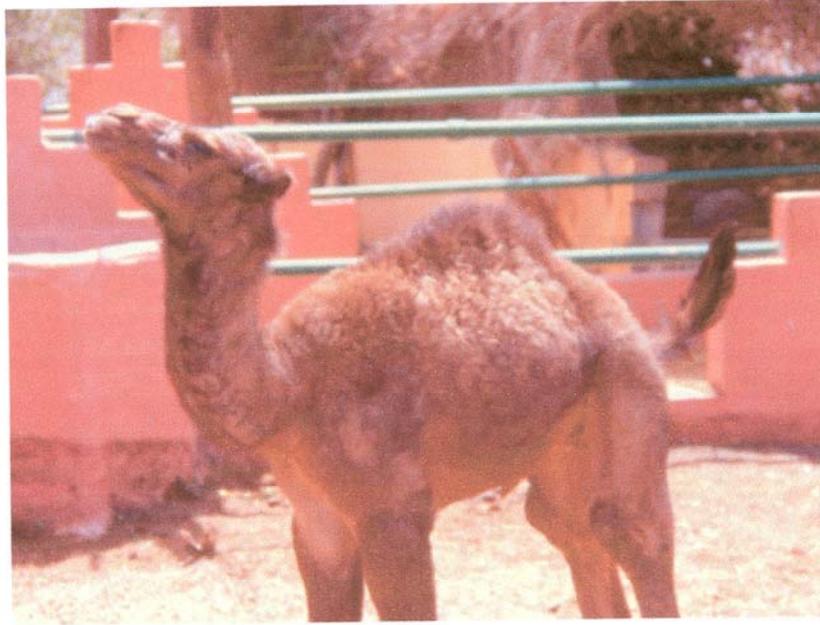


Fig 1 Forma musculoesquelética en un dromedario joven que presentó incoordinación, opistotonos y elevación de la cola. Este cuadro clínico fue característico en un brote de la enfermedad que ocurrió en una de las granjas durante la realización del presente estudio.

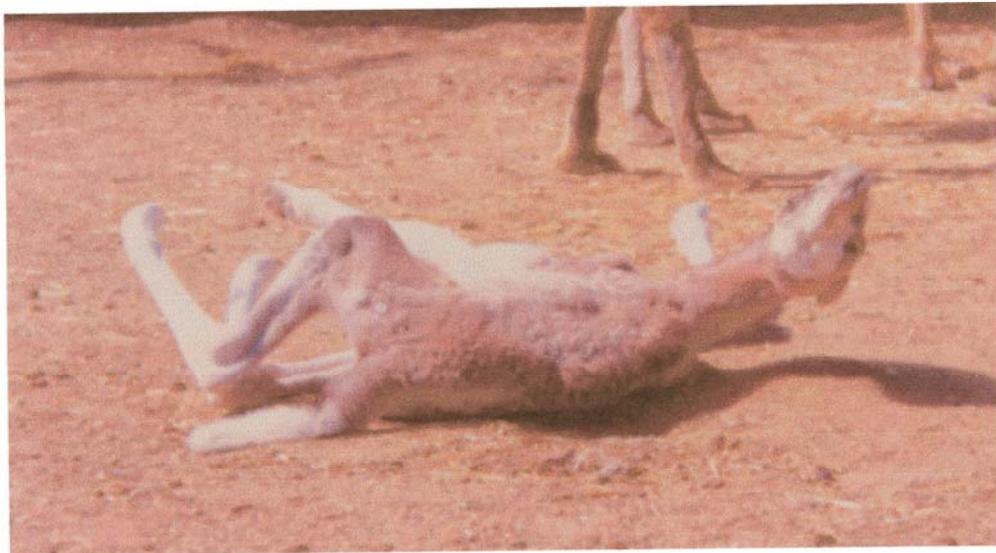


Fig 2. Forma cardíaca en un dromedario joven que presentó signos previos de insuficiencia cardíaca aguda. La imagen muestra los intentos infructuosos del paciente por incorporarse, muriendo poco tiempo después a pesar del tratamiento instaurado (selenito sódico y vitamina E).

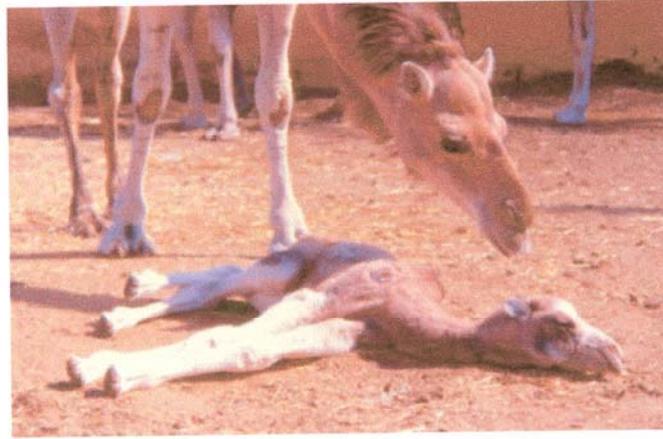


Figura 3. Muerte súbita en un dromedario muy joven (2 semanas de edad) perteneciente al mismo brote estudiado.



Figura 4. Banda de degeneración miocárdica en ventrículo derecho de un animal joven que presentó un proceso subagudo de la enfermedad

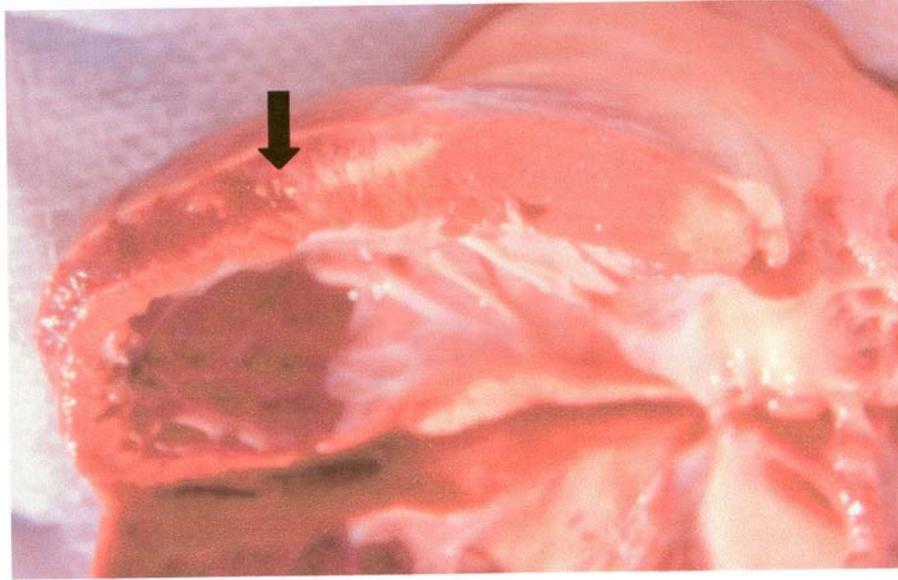


Figura 5. Areas de degeneración miocárdica en distintas fases evolutivas en ventrículo izquierdo y focos de calcificación distrófica (flecha).

