



UNIVERSIDAD  
SAN SEBASTIAN

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NATURALEZA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA  
CARRERA MEDICINA VETERINARIA  
SEDE CONCEPCIÓN**

**ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE GLUTATIÓN PEROXIDASA EN  
EQUINOS PURA RAZA CHILENA EN ACTIVIDAD DE  
ENTRENAMIENTO**

Memoria para optar al título de Médico Veterinario

Profesor Tutor: MCs Javier Neumann Vasquez MV

**Estudiante: Claudio Lukas Benavente Kühnert**

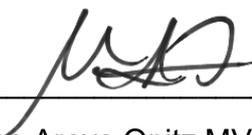
© Claudio Lukas Benavente Künert, Javier Agustín Neumann Vásquez.

Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra, con fines académicos, por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.

Concepción, Chile  
2024

## CALIFICACIÓN DE LA MEMORIA

En Concepción, el día 10 de Julio del año 2024, los abajo firmantes dejan constancia que el estudiante Claudio Lukas Benavente Kühnert de la carrera de Medicina Veterinaria ha aprobado la memoria para optar al título de Médico Veterinario con una nota de 6,1.-



---

MCs Mónica Araya Opitz MV

Presidente Comisión



DR. EDSON MONTERO MC.  
Médico Veterinario  
RUT:9.822.591-9

---

MCs Edson Montero Cabrera MV

Profesor Evaluador



---

MCs Javier Neumann Vásquez MV

Profesor Patrocinante

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mi familia, a mi padre que siempre me ha dado ánimo y motivación durante este largo proceso, a mi hermana Daniela y su apoyo incondicional en todos estos años de la carrera, a mis amigos, para ellos va dedicada esta tesis.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a mi familia y amigos, ya que siempre estuvieron presentes durante la realización de esta tesis y me motivaron a seguir adelante en todo momento.

Agradecer especialmente a mi profesor patrocinante Dr. Javier Neumann por su valiosa orientación y apoyo durante el desarrollo de este proyecto. Su experiencia y dedicación han sido fundamentales para alcanzar mis objetivos.

## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	ix
ABSTRACT .....	x
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. HIPÓTESIS .....	7
3. OBJETIVOS .....	8
4. MATERIAL Y MÉTODO.....	9
5. RESULTADOS .....	13
6. DISCUSIÓN.....	16
7. CONCLUSIONES.....	19
9. REFERENCIAS .....	20

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Balance metabólico nutricional de Selenio y su relación con la actividad sanguínea de GPx y la concentración de Selenio.....	4
Tabla 2	Clasificación de los grupos experimentales según intensidad y frecuencia de entrenamiento en equinos de rodeo de la comuna de Parral.....	11
Tabla 3	Actividad de GPx (U/gHb) en equinos de rodeo de la comuna de Parral según su intensidad de entrenamiento (A ligero, B medio y C intenso)...	13
Tabla 4	Actividad de GPx (U/gHb) en equinos de rodeo de la comuna de Parral según su rango etario, grupo 1 (6-12 años)y grupo 2 (13-17 años).....	14

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Actividad de GPx (U/gHb) en equinos de rodeo de la comuna de Parral según su intensidad de entrenamiento.....	14
Figura 2: Actividad de GPx (U/gHb) en equinos según su rango etario, grupo 1 (6-12años) y grupo 2 (13-17 años).....	15

## RESUMEN

La enzima glutatión peroxidasa (GPx) es la enzima encargada de proteger al organismo del daño oxidativo destruyendo los peróxidos, superóxidos y radicales hidroxílicos, nocivos para la integridad celular y producidos durante el ejercicio. La actividad de esta enzima GPx se relaciona directamente con las concentraciones de selenio (Se) en sangre, ya que este oligoelemento forma parte de su estructura molecular, teniendo esta enzima 4 átomos de Se en su estructura. En Chile existe poca información acerca de las concentraciones sanguíneas de Se y como estas se relacionan con el estrés oxidativo de los equinos atletas de una forma correcta y si la actividad enzimática de GPx varía significativamente en equinos de distintas edades e intensidades de entrenamiento. Este estudio experimental propone determinar si hay variación en la actividad enzimática sanguínea de GPx en equinos pura raza chilena de distintas edades y que se encuentren en distintos niveles de entrenamiento para rodeo. Para ello se mide la actividad de GPx sanguínea en tres grupos de equinos (n=30) divididos por nivel de entrenamiento (ligero, medio e intenso) y edad (6 a 12 años y 13 a 17 años). Los resultados señalan una actividad promedio de 95,8 U/gHb para entrenamiento ligero, 53,5 U/gHb entrenamiento medio y 119,7 U/gHb en el caso de entrenamiento severo ( $p>0,05$ ). En relación con la edad los valores promedios son para el rango de 6 a 12 años de 100,3 U/gHb, y de 96,0 para el rango de 13 a 17 años ( $p>0,05$ ).

Se concluye que la actividad de GPx no se ve influenciada por la intensidad del ejercicio ni por la edad de los caballos pura raza chilena que practican rodeo chileno, por lo que se acepta la hipótesis nula de este estudio.

**Palabras Clave:** Glutatión peroxidasa, selenio, equinos, selenio sanguíneo, antioxidantes.

## ABSTRACT

The enzyme glutathione peroxidase (GPx) is the enzyme responsible for protecting the body from oxidative damage by destroying peroxides, superoxides and hydroxyl radicals, which are harmful to cellular integrity and produced during exercise. The activity of this GPx enzyme is directly related to the concentrations of selenium (Se) in the blood, since this trace element is part of its molecular structure, with this enzyme having 4 Se atoms in its structure. In Chile, there is little information about blood concentrations of Se and how these relate to the oxidative stress of equine athletes correctly and whether the enzymatic activity of GPx varies significantly in horses of different ages and training intensities.

This experimental study is conducted to determine if there is variation in the blood enzymatic activity of GPx in purebred Chilean horses of different ages and that are at different levels of rodeo training. For this purpose, the blood GPx activity is measured in three groups of horses (n=30) divided by training level (light, medium and intense) and age (6 to 12 years and 13 to 17 years). The results indicate an average activity of 95.8 U/gHb for light training, 53.5 U/gHb for medium training and 119.7 U/gHb in the case of severe training ( $p>0.05$ ). In relation to age, the average values are 100.3 U/gHb for the range from 6 to 12 years, and 96.0 for the range from 13 to 17 years ( $p>0.05$ ). It is concluded that GPx activity is not influenced by exercise intensity or age of Chilean purebred horses that practice Chilean rodeo, Therefore, the null hypothesis of this study is accepted.

**Keywords:** Glutathione peroxidase, selenium, horses, blood selenium, antioxidants,

## 1. INTRODUCCIÓN

### **Glutación peroxidasa**

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas durante la respiración celular y el sistema antioxidante del cuerpo utilizado para eliminarlas (Williams y Burk, 2012). Ocurre en tejidos y órganos cuando las ROS se producen en exceso en comparación a los mecanismos de defensa antioxidantes, lo que resulta en efectos nocivos (Tan et al., 2010). Entre los antioxidantes enzimáticos se incluyen el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la glutación peroxidasa (GPx), las enzimas glutación s-transferasa (GST) y la tiorredoxina (Trx) (Kirkham y Rahman, 2006). La enzima glutación peroxidasa GPx tiene un rol protector a nivel de las membranas celulares, donde destruye los peróxidos, superóxidos y radicales hidroxilicos, los que en casos de deficiencia de selenio (Se) y vitamina E se acumulan y ejercen su acción (McMurray et al., 1983). La GPx contiene en su estructura molecular 4 átomos de Se (Rioseco et al., 2013) por lo que esta selenoenzima desempeña un papel fundamental en el mecanismo antioxidante que se encarga de regular las concentraciones de peróxido de hidrógeno en la célula (Brummer et al., 2013; Ferguson y Karunasinghe, 2011). Se sabe sobre la relación entre el estado de Se, la actividad de GPx y el estado de los antioxidantes en los caballos (Brummer et al., 2013) Por lo que cambios en este sistema de defensa también se verán reflejados en la actividad de GPx (Tan et al., 2010). El nivel de ejercicio y la dieta son también son factores que influyen en el estrés oxidativo y por lo tanto en el estado antioxidante del atleta equino (Williams y Burk, 2012).