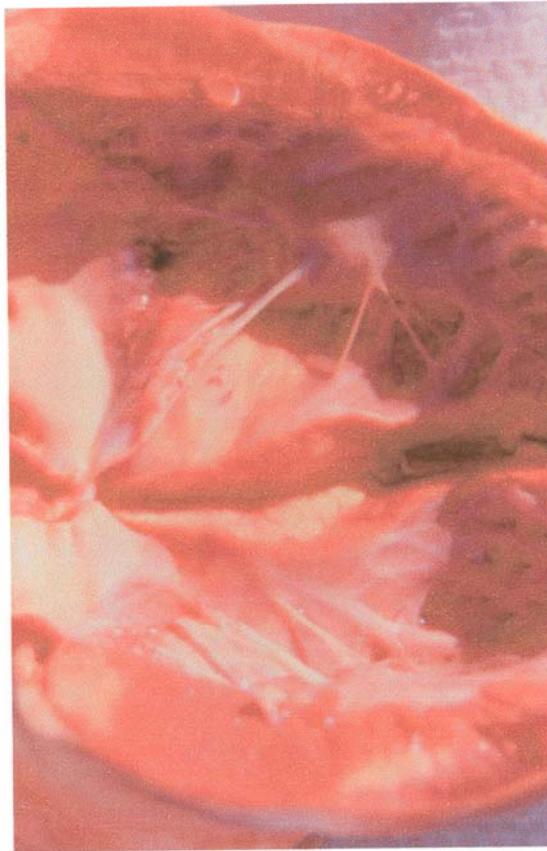


Figura 6. Area extensa de degeneración miocárdica que afecta al septo interventricular, en el mismo corazón de la figura 4 y 5.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adams, R.; Garry, F.B.; Aldridge, B.M.; Holland, M.D.; Odde, K.G. (1992). Hematological values in newborn beef calves. *Am J Vet Res*, 53, 944-950.
2. Albina, E.; Piriou, L.; Hutet, E.; Cariolet, R.; L'Hospitalier, R. (1998). Immune responses in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet Immunol Immunopathol*, 61, 49-66.
3. Ali-Vehmas, T.; Vikerpuur, M.; Fang, W.; Sandholm, M. (1997). Giving selenium supplements to dairy cows strengthens the inflammatory response to intramammary infection and induces a growth-suppressing effect on mastitis pathogens in whey. *J Vet Med (A)*, 44, 559-571.
4. Allan, C.L.; Hemingway, R.G.; Parkins, J.J. (1993). Improved reproductive performance in cattle dosed with trace element/vitamin boluses. *Vet Rec*, 132, 463-464.
5. Al-Qudah, K.; Wass, W.; Niyo, Y.; Kluge, J. (1994). Selenium responsive dermatosis in cattle. *Iowa State Univer Vet*, 56, 77-79.
6. Andrés, S.; Mañé, M.C.; Sánchez, J.; Barrera, R.; Jiménez, A. (1996). Changes in GSH-Px and muscle enzyme activities in lambs with nutritional myodegeneration following a single treatment with sodium selenite. *Small Rum Res* 23, 183-138.
7. Andrés, S.; Jiménez, A.; Mañé, M.C.; Sánchez, J.; Barrera, R. (1997-a). Relationships between some soil parameters and the blood glutathione peroxidase activity of grazing sheep. *Vet Rec*, 141, 267-268.
8. Andrés, S.; Jiménez, A.; Mañé, M.C.; Sánchez, J.; Barrera, R.; Zaragoza, C.; Benito, M. (1997-b). Valores de referência da actividade sanguínea do

glutatiõn peroxidase (GSH-Px) em ovinos creados em regime extensivos na área de Dehesa. *Veterinria Tcnica*, Fev., 24-26.

9. Andrés, S.; Man, M.C.; Sánchez, J.; Barrera, R.; Zaragoza, C.; Jiménez, A. (1997-c). Response to barium selenate supplementation in sheep kept at pasture in the Mediterranean Area. *Vet Res*, 28, 539-545.
10. Atroshi, F.; Sankari, S.; Osterberg, S.; Sandholm, M. (1981). Variation of erythrocyte glutathione peroxidase activity in Finn sheep. *Res Vet Sci*, 31, 267-271.
11. Altuncul, V. (1997) A study of the blood parameters of dogs in relations breed and sex. *Veteriner Fakultesi Dergisi Istambul*, 23, 43-48.
12. Awad, Y.L.; Berschneider, F. (1977). Selenium content of internal organs of the camel (*Camelus dromedarius*). *Egyptian J Vet Sci*, 14, 71-75.
13. Aziz, C.S.; Klesius, P.H.; Frandsen, J.C. (1984). Effect of selenium on polymorphonuclear leukocyte function in goats. *Am J Vet Res*, 45, 1715-1718.
14. Aziz, C.S.; Klesius, P.H. (1985). The effect of selenium deficiency in goats on lymphocyte production of leukocyte migration inhibition factor. *Vet Immunol Immunopathol*, 10, 381-390.
15. Aziz, C.S.; Klesius, P.H. (1986). Depressed neutrophil chemotactic stimuli in supernatants of ionophore-treated polymorphonuclear inhibition factor. *Am J Vet Res*, 47, 148-151.



16. Behne, D.; Weiler, H.; Kyriakopoulos, A. (1996). Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats. *J Reprod Fertil*, 106, 291-297.
17. Berrett, S. y Hebert, C.N. (1979). A semi-quantitative spot test for glutathione peroxidase in blood of cattle and sheep for the assessment of biological selenium status. *Vet Rec*, 105, 145-146.
18. Berry, M.J.; Banu, L.; Larsen, P.R. (1991). Type 1 iodothyronine deiodinase is a selenocysteine-containing enzyme. *Nature*, 349, 438-440.
19. Bertuzzi, S.; Manfreda, G.; Franchini, A. (1998). Influenza di zinco inorganico e vitamina E dietetici sulla risposta immunitaria del pollo da carne. *Selezione Vet*, 8-9, 627-636.
20. Binnerts, W.T.; Das, H.A.; Viets, T.C. (1993). Liver selenium analysis in cows with a fast method of neutron activation reveals deficiency areas in the Netherlands. *Netherlands J Agr Sci*, 41, 47-57.
21. Biondo, A.W.; Anjos-Lopes, S.T.; Kohayagawa, A.; Takahira, R.K.; Alencar, N.X. (1998). Haemogram of healthy Nelore calves (*Bos indicus*), raised in Sao Paulo state, Brazil, during the first month of life. *Ciencia rural*, 28, 251-256.
22. Bostedt, H.; Schramel, P. (1990). The importance of selenium in the prenatal and postnatal development of calves and lambs. *Biol Trace Elem Res*, 24, 163-171.
23. Boulos, L.M.; Hegazy, I.H.; Abou-Seif, M.; Abdel, H.; Kader, M. (1993). Modulation of host response during infection with *Trichinella*

- pseudospiralis* using immuno-stimulant drug. *J Egyptian Soc Parasitol*, 23, 1-8.
24. Braun, U.; Forrer, R.; Fürer, W.; Lutz, H. (1991). Selenium and vitamin E in blood sera of cows from farms with increased incidence of disease. *Vet Rec*, 128, 543-547.
 25. Brown-Borg, H.M.; Edens, F.W.; Grant, P.M. (1991). Catecholamine and endotoxin influenced cutaneous basophil hypersensitivity in chickens. *Comp Biochem Physiol C Comp Pharmacol Tox*, 99, 541-545.
 26. Buddle, B.M.; Herceg, M.; Ralston, M.J.; Pulford, H.D.; Millar, K.R.; Elliot, D.C. (1987). A goat mortality study in the southern North Island. *New Zeal Vet J*, 36, 167-170.
 27. Calvert, C.C.; Nesheim, M.C.; Scott, M.L. (1962). Effectiveness of selenium in prevention of nutritional muscular dystrophy in the chick. *Proc Soc Exp Biol Med*, 109, 16-18.
 28. Campbell, D.T.; Maas, J.; Weber, D.W.; Hedstrom, O.R.; Norman, B.B. (1990). Safety and efficacy of two sustained-release intrarecticular selenium supplements and the associated placental and calostrical transfer of selenium in beef cattle. *Am J Vet Res*, 51, 813-817.
 29. Cao, Y.; Maddox, J.F.; Mastro, A.M.; Scholz, R.W.; Hildenbrandt, G.; Reddy, C. (1992). Selenium deficiency alters the lipoxigenase pathway and mitogenic response in bovine lymphocytes. *Am Instit Nutr*, July, 2121-2127.
 30. Capaul, E.G.; Carcagno, A.R.; Gullace, F.A.; Natiello, C.A.; Santamaría, P.E.; De Bernardi, A.M. (1992). Variación de enzimas musculares en

plasma de bovinos carenciados, luego de la administración de selenio. *Vet Agr*, 86, 391-393.

31. Cappa, V. (1996). Importancia y papel del selenio en la alimentación de los bovinos. *Vet Praxis*, 11, 15-20.
32. Caple, I.W.; Azuolas, J.K.; Nugent, G.F. (1985). Assessment of iodine status and thyroid function of sheep and goats kept under pastoral conditions. En *Trace Elements in Man and Animal. Tema 5*. Ed. Mills, Bremner y Chesters. Slough United Kingdom. pp. 609-613.
33. Ceballos, A.; Wittwer, F.; Contreras, P.A.; Bohmwald, H. (1998). Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año. *Arch Med Vet*, 30, 13-22.
34. Chaiyabutr, N.; Loypetjra, P.; Pichaicarnarong, A. (1983). Survey of selenium status of buffaloes and cattle in northeastern Thailand. *Thai J Vet Med*, 13, 92-103.
35. Cho, J.H.; Park, S.Y. (1998). Scavenging of superoxide and hydrogen peroxide by bovine intact red blood cells. *Korean J Vet Res*, 38, 273-279.
36. Chu, Q.L.; Wu, W.D.; Smalley, E.B. (1993). Decreased cell mediated immunity and lack of skeletal problems in broiler chickens consuming diets amended with fusaric acid. *Avian dis*, 93, 863-867.
37. Coe, P.H.; Maas, J.; Reynolds, J.; Gardner, I. (1993). Randomized field trial to determine the effects of oral selenium supplementation on milk production and reproductive performance of Holstein heifers. *J Am Vet Med Assoc*, 202, 875-881.

38. Das, K.C.; Ghosh, N.; Sarkar, S.; Duttagupta, R. (1992). A study on hematological status during pre and post weaning stage in Black Bengal kinds (*Capra hircus*). *Indian J Vet Med*, 12, 83-84.
39. Deutsch, M.J. (1990). Vitamins and others nutrients. Official Method of Analysis Association of Official Analytical Chemists, INC. 15ª Edición. Arlington. Virginia. EEUU, pp. 1045-1106.
40. Dickerson, B.; McKnight, A.; Middleton, J.; Tyler, J.W.; Bagley, R.; Valdez, R. (1997). Electromyographic evaluation of a calf with white muscle disease. *Vet Rec*, 140, 431-432.
41. Dodd, D.C.; Blakely, A.A.; Thornbury, R.S.; Dewes, H.F. (1960). Muscle degeneration and yellow fat disease in foals. *New Zeal Vet J*, 8, 45-50.
42. Donald, G.E.; Langlands, J.P.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. (1993). Subclinical selenium insufficiency 4. Effects of selenium, iodine, and thiocyanate supplementation of grazing ewes on their selenium and iodine status, and on the status and growth of their lambs. *Aust J Exp Agr*, 33, 411-416.
43. Donald, G.E.; Langlands, J.P.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. (1994-a). Subclinical selenium insufficiency 5. Selenium status and the growth and wool production of sheep supplemented with thyroid hormones. *Aust J Exp Agr*, 34, 13-18.
44. Donald, G.E.; Langlands, J.P.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. (1994-b). Subclinical selenium insufficiency 6. Thermoregulatory ability of perinatal lambs born to ewes supplemented with selenium and iodine. *Aust J Exp Agr*, 34, 19-24.

45. Dotta, U.; Cagnasso, A.; Abate, O.; Guglielmino, R.; Prato, S.; Calombati-Valle, V.; Gazzola, A. (1988). Studio dell'azione del selenio di sodio e del selenito di coclina sul livello di glutatione perossidasi (GSH-Px) eritrocitaria in bovini carenti di selenio. *Schwiez Arch Tierheilk*, 130, 55-66.
46. Donoghue, S.; Kronfeld, D.S. (1990). Clinical Nutrition of sheep and goats. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract*, 6, 563-576.
47. El-Azab, M.A.; Badr, A.; Shawki, G.; Abd El-Meged, S.S. (1993). Some microelements profile in cyclic non-breeding cow syndrome (repeat breeder). *Assiut Vet Med J*, 29, 245-253.
48. Edmondson, A.J.; Norman, B.B.; Suther, D. (1993). Survey of state veterinarians and state veterinary diagnostic laboratories for selenium deficiency and toxicosis in animals. *J Am Vet Med Assoc*, 202, 865-872.
49. Eggert, R.G.; Patterson, E.; Akers, W.T.; Stokstad, E.L.R. (1957). The role of vitamin E and selenium in the nutrition of the pig. *J Anim Sci*, 16, 1037-1041.
50. Ekkel, E.D.; Kuypers, A.H.; Counotte, G.H.M.; Tielen, M.J.M. (1995). The phytohaemagglutinin (PHA) skin test as an indicator of stress-induced changes in immune reactivity in pigs. *Vet Quart*, 17, 143-146.
51. Ekkel, E.D.; Savenije, B.; Schouten, W.G.P.; Tielen, M.J.M. (1996). Health, welfare, and productivity of pigs housed under specific stress free conditions in comparison with two site systems. *J Anim Sci*, 74, 2081-2087.
52. El-Magawry, S.M.; Ibrahim, I.A.; Dowidar, M.F.; Yousif, M.A. (1988). Glutathione peroxidase activity in camel erythrocytes (*Camelus*