El selenio es un componente integral de las selenoproteínas que participan en toda una serie de procesos fisiológicamente importantes (Hosnedlova et al., 2017). El sistema inmunológico depende de una ingesta adecuada de este mineral en la dieta, el cual tiene sus efectos biológicos principalmente a través de su incorporación (Avery y Hoffmann, 2018). En la familia de las selenoproteínas se incluyen al menos 25 proteínas, cuya

expresión se caracteriza por una alta especificidad tisular, que depende de la disponibilidad de selenio (Hatfield et al., 2014).

## **Selenio y vitamina E**

El selenio es un oligoelemento esencial, importante para muchos procesos fisiológicos, especialmente para las funciones de los sistemas inmunológico y reproductivo, el metabolismo de las hormonas tiroideas y la defensa antioxidante (Hosnedlova et al., 2017). Su bajo nivel está relacionado con el sistema inmunológico debilitado (Efracimidis y Wiersinga, 2014) Estudios realizados con ratones, han demostrado que los niveles de selenio afectan la expresión del ARNm de algunas citocinas inmunomoduladoras, así como del receptor de citoquinas (Brummer et al., 2009). La actividad del Se se puede medir a través de la actividad de la selenoenzima GPx (Brummer et al., 2013).

La vitamina E es un antioxidante liposoluble, que no es sintetizado por el cuerpo por lo que debe ser aportada en la alimentación y que actúa entre otras cosas, en la prevención de la peroxidación convirtiendo radicales libres en hidroperóxido mientras que la GPx dependiente del selenio es la responsable de la detoxificación de este hidroperóxido (Surai, 2003). Se considera uno de los antioxidantes y reductores de radicales libres más importantes que se encuentran en las membranas celulares (Bazzano et al., 2019) y junto con el selenio actúan sinérgicamente para reducir el daño oxidativo (Lawrence, 2008).

Debido a su naturaleza lipofílica, la vitamina E actúa como un potente reductor de radicales libres dentro de las membranas celulares, donde protege los lípidos insaturados y otros componentes susceptibles de la membrana contra el daño oxidativo (Streeter et al., 2012). El bajo consumo de estos antioxidantes está asociado con una reducción de la resistencia muscular y un estrés repentino inducido por el ejercicio intenso (Arias et al., 2004; Ceballos et al., 1998). Por lo que la deficiencia de Se y vitamina E se ha relacionado con enfermedades neuromusculares como la miodegeneración nutricional o comúnmente conocida como enfermedad del músculo blanco (WMD) (Bazzano et al., 2019; Lekeux y Kirschvink, 2009) Es así como una serie de trastornos han sido atribuidos a insuficiente contenido de Se en el organismo animal, tales como debilidad neonatal,

miodegeneración, miopatía cardíaca, retención de placenta, abortos, degeneración testicular, inmunosupresión y mastitis (Tapia, 2013; Efraimidis y Wiersinga, 2014). Pitel et al., (2020) Aclara que las deficiencias de los antioxidantes como el Se y alfa-tocoferol pueden provocar enfermedades neuromusculares graves y frecuentemente irreversibles en los caballos. Por lo que la suplementación de caballos con estos antioxidantes se ha correlacionado con la atenuación de los marcadores de estrés oxidativo y efectos positivos sobre la fertilidad y la función inmune (Contri et al., 2011). La rabdomiólisis es la miopatía más frecuente en los equinos, alrededor del 5% de los caballos Pura sangre Inglés la padecen hacia los tres años de edad, lo que ocasiona grandes pérdidas económicas y retrasos en los programas de entrenamiento (Arias et al., 2004) La determinación de la actividad de enzimas antioxidantes como la GPx y la superóxido dismutasa ayudan en forma complementaria al diagnóstico de una posible rabdomiólisis (Arias et al., 2004; Ceballos et al., 1998).