- dromedarius*) in relation to blood selenium concentration. *Assiut Vet Med J*, 20, 21-24.
53. Erskine, R.J.; Eberhart, R.J.; Grasso, P.J.; Scholz, R.W. (1989). Selenium and mammary resistance to infectious disease. *Bov Proceed*, 21, 119-121.
 54. Erskine, R.J.; Eberhart, R.J.; Scholz, R.W. (1990). Experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis in selenium-deficient and selenium-supplemented dairy cows. *Am J Vet Res*, 51, 1107-1111.
 55. Finch, J.M.; Turner, R.J. (1996). Effects of selenium and vitamin E on the immune response of domestic animals. *Res Vet Sci*, 60, 97-106.
 56. Fivaz, B.H.; Hobson, C.; Wellington, A.C.; Williams, E.J. (1993). Influence of selenium supplementation on helminth burdens of marginally deficient suckling Angora goat kids. *Small Rum Res*, 10, 75-79.
 57. Flodin, N.W. (1988). Pharmacology of micronutrientes. Currents topics in Nutrition and disease. New York. A.E. Liss Inc. Vol. 20, pp 269-284
 58. Furuta, T.; Nogami, S.; Kojima, S.; Fujita, M.; Kamata, H.; Kuwabara, M.; Ohba, S.; Yoshida, H. (1994). Spontaneous *Pneumocystis carinii* infection in the dog with naturally acquired generalized demodicosis. *Vet Rec*, 134, 423-424.
 59. García-Belenguer, S.; Gascón, M.; Purroy, A.; Aceña, C. (1992). Distrofia muscular nutricional por deficiencia de selenio y/o vitamina E en rumiantes. *Med Vet*, 9, 84-93.
 60. Georgievskii, V.I.; Annenkov, B.N.; Samokhin, V.T. (1982). Mineral nutrition of animals. Ed. Butterworths, Essex - Great Britain, pp. 11-56.

61. Gill, H.S.; Colditz, I.G.; Watson, D.L. (1995). Immune responsiveness of lambs selected for resistance to haemonchosis. *Res Vet Sci*, 54, 361-365.
62. Gomez, J.; Fernández, A.; Ramos, J.J.; Marca, M.C. (1990). Valores de referencia en perros sanos con un sistema de espectrofotometría con tiras reactivas. IV. Hemoglobina. *Med Vet*, 7, 483-501.
63. González-Vega, D.; Cisneros, I.; Vega, M.A.; Morilla, A. (1993) Perfil inmunológico de los cerdos durante los primeras diez semanas de edad. *Vet México*, 24, 217-221.
64. Grace, N.D.; Clark, R.G. (1991). Trace element requirement diagnosis and prevention of deficiencies in sheep and cattle. En: *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants: Proceeding of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology*. Academic Press, Inc., pp 321-346.
65. Grace, N.D.; Venning, M.; Vincent, G. (1994). An evaluation of a controlled release system for selenium in lambs. *New Zeal Vet J*, 42, 63-65.
66. Grassman, K.A.; Scanlon, P.F. (1995). Effects of acute lead ingestion and diet on antibody and T-cell mediated immunity in Japanese quail. *Arch Environ Contamin Toxicol*, 28, 161-167.
67. Grasso, P.J.; Scholz R.W.; Erskine, R.J.; Eberhart, R.J. (1990). Phagocytosis, bactericidal activity, and oxidative metabolism of milk neutrophils from dairy cows fed selenium-supplemented and selenium-deficient diets. *Am J Vet Res*, 51, 269-274.

68. Green, L.E.; Hovers, K.; French, N.P.; Jore, S.; Taylor, S.; Morgan, K.L (1995). Subcapsular liver rupture in young lambs associated with vitamin E deficiency. *Vet Rec*, 136, 197-198.
69. Gründer, von H.D.; Auer, S. (1995). Selenversorgung in hessischen Rinderbeständen und Möglichkeiten der Prophylaxe. *Tierärztl Umschau*, 50, 250-255.
70. Gutiérrez, C., Orós, J., Ramos, J.J., Muñoz, M.C. (1994). .Estudio de los niveles de selenio en cabras en Gran Canaria. *XIX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (S.E.O.C.)*, Burgos. 22 - 24 de Septiembre.
71. Gutzwiller, A. (1998). Erythrocyte resistance to oxidative damage and leucocyte capacity to reduce nitroblue tetrazolium in selenium-deficient cattle. *J Vet Med (A)*, 45, 271-278.
72. Hamliri, A.; Olson, W.G.; Johnson, D.W.; Kessabi, M. (1990-a). Evaluation of biochemical evidence of congenital nutritional myopathy in two-week prepartum fetuses from selenium-deficient ewes. *Am J Vet Res*, 51, 1112-1115.
73. Hamliri, A.; Khallaayoune, K.; Johnson, D.W.; Kessabi, M. (1990-b). The relationship between the concentration of selenium in the blood and the activity of glutathione peroxidase in the erythrocytes of the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *Vet Res Commun*, 14, 27-30.
74. Hamliri, A.; Johnson, D.W.; Kessabi, M.; Olson, W.G. (1990-c). The evaluation of selenium status of sheep from the major production areas of Morocco. *Ann Rech Vét*, 21, 137-142.

75. Hamliri, A.; Kessabi, M.; Johnson, D.W.; Olson, W.G. (1993). Prevention of nutritional myopathy in sheep grazing selenium-deficient pastures. *Small Rum Res*, 10, 13-23.
76. Hamliri, A.; Kessabi, M.; Sommer, H.; Braun, J.P. (1995). Control of nutritional myopathy in grazing sheep by means of salt blocks containing selenium. *Int J Anim Sci*, 10, 217-220.
77. Hartley, W.J.; Grant, A.B. (1961). A review of selenium responsive diseases of New Zealand livestock. *Fed Proc*, 20, 679-688.
78. Heugten, E.; Spears, J.W.; Coffey, M.T.; Kegley, E.B.; Qureshi, M.A. (1994) The effect of methionine and aflatoxin on immune function in weanling pigs. *J Anim Sci*, 72, 658-664.
79. Higgins, A. (1986). The camel in health and disease. Bailliere Tindall. London, pp. 21-40.
80. Hogan, J.S.; Weiss, W.P.; Smith, K.L. (1993). Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. *J Dairy Sci*, 76, 2795-2803.
81. Holmes, J.H.G. (1992). Trace element deficiency in sheep in East Gippsland, Victoria. *Aust Vet J*, 69, 292-293.
82. Hornok, S.; Szell, Z.; Shibalova, T.A.; Varga, I. (1999). Study on the course of *Cryptosporidium baileyi* infection in chickens treated with interleukin-1 or indomethacin. *Acta Vet Hung*, 47, 207-216.
83. Jelinek, P.D.; Ellis, T.; Wroth, R.H.; Sutherland, S.S.; Masters, H.G.; Petterson, D.S (1988). The effect of selenium supplementation on immunity,

and the establishment of an experimental *Haemonchus contortus* infection, in weaned Merino Sheep fed a low selenium diet. *Aust Vet J*, 65, 214-217.