## **Selenio en Chile**

El Se se encuentra ampliamente distribuido en el medio terrestre, pero su contenido y biodisponibilidad varía en el suelo y los forrajes (Rioseco et al., 2013). Los suelos de origen volcánico y pH ácido contienen una cantidad mínima de selenio, por lo que el riesgo de deficiencia de este mineral aumenta en animales no suplementados que subsisten con pasto o heno cultivados en suelos con deficiencia de este elemento (Pitel et al., 2020). En equinos de América del Sur, incluido Chile, se han descrito enfermedades asociadas a la deficiencia de Se y/o vitamina E, entre las que se encuentran la miodegeneración nutricional, enfermedad degenerativa no inflamatoria que afecta la musculatura esquelética y cardíaca y la esteatosis o enfermedad de la grasa amarilla (Araya et al., 2004).

En el sur de Chile se ha descrito que un 60% de los forrajes presenta concentraciones de Se menores a 0.1 ppm (Contreras et al., 2005). Autores han establecido condiciones deficientes de Selenio en forrajes de las Regiones del Bío-Bío y Araucanía respectivamente, con valores promedios de 0,01 y 0,08 ppm (Tapia 2013). Wittwer et al.,

el año 2002, demostró que los valores de Selenio en praderas varían entre otoño y primavera y la actividad de GPx eritrocítica varía en animales de distintas edades, épocas del año y estados fisiológicos. En consecuencia, los suplementos de Se se han convertido en una parte esencial de las premezclas minerales para caballos, particularmente en áreas con deficiencia (Calamari et al., 2009).

### Requerimientos de selenio en equinos

El National Research Council (NRC) recomienda 1 mg de selenio al día para caballos de 400 kg en trabajos pesados o muy pesados, en cuanto a la ingesta diaria recomendada de vitamina E, esta es de 1 UI/kg de peso corporal, y se recomiendan 2 UI/kg de peso corporal para potros y caballos en ejercicio (Pitel et al., 2020). La concentración sanguínea de selenio en equinos varía entre 0,17-0,25 ppm, en el caso de haber deficiencia estos se encontrarán entre 0,096-0,16ppm y para concentraciones de toxicidad los valores encontrados son de 1,10-6,36 ppm (Tapia 2013).

Tabla 1: Balance metabólico nutricional de Selenio y su relación con la actividad sanguínea de GPx y la concentración de Selenio.

<b>Balance de Selenio</b>	<b>Selenio en Sangre (umol/l)</b>	<b>GPx en sangre (U/gHb)</b>
Deficiente	< 0.63	< 60
Bajo/Marginal	0,64 – 1,05	61 – 100
Marginal	1,06 – 1,39	101 – 130
Adecuado	>1,4	> 131 - > 140

Adaptado de Randox (1990)

Una de las mayores fuentes de antioxidantes son los forrajes. Sin embargo, existen diversos factores que pueden hacer que el aporte de estos compuestos en la dieta sea insuficiente, como es la deficiencia de algunos minerales en el suelo, el estado de madurez y almacenamiento del forraje, y la disminución de la concentración de vitaminas al aumenta su edad (Huerta et al., 2005) No obstante no existe información suficiente

sobre el balance metabólico nutricional y variaciones estacionales de Selenio, lo cual hace difícil establecer un plan de suplementación mineral en forma estratégica y continua (Tapia 2013).

Los suplementos de selenio pueden estar en 2 formas, inorgánicas (generalmente selenito o selenato de Na) u orgánicas (levadura de Se o grano con alto contenido de Se) (Calamari et al., 2009) La principal forma de Se que los caballos obtienen de los piensos, es en forma orgánica, con selenometionina (Semet) que constituye la fuente principal (Surai, 2006). La levadura de selenio se produce mediante el cultivo de cepas específicas de levadura en un medio enriquecido con este mineral y, aunque la distribución de las formas de Se en la levadura varía entre las fuentes, SeMet suele ser la forma predominante (Rayman, 2004).