84. Jiménez, A.; Andrés, S.; Barrera, R.; Mañé, M.C.; Sánchez, J.; Benito, M.; Zaragoza, C. (1996). Influencia de la estación del año en la disponibilidad de selenio en ovinos en explotación extensiva. *Avanc Alim Mej Anim*, 36, 19-22.
85. Kai, O.; Nagase, H.; Suzuki, M.; Kakigawa, T.; Sato, K. (1993). Effect of hypothyroidism with treatment of an antithyroid drug, propylthiouracil on immune responses in chickens. *Vet Immunol Immunopathol*, 36, 123-135.
86. Kaneko, J.J. (1989). Clinical biochemistry of domestic animals. 4^o Ed. Academic Press. San Diego, pp. 1-20.
87. Kean R.P.; Lamont, S.J. (1994) Effect of injection site on cutaneous basophil hypersensitivity response to phytohemagglutinin. *Poultry Sci*, 73, 1763-1765.
88. Kegley, E.B.; Spears, J.W. (1995). Immune response, glucose metabolic, and performance of stressed feeder calves fed inorganic or organic chromium. *J Anim Sci*, 73, 2721-2726.
89. Kennedy, S.; Rice, D.A.; Davidson, W.B. (1987). Experimental myopathy in vitamin E and selenium depleted calves with and without added dietary polyunsaturated fatty acids a model for nutritional degenerative myopathy in ruminant cattle. *Res Vet Sci*, 43, 384-394.
90. Kennedy, S.; Rice, D.A. (1988). Selective morphologic alteration of the cardiac conduction system in calves deficient in vitamin E and selenium. *Am J Pathol*, 130, 315-325.

91. Kennedy, S.; Rice, D.A. (1992). Histopathologic and ultrastructural myocardial alterations in calves deficient in vitamin E and selenium and fed polyunsaturated fatty acids. *Vet Pathol*, 29, 129-138.

92. Kiremidjian-Schumacher, L.; Roy, M.; Wishe, H.I.; Cohen M.W.; Stotzky, G. (1996). Supplementation with selenium augments the functions of Natural Killer and Lymphokine-Activated Killer Cells. *Biol Trace Elem Res*, 52, 227-239.

93. Kleczkowski, M.; Klucinski, W.; Sitarska, E.; Winnicka, A.; Sikora, J.; Ladysz, R.; Wojewoda, L.; Dziekan, L.; Skowronski, M. (1996). Glutathione peroxidase activity in calves and their dams originating from the Lomz Landscape Park of the Narew river valley. *Acta Vet Agr Ac Tec Osltenensis*, 32, 31-36.

94. Kmiec, M.; Baranowski, P. (1999). Body weight, haematocrit value, haemoglobin content and selected blood biochemical parameters in 5 month old polish Longwool lambs. *Bulletin Vet Inst Pulawy*, 43, 89-94.

95. Kolb, E. (1997). Vitamins and the immune system. F. Hoffmann-La Roche LTD., pp. 57-72.

96. Kovác, G.; Michna, A.; Bartko, P.; Reichel, P.; Mudroc, P.; Seidel, H. (1996). An outbreak of nutritional muscular dystrophy in camels (*Camelus bactrianus*) in Košice Zoo. *Folia Vet*, 40, 33-37.

97. Kursá, J.; Kuprova, V. (1976). Osmotic and oxidative haemolysis of erythrocytes in calves with white muscle disease. *Res Vet Sci*, 20, 97-98.

98. Lamand, M. (1991). Les oligoéléments en médecine vétérinaire. Ed. Lavoissier Tec. & Dor. Paris-Francia, pp. 71-110.
99. Langlands, J.P.; Donald, G. E.; Bowles, J. E.; Smith, A.J. (1980). Rapid spot test for glutathione peroxidase activity: comparison with a spectrophotometric procedure and assessment of the test as a measure of selenium in the blood of grazing ruminants. *Aust J Agr Res*, 31, 357-367.
100. Langlands, J.P.; Bowles, J.E.; Donald, G.E.; Smith, A.J.; Paull, D.R.; Davies, H.I. (1982). Deposition of copper, manganese, selenium and zinc in the ovine foetus and associated tissues. *Aust J Agr Res*, 33, 591-605.
101. Langlands, J.P.; Donald, G.E.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. (1990). Subclinical selenium insufficiency 3. The selenium status and productivity of lambs born to ewes supplemented with selenium. *Aust J Exp Agr*, 31, 37-43.
102. Langlands, J.P.; Donald, G.E.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. (1991-a). Subclinical selenium insufficiency 1. Selenium status and the response in liveweight and wool production of grazing ewes supplemented with selenium. *Aust J Exp Agr*, 31, 25-31.
103. Langlands J.P.; Donald, G.E.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. (1991-b). Subclinical selenium insufficiency 2. The response in reproductive performance of grazing ewes supplemented with selenium. *Aust J Exp Agr*, 31, 33-35.
104. Latshaw, J.D. (1991). Nutrition-mechanisms of immunosuppression. *Vet Immunol Immunopathol*, 30, 111-120.

105. Laudert, E.; Sivanandan, V.; Halvorson, D. (1993). Effect of an H5N1 avian influenza virus infection on the immune system of mallard ducks. *Avian dis*, 37, 845-853.
106. Lean, I.J.; Trout, H.F.; Boermans, H.; Moller, G.; Webster, G.; Tracy, M. (1990). An investigation of bulk tank milk selenium levels in the San Joaquin Valley of California. *Cornell Vet*, 80, 41-51.
107. Lehninger, A. (1988). Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular. 2ª Edición *Ediciones Omega*. Barcelona, pp. 97-126.
108. Lessard, M.; Hutchings, D.; Cave, N.A. (1997). Cell mediated and humoral immune responses in broilers chickens maintained on diets containing different levels of vitamin A. *Poultry Sci*, 76, 1368-1378.
109. Löfstedt, J. (1997). White muscle disease of foals. *Vet Clin North Am: Eq Pract*, 13, 169-185.
110. Logan, E.F.; Smith, J.A.; Kennedy, D.G.; Rice, D.A.; Ellis, W.A. (1991). Stillbirth and perinatal weak calf syndrome. *Vet Rec*, 129, 99.
111. López-Alonso, M.; Miranda, M.; Hernández, J.; Castillo, C.; Ayala, I.; Benedito, J.L. (1997). Seasonal variation of glutathione peroxidase, CK and AST in sheep in a low selenium region. *J Anim Feed Sci*, 6, 343-351.
112. López-Alonso, M.; Castillo, C.; Miranda, M.; Hernández, J.; Ayala, I.; Benedito, J.L. Alonso, M.L. (1998). The influence of reproductive stage on the selenium status of sheep in a low-selenium region. *Acta Vet Hungarica*, 46, 101-109.

113. Maas, J. (1990). Selenium deficiency in cattle. En *Trace elements deficiencies: diagnosis, treatment and prevention, Proceeding de la XVI Congreso Mundial de Buiatría, 13-17 de junio, Salvador-Brasil*. pp 5-14.
114. Maas, J.; Galey, F.D.; Peuroi, J.R.; Case, J.T. (1993). Reply: blood selenium or serum selenium?. *J Vet Diagn Invest*, 5, 146-147.
115. Maas, J.; Parish, S.M.; Hodgson, D.R.; Valberg, S.J. (1996). Nutritional myodegeneration. En: *Smith, B.P. Large animal internal medicine*, 2^a Ed. Mosby-Year Book, pp 1513-1518.
116. MacPherson, A. (1994). Selenium, vitamin E and biological oxidation. *Recent Advanc Anim Nutr*, 3-30.
117. Maddox, J.F.; Reddy, C.C.; Eberhaart, R.J.; Scholz, R.W. (1991). Dietary selenium effects on milk eicosanoid concentration in dairy cows during coliform mastitis. *Prostaglandins*, 42, 369-378.
118. Mal, M.E.; Friend, T.H.; Lay, D.C.; Vogelsang, S.G.; Jenkins, O.C. (1991). Physiological responses of mares to short term confinement and social isolation. *J Eq Vet Sci*, 11, 96-102.
119. Malbe, M.; Klaassen, M.; Fang, W.; Myllys, V.; Vikerpuur, M.; Nyholm, K.; Sankari, S.; Souranta, K.; Sandholm, M. (1995). Comparisons of selenite and selenium yeast feed supplementes on se-incorporation, mastitis and leucocyte function in se-deficiente dairy cows. *J Vet Med (A)*, 42, 111-121.
120. Marsh, J.A.; Combs, G.F.; Withacre, M.E.; Dietert, R.R. (1986). Effect of selenium and vitamin E dietary deficiencies on chick lymphoid organ development. *Proc Soc Exp Biol Med*, 182, 425-436.

121. Mbassa, G.K.; Poulsen, J.S.D. (1993). Reference ranges for clinical chemical values in Landrace goats. *Small Rum Res*, 10, 133-142.
122. McDowell, L.R.; Gordon, B.J.; Merkel, R.C.; Fadok, V.; Wilkinson, N.S.; Kunkle, G.A. (1991). Mineral status comparisons in goats of Florida, with emphasis on zinc deficiency. *Small Rum Res*, 5, 327-335.
123. Mee, J.F. (1991). Weak calf syndrome. *Vet Rec*, 128, 484.
124. Mee, J.F.; O'Farrell, K.; Rogers, P.A.M. (1993). Effects of parenteral iodine and selenium supplementation on calving performance in trace element deficient herds. En: *Proceedings of the 8th international symposium on trace elements in man and animals*. Dresden, Germany, pp 321-322.
125. Mee, J.F.; O'Farrell, K.; Rogers, P.A.M. (1994). Base-line survey of blood trace element status of 50 dairy herds in the south of Ireland in the spring and autumn of 1991. *Irish Vet J*, 47, 115-122.
126. Mee, J.F.; Rogers, P.A.M.; O'Farrell, K. (1995). Effect of feeding a mineral-vitamin supplement before calving on the calving performance of a trace element deficient dairy herd. *Vet Rec*, 137, 508-512.
127. Mee, J.F. (1995). Trace elements in mans an animals. *Irish Vet J*, 48, 215-217.
128. Mihailovic, M.; Crcev, D.; Jovanovic, I.; Ledina O. (1993). Effect of different preparations containing selenium and vitamin E on selenium status and reproductive performance of goats. *Acta Vet Beograd*, 43, 309-314.

129. Miljkovic, B.; Rusov, C.; Jojic-Malicevic, L.; Zivkovic, R.; Duricic, B.; Ilic, Z. (1993). Studies on the hypersensitive reactions induced by phytohaemagglutinin on the skin of chicks. I. Dose and site of the intradermal injection of phytohaemagglutinin and the time of reading the reaction. *Vet Glasnik*, 47, 141-148.
130. Miranda, M.I.; Castillo, C.; Santamarina, G.; López, M.; Hernández, J.; Benedito, J.L.; Castañón, M.I.M.; Rodríguez, C.C.; Pernas, G.S.; Alonso, M.L.; Bermudez, J.H.; Castellote, J.L.B. (1996). Evaluación de los niveles de selenio en corderos de raza Gallega. *ITEA- Prod Anim*, 92A, 134-142.
131. Miyamoto, T.; Taura, Y.; Une, S.; Yoshitake, M.; Nakama, S.; Watanabe, S. (1995). Immunological responses to polyvalent canine vaccines in dogs. *J Vet Med Sci*, 57, 347-349.
132. Moore, A.S.; Gonyou, H.W.; Stookey, J.M.; McLaren, D.G. (1994). Effect of group composition and pen size on behaviour, productivity and immune response of growing pigs. *Applied Anim Behaviour Sci*, 40, 13-30.
133. Morris, J.G.; Gripe, W.S.; Chapman, H.L.; Walker, D.F.; Armstrong, J.B.; Alexander, J. D.; Miranda, R.; Sánchez, A.; Sánchez, B.; Blair-West, J.R.; Denton, D.A. (1984). Selenium deficiency in cattle associated with Heinz bodies and anaemia. *Science*, 223, 491-492.
134. Musa, B.E.; Tageldin, M.H. (1994). Swelling disease of dromedary camels. *Vet Rec*, 135, 416.
135. Muth, O.H.; Oldfield, J.E.; Remmert, L.F.; Schubert, J.R. (1958). Effects of selenium and vitamin E on white muscle disease. *Science*, 128, 1090.
136. Oldfield, J.E. (1987). The two faces of selenium. *Am Instit Nutr*, 2002-2008.

137. Oldfield, J.E. (1989). Selenium in animal nutrition: The Oregon and San Joaquin Valley (California) experiences – Examples of correctable deficiencies in livestock. *Biol Trace Element Res*, 20, 23-29.
138. Oldfield, J.E. (1992). Risk and benefits in agricultural uses of selenium. *Envirom Geochem Health*, 14, 81-86.
139. Parkins, J.J.; Hemingway, R.G.; Talty, P.J.; Mcsweeney, C.; Crilly, J. (1994). Intraruminal treatment of trace element deficiency. *Irish Vet J*, 47, 253-256.
140. Parmentier, H.K.; Vries-Reilingh, G.; Nieuwland, M.G.B. (1998). Kinetic and immunohistochemical characteristics of mitogen induced cutaneous hypersensitivity in chickens selected for antibody responsiveness. *Vet Immunol Immunopathol*, 66, 367-376.
141. Pehrson, B. (1993). Disease and diffuse disorders related to selenium deficiencies in ruminants. *Norwegian J Agr Sci*, supplement, 11, 79-93.
142. Paglia, D.E.; Valentine, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, 70, 158-169.
143. Pollock, J.M.; McNair, J.; Kennedy, D.G.; Walsh, D.M.; Goodall, E. A.; Mackie, D.P.; Crockard, A.D. (1994). Effects of dietary vitamin E and selenium on in vitro cellular immune responses in cattle. *Res Vet Sci*, 56, 100-107.