## **Estrés Oxidativo**

Podemos definir el estrés oxidativo como la acción sobre el organismo de los radicales libres (RL) procedentes generalmente del normal metabolismo celular (De la Cruz et al., 2008). Los RL o especies reactivas de oxígeno (ROS), se producen durante la actividad celular normal como consecuencia de procesos metabólicos y fuentes exógenas como el ejercicio intenso, el estrés, factores ambientales y agentes contaminantes (drogas y pesticidas) (Huerta et al., 2005). En los equinos, como en las demás especies aerobias, existe equilibrio entre la producción de ROS y la capacidad antioxidante, cuando se rompe ese equilibrio se genera estrés oxidativo, que puede ocasionar daño celular (Ceballos, 2012). Las condiciones y factores de estrés, como las infecciones virales y parasitarias, el entrenamiento intensivo, las lesiones y el transporte, pueden provocar un mayor nivel de especies reactivas de oxígeno ROS en las células (Camini et al., 2017). Las ROS pueden definirse como moléculas que tienen un electrón impar en su órbita externa y son de naturaleza inestable y reactiva; ejemplos de estas sustancias son el superóxido, el radical hidróxilo, el oxígeno singlete o el peróxido de hidrógeno, entre muchas otras, puesto que la mayoría de los elementos químicos se comportan como tales (De la Cruz et al., 2008). Una vez que son formadas, buscan el modo de conseguir una

configuración electrónica estable, razón por la cual interactúan con otras moléculas a través de reacciones de óxido reducción (redox) (Corrales y Muñoz, 2012).

Cuando un RL reacciona con una molécula no radical puede ceder o captar electrones, o simplemente puede unirse a ella, en cualquiera de estos casos la molécula no radical se convierte en un RL y se desata una reacción en cadena (Chihuailaf et al., 2002). Ostalowska et al., en el año 2006 indicó que las ROS son especies oxidantes altamente reactivas y, por tanto, capaces de degradar las biomoléculas, entre ellas los componentes de la articulación del equino como son el colágeno, los proteoglicanos y el ácido hialurónico.

Afortunadamente, existen varias líneas de defensa antioxidante tanto intra como extracelularmente para proteger los tejidos contra el daño causado por las ROS y otros prooxidantes. Este complicado sistema de defensa contra las ROS está proporcionado por enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), ambas isoenzimas superóxido dismutasa de zinc-cobre (ZnCuSOD) y superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), la glutatión reductasa (GR) y la glutatión s-transferasa (GST) (Ostalowska et al., 2006). Es importante señalar que las ROS con moderación desempeñan un papel importante en las actividades fisiológicas normales (Williams, 2016). La producción de ROS puede ser necesaria para la producción normal de fuerza en el músculo esquelético, el desarrollo de la adaptación inducida por el entrenamiento en el rendimiento de resistencia y la inducción de estas líneas de defensa endógenas (Powers et al., 2010).

Considerando los antecedentes expuestos es que se plantea la siguiente pregunta; ¿es la actividad enzimática de GPx dependiente de la edad y estado de entrenamiento en que se encuentre el equino?

## **2. HIPÓTESIS**

Ho: No existen diferencias significativas en la actividad de GPx U/gHb en equinos con distintas edades e intensidades de entrenamiento.

H1: Existen diferencias significativas en la actividad de GPx U/gHb en equinos con distintas edades e intensidades de entrenamiento.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

- Determinar variaciones en la actividad enzimática de GPx en equinos Pura Raza Chilena que entrenen la disciplina ecuestre del rodeo chileno.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Comparar la actividad enzimática de GPx según la edad de los equinos en estudio.
- Comparar la actividad enzimática de GPx según la frecuencia del entrenamiento y actividad deportiva de los equinos en estudio.

## **4. MATERIAL Y MÉTODO**

### **4.1 Materiales**

#### **4.1.2 Materiales Fungibles**

- Alcohol desnaturalizado 95° DifemPharma®.
- Algodón sintético.
- Tubos con anticoagulante EDTA (tapa Lila).
- Jeringa Nipro® 10cc.
- Aguja hipodérmica 21G (verde).
- Caja para desechos biológicos.

#### **4.1.3 Materiales no Fungibles**

- Lápiz permanente punta fina.
- Reactivos Ransel Randox®.
- Analizador bioquímico automatizado Metrolab® 2300, lab Wiener, Argentina.
- Plumón punta fina permanente.
- Cooler para transportar muestras sanguíneas.
- GelPack Coleman®.
- Notebook HP® con conexión a internet.

### **4.2 Método**

#### **4.2.1 Tipo de Estudio**

Corresponde a un estudio observacional, experimental en donde se miden las variaciones en la actividad enzimática de la enzima GPx (U/gHb) en equinos de deporte Pura Raza Chilena de distintas edades, los cuales se encuentran en actividad de entrenamiento al momento de realizar el estudio.

#### **4.2.2 Población de estudio y tamaño muestral**

En este estudio se evalúan equinos pertenecientes a los criaderos; Acampao, Los Mines, Santa Erika, que se ubican en la comuna de Parral.

El tamaño muestral para este estudio es de 30 equinos pura raza chilena (PRCH) utilizando un muestreo por conveniencia, de acuerdo a la disponibilidad de los propietarios de los equinos. De los 30 ejemplares, doce (12) corresponden a hembras y dieciocho (18) a machos (castrados o enteros). Todos los equinos de este estudio entrenan y/o compiten en la disciplina ecuestre de rodeo chileno.

#### **4.2.3 Criterios de inclusión**

- Equinos que son suplementados con selenio (cualquier producto comercial).
- Equinos adultos sin distinción de sexo (mayores de 6 años y menores de 17)
- Equinos que residan permanentemente en la comuna de Parral.
- Equinos clínicamente sanos (ausencia de claudicaciones y patologías que comprometan su rendimiento en el entrenamiento).
- Equinos pura raza chilena (PRCH), que practiquen la disciplina del rodeo chileno y estén en entrenamiento al momento de la toma de muestras.

#### **4.2.4 Criterios de exclusión**

- Equinos menores de 6 años.
- Equinos mayores de 17 años.
- Equinos en mal estado general.
- Equinos que no se encuentren en entrenamiento.
- Equinos indóciles.
- Yeguas preñadas.
- Equinos que no sean (PRCH)

### **4.3 Metodología**

#### **4.3.1 Grupos experimentales**

Los equinos son separados en 3 grupos de 10 ejemplares cada uno A, B y C de acuerdo a la frecuencia del entrenamiento que están recibiendo (Tabla 1): Grupo A (ligero) para

equinos que se encuentren comenzando su entrenamiento y/o que no reciban entrenamiento diario, Grupo B (medio) para equinos que están en constante entrenamiento (diariamente) y Grupo C (intenso) correspondiente a equinos que se encuentran en constante entrenamiento y compitiendo en rodeos al momento de la toma de muestras. Los equinos también se clasifican en otros 2 grupos de acuerdo a su edad: Grupo 1 para equinos entre 6 y 12 años, Grupo 2 para equinos entre 13 y 17 años (Tabla 2).

Tabla 2: Clasificación de los grupos experimentales según intensidad y frecuencia de entrenamiento en equinos de rodeo de la comuna de Parral.

<b>Grupos</b>	<b>Intensidad de entrenamiento</b>	<b>Frecuencia de entrenamiento</b>
<b>A</b>	Ligero	Comienzo de entrenamiento/ No lo recibe diariamente.
<b>B</b>	Medio	Entrenamiento diario.
<b>C</b>	Intenso	Entrenamiento diario y en competencia.

Fuente: Autoría propia.

#### **4.3.2 Obtención de muestras sanguíneas**

El día acordado de toma de muestra, se asiste a los criaderos en la mañana, antes de iniciar la jornada de entrenamiento, para evitar variaciones en sus parámetros sanguíneos. Las muestras de sangre se extraen mediante la técnica venopunción yugular, de la cual se obtienen 5 mL de sangre de cada equino, que es almacenada en tubos tapa lila (EDTA) con anticoagulante. Posterior a la extracción los tubos se depositan en un Cooler con Gelpacks para ser transportados desde el criadero a la ciudad de Parral y ser puestos en congelación a -18 C°.

Previo a la toma de muestras se solicita a los propietarios firmar un consentimiento informado donde se informa el procedimiento de toma de muestras y el objetivo del estudio (Anexo 4). Además, en este estudio aplica el “Protocolo de uso y cuidados de animales” solicitado por el comité de ética de la Universidad San Sebastián (Anexo 5).

### **4.3.3 Determinación de actividad enzimática de GPx**

Las muestras sanguíneas son analizadas en el Laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Austral de Chile, Valdivia. La descongelación de las muestras se realiza 4 horas anterior a su análisis en laboratorio. Posteriormente, se procede a las determinaciones de actividad enzimática de GPx (U/gHb) en el Autoanalizador bioquímico Metrolab® 2300. Se utiliza el reactivo para GPx Ransel Randox.