144. Poston, H.A.; Combs, G.F.Jr.; Leibovitz, L. (1976). Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon: gross, histological and biochemical deficiency. *J Nutr*, 106, 892-904.
145. Prache, S. (1994). Haemolytic anaemia in ruminants fed forage brassicas: a review. *Vet Res*, 25, 497-520.
146. Quist, C.F.; Howerth, E.W.; Bounous, D.I.; Stallknecht, D.E. (1997). Cell mediated immune response and IL-2 production in white tailed deer experimentally infected with hemorrhagic disease viruses. *Vet Immun Immunopath*, 56, 283-297.
147. Radostits, O.M.; Blood, D.C.; Gay, C.C. (1994) *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 8° Ed. Bailliere Tindall. London. pp. 1414-1418.
148. Rafai, P.; Tuboly, S.; Jakab, L.; Glavits, R.; Molnar, L.; Papp, Z.; Biro, H. (1988). Effect of long lasting ACTH therapy on the defense mechanism of growing pigs. I. Effect of ACTH therapy on the humoral immune response and some measures of cell-mediated immunity. *Magyar Allatorvosok Lapja*, 43, 683-689.
149. Ramos, J.J.; Marca, M.C.; Fernández, A.; Sanz, M.C.; Blanco, A. (1995). Niveles de microminerales en el ganado ovino de la comarca de Borja. *Avanc Alim Mej Anim*. 35, 7-10.
150. Ramos, J.J.; Fernández, A.; Verde, M.T.; Sáez, T.; Sanz, M.C.; Marca, M.C. (1998). Efecto de la inoculación con selenio y/o vitamina E sobre la respuesta inmune en corderos. *Med Vet*, 15, 291-296.

151. Raszyk, J.; Pillich, J. (1990). A simple immunological skin test in piglets. *Veterinarni Med*, 35, 553-560.
152. Raszyk, J. (1992) Practical immunological skin test for piglets. *Veterinarni Med*, 37, 269-279.
153. Reddy, N.R.J.; Rao, P.M. (1992). Immunological status of canine demodicosis based on the cutaneous response to mitogens. *Indian J Vet Med*, 12, 4-7.
154. Ricciardino, M.Z.; Medus, P.D.; Ruksan, B.E.; Tantín, H. (1993). Deficiencia de cobre y selenio en vasquillonas sobre pastura natural. IIª parte – Efectos sobre ganancia de peso y parámetros bioquímicos. *Revist Med Vet*, 74, 122-128.
155. Rice, D.A.; Kennedy, S. (1989). Vitamin E, selenium, and polyunsaturated fatty acid concentrations and glutathione peroxidase activity in tissues from pigs with dietetic microangiopathy (mulberry heart disease). *Am J Vet Res*, 50, 2101-2104.
156. Rietkerk, F.E.; Delima, E.C.; Mubarak, S.M. (1994). The haematological profile of the mountain gazelle (*Gazella gazella*): variation with sex, age, capture method and anesthesia. *J Wildlife Dis*, 30, 69-76.
157. Rodriguez, R.; de Baroni, A.C. (1992). Distrofia muscular nutricional aguda en terneros holando argentinos recién deslechados. *Vet Arg*, 81, 33-38.
158. Rothwell, T.L.W.; Windon, R.G.; Horsburgh, B.A.; Davies, H.I. (1991). Some cutaneous responses to mitogen injection in sheep, with special reference to eosinophil leucocytes. *Res Vet Sci*, 51, 44-47.

159. Sáez, T.; Ramos, J.J.; Marca, M.C.; Sanz, M.C.; Fernández, A.; Verde M.T. (1994). Studies on selenium in sheep: Effect of various forms of supplementation on the production of flocks. *World Rev Anim Prod*, 29, 21-27.
160. Sáez, T.; Marca, M.C.; Ramos, J.J.; Verde, M.T.; Fernández, A.; Sanz, M.C.. (1995). Detección de carencias de selenio en el ganado ovino de la provincia de Zaragoza mediante la medición de la actividad glutatión peroxidasa selenio-dependiente. *ITEA*, 91A, 5-11.
161. Sáez, T.; Ramos, J.J.; Marca, M.C.; Sanz, M.C.; Fernández, A.; Verde, M.T. (1996-a). Haematological and biochemical changes in the blood of ewes and lambs after selenium and vitamin E injection. *J Appl Anim Res*, 9, 51-60.
162. Sáez, T.; Ramos, J.J.; Marca, M.C.; Sanz, M.C.; Fernández, A.; Verde, M.T. (1996-b). Efecto de la inoculación de dos tipos de selenio sobre la bioquímica clínica en ganado ovino. *Med Vet*, 13, 619-625.
163. Sáez, T.; Ramos, J.J.; Marca, M.C. (1996-c). La enfermedad del músculo blanco en rumiantes. *Inform Vet*, 176, 29-33.
164. Sandholm, M.; Malbe, M.; Klaassen, M.; Fang, W.; Myllys, V.; Vikerpuur, M.; Nyholm, K.; Ali-vehmas, T.; Sankari, S.; Suoranta, K. (1995). Effect of organic and inorganic selenium on mastitis in selenium-deficient dairy cows. En: *Proceedings of the IDF International Mastitis Seminar, session 6: Epidemiology of Mastitis*. Tel-Aviv. pp. 92-93.
165. Sanson, R.L. (1990). Selenium supplementation of sheep by topdressing pastures under high rainfall conditions. *New Zeal Vet J*, 38, 1-3.

166. Sato, S. (1998). Immunosuppression in periparturient cows and the effects of immunostimulation. *Tohoku J Vet Clinics*, 21, 61-70.
167. Schwarz, K.; Foltz, C.M. (1957). Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J Am Chem Soc*, 79, 3292-3293.
168. Singh, S.D.; Mohanty, G.C. (1998). Vascular and cellular response to phytohaemagglutinin in Japanese quail. *Indian J Anim Sci*, 68, 1233-1235.
169. Slee, K.J.; Button, C. (1990). Enteritis in sheep and goats due to *Yersinia enterocolitica* infection. *Aust Vet J*, 67, 396-398.
170. Scott, R.P.; Siopes, T.D. (1994). Evaluation of cell mediated immunocompetence in mature turkey breeder hens using a dewlap skin test. *Avian dis*, 38, 161-164.
171. Smith, K.L.; Harrison, J.H.; Hancock, D.D.; Todhunter, D.A.; Conrad, H.R. (1984). Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J Dairy Sci*, 67, 1293-1300.
172. Smith, C.A. (1994). Immune suppression challenges bovine practitioners. *J Am Vet Med Assoc*, 204, 341-346.
173. Smith, G.M.; Fry, J.M.; Allen, J.G.; Costa, N.D. (1994). Plasma indicators of muscle damage in a model of nutritional myopathy in weaner sheep. *Aust Vet J*, 71, 12-17.
174. Sordillo, L.M.; Hicks, C.R.; Wilson, R.; Maddox, J. (1993). Effects of selenium status on bovine mononuclear cell function. *J Vet Med (A)*, 40, 615-623.