### **4.3.4 Análisis Estadístico**

Los datos se tabulan en Microsoft Excel y se analizan con el software InfoStat. Se realiza estadística descriptiva (promedio, DE) y test Shapiro Willk para la determinación de la normalidad de las muestras. Para la determinación de diferencias en la actividad enzimática de GPx U/gHb de los equinos según edad se utiliza la prueba de T-Student, con una significancia de  $p < 0,05$ ; y en cuanto a la determinación de diferencias en actividad enzimática de GPx U/gHb de los equinos según nivel de entrenamiento se utiliza la prueba de Anova, con una significancia de  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

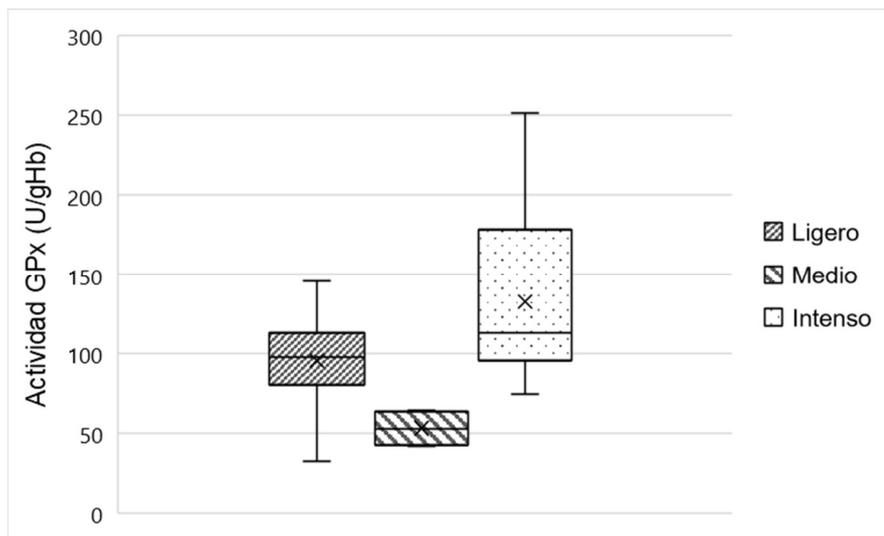
Al evaluar los resultados obtenidos de las muestras sanguíneas según la intensidad de entrenamiento recibida, se puede observar que no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en las actividades de GPx de los equinos de los grupos de entrenamiento A, B y C (Tabla 3 y Figura 1). De igual forma, para las actividades de GPx según el rango etario de los equinos no se evidencian diferencias significativas entre los grupos 1 y 2 ( $p > 0,05$ ) (Tabla 4 y Figura 2).

Tabla 3: Actividad de GPx (U/gHb) en equinos de rodeo de la comuna de Parral según su intensidad de entrenamiento (A ligero, B medio y C intenso).

Intensidad de Entrenamiento	GPx (U/gHb) $\pm$ D.E
A	95,89 $\pm$ 31,49
B	53,50 $\pm$ 11,69
C	119,78 $\pm$ 68,82

Fuente: Autoría propia

Figura 1: Actividad de GPx (U/gHb) en equinos de rodeo de la comuna de Parral según su intensidad de entrenamiento.