175. Subba, D.B.; Thakur, R.P.; Kushwaha, N.P.; Rai, L.B.; Thapa, P.B. (1993). Normal haematological and biochemical values of indigenous cattle in the eastern hills of Nepal. *Vet Rev Kathmandu*, 8, 42-46.
176. Swecker, W.S. Jr.; Thatcher, C.D.; Eversole, D.E.; Blodgett, D.J.; Schurig, G.G. (1995). Effect of selenium supplementation on colostral IgG concentration in cows grazing selenium-deficient pastures and on postsuckle serum IgG concentration in their calves. *Am J Vet Res*, 56, 450-453.
177. Swecker, W.S. Jr. (1997). Selenium and immune function in cattle. *Comp Cont Edu: Food Anim*, 19, 248-253.
178. Thompson, K.G.; Ellison, R.S.; Clark, R.G. (1991). Monitoring selenium status- What test should we use?. *New Zeal Vet J*, 39, 152-154.
179. Thompson, K.G.; Ellison, R.S. (1993). Blood selenium or serum selenium?. *J Vet Diagn Invest*, 5, 145-146.
180. Tokarnia, C.H.; Döbereiner, J.; Moraes, S.S. (1988). Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. *Pesq Vet Bras*, 8, 1-16.
181. Tumas, D.B.; Hines, M.T.; Perryman, L.E.; Davis, W.C.; McGuire, T.C. (1994). Corticosteroid immunosuppression and monoclonal antibody mediated CD5+ T lymphocyte depletion in normal and equine infectious anaemia virus carrier horses. *J Gen Virol*, 75, 959-968.
182. Turner, R.J.; Finch, J.M. (1990). Immunological malfunctions associated with low selenium-vitamin E diets in lambs. *J Comp Pathol*, 102, 99-109.

183. Turner, R.J.; Finch, J.M. (1991). Selenium and the immune response. *Proceed Nutr Soc*, 50, 275-285.
184. Underwood, E.J. Los minerales en la nutrición del ganado. (1981). Ed Acribia. Zaragoza. pp. 173-194.
185. Válka, J.; Beseda, I.; Zarski, T.; Debski, B. (1993). The application of the analysis of essential components in the observation of the dynamics of Se levels after the administration of the preparation evetsel to selenium-deficient dairy cows. *Folia Vet*, 37, 67-70.
186. Van Kampen, E.J.; Zijlstra, W.G. (1967). Acta 6, 1961, 538 International Committee for Standardization in Haematology. *Brit J Haematol*, 13 (Suppl.), 71.
187. Van Vleet, J.F.; Ferrans, V.J. (1977). Ultrastructural alterations in skeletal muscle of selenium-vitamin E deficient ducklings. *Am J Vet Res*, 38, 1231-1236.
188. Veling, J.; Counotte, G.H.M. (1995). Selenedeficiëntie zonder klinische symptomen bij jongvee op een melveebedrijf. *Tijdschr Diergeneesk*, 120, 464-465.
189. Verde, M.T.; Sanz, M.C.; Ramos, J.J.; Fernández, A.; Marca, M.C.; Sáez, T. (1995). Selenium and glutathione peroxidase correlation in different blood samples in sheep. *J Appl Anim Res*, 8, 21-27.
190. Waldner, C.; Campbell, J.; Jim, G.K.; Guichon, P.T.; Booker, C. (1998). Comparison of 3 methods of selenium assessment in cattle. *Can Vet J*, 39, 225-231.

191. Wambura, P.N.; Gwakisa, P.S.; Silayo, R.S.; Rugaimukamu, E.A. (1998). Breed associated resistance to tick infestation on *Bos indicus* and their crosses with *Bos taurus*. *Vet Parasitol*, 77, 63-70.
192. Walter, E.D.; Jensen, L.S. (1964). Ultrastructural alterations in skeletal muscle of selenium vitamin E deficient ducklings. *Am J Vet Res*, 38, 1232-1236.
193. Ward, J.D.; Spears, J.W. (1999). The effects of low-copper diets with or without supplemental molybdenum on specific immune responses of stressed cattle. *J Anim Sci*, 77, 230-237.
194. Whyte, A.; Haskard, D.O.; Binns, R.M. (1994). Infiltrating gammadelta T-cells and selectin endothelial ligands in the cutaneous phytohaemagglutinin induced inflammatory reaction. *Vet Immunol Immunopathol*, 41, 31-40.
195. Wichtel, J.J.; Craigie, A.L.; Freeman, D.A.; Varela-Alvarez, H.; Williamson, N.B. (1996). Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotropic function in dairy calves at pastures. *J Dairy Sci*, 79, 1865-1872.
196. Yagoub, I.A. (1988). Studies on haematological parameters and some biochemical blood constituents of Sudanese camels (*Camelus dromedarius*). *Acta Vet Beograd*, 38, 99-106.
197. Zachara, B.A.; Trafikowska, U.; Kaptur, M.; Kimber, C.; Lejman, H. (1992). The effect of barium selenate injection on selenium concentration and glutathione peroxidase activity in blood of pregnant ewes fed selenium deficient diet. *Biol Trace Elem Res*, 32, 415-419.

198. Zachara, B.A.; Mikolajczak, J.; Trafikowska, U. (1993-a). Effect of various dietary selenium intakes on tissue Se levels and glutathione peroxidase activities in lambs. *J Vet Med (A)*, 40, 310-318.
199. Zachara, B. A.; Trafikowska, U.; Lejman, H.; Kimber, C.; Kaptur, M. (1993-b). Selenium and glutathione peroxidase in blood of lambs born to ewes injected with barium selenate. *Small Rum Res*, 11, 135-141.
200. Zagrodzki, P.; Nicol, F.; MacCoy, M.A.; Smith, J.A.; Kenedy, D.G.; Beckett, G.J.; Arthur, J.R. (1998). Iodine deficiency in cattle: compensatory changes in thyroidal selenoenzymes. *Res Vet Sci*, 64, 209-211.
201. Zervas, G.; Carlos, G.; Telfer, S. (1987). The use of Co-Cu-Se containing soluble glass boluses on the prevention of trace element deficiencies in lambs. *World Rev Anim Prod*, XXIII, 51-53.
202. Zervas, G.P. (1988). Use of soluble glass boluses containing Cu, Co and Se in the prevention of trace elements in goats. *J Agr Sci Camb*, 110, 155-158.
203. Žust, J.; Hrovatin, B.; Šimundic, B. (1996). Assessment of selenium and vitamin E deficiencies in dairy herds and clinical disease in calves. *Vet Rec*, 139, 391-394.