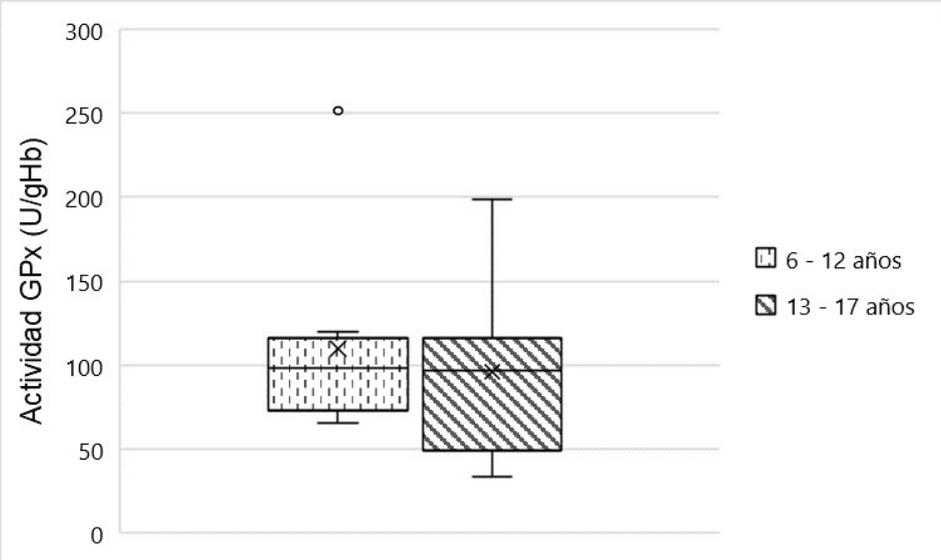
Fuente: Autoría propia

Tabla 4: Actividad de GPx (U/gHb) en equinos de rodeo de la comuna de Parral según su rango etario, grupo 1 (6-12 años) y grupo 2 (13-17 años).

Rango Etario	GPx (U/gHb) ± D.E
1	100,30 ± 61,22
2	96,00 ± 47,32

Fuente: Autoría propia

Figura 2: Actividad de GPx (U/gHb) en equinos según su rango etario, grupo 1 (6-12 años) y grupo 2 (13-17 años).



Fuente: Autoría propia

## 6. DISCUSIÓN

En situaciones que requieren una mayor actividad metabólica, como el crecimiento, el entrenamiento, los procesos inflamatorios y el estrés, se producen mayores demandas de oxígeno, generando grandes cantidades de radicales libres, que son perjudiciales para el organismo. Cuando su producción excede las defensas antioxidantes, entre ellas la GPx, se producen lesiones tisulares, provocando rotura de las membranas celulares (Araya et al., 2004). La actividad de GPx de los glóbulos rojos después de una carrera o ejercicio exigente puede indicar un papel protector de esta enzima en el estrés oxidativo inducido por el ejercicio (Kinnunen et al., 2005).

En relación a la actividad de GPx eritrocítica, autores como Kirschvink et al., (2006) concluyen que el estado oxidante/antioxidante de la sangre de los caballos es influenciado por factores como la raza, el sexo y la edad, ya que sus análisis de correlación sugieren relaciones sinérgicas entre actividad de GPx, vitamina E y Se. Lo que contrasta con las concentraciones de GPx sanguínea obtenidas en el actual estudio, donde no se observan diferencias significativas en la actividad de esta enzima entre equinos de distintas edades e intensidades de entrenamiento.

Estudios realizados en equinos competidores de prueba de resistencia (endurance) destacan que estos suelen pasar meses o incluso años de entrenamiento, lo que da como resultado un aumento de las defensas antioxidantes y evita que los animales experimenten las consecuencias del estrés oxidativo, incluso cuando la intensidad y la distancia de la carrera son exigentes (Siqueira et al., 2014).

Por otra parte, un estudio realizado en 30 caballos cuarto de milla alimentados con concentrados de selenio indica que la actividad muscular GPx aumenta en los equinos no entrenados, pero permanece sin cambios en caballos entrenados (White y Warren, 2017). Lo que se puede relacionar con los resultados de actividad de GPx eritrocítica obtenidos en este estudio, ya que el entrenamiento y adiestramiento de los equinos PRCH que compiten en la disciplina ecuestre del Rodeo Chileno se prolonga por años antes de comenzar su vida competitiva, lo que podría ser un factor indicador de un aumento en las defensas antioxidantes de los equinos muestreados. Sin embargo, esto

se contraponen con las mediciones de marcadores antioxidantes realizadas por De Moffarts et al., (2005), en caballos pura sangre ingleses, donde se demuestra que los equinos entrenados si sufren cambios significativos en los marcadores antioxidantes (GPx) en sangre durante un período de carrera de tres meses.

Mediciones realizadas en equinos de raza pura sangre inglés han llegado a la conclusión que caballos que no se encuentren en entrenamiento pueden llegar a tener concentraciones más altas de Se circulante, sin embargo, la actividad de GPx en plasma, glóbulos rojos y músculo esquelético puede permanecer sin cambios debido a su estado de reposo (White et al., 2016).

Estos resultados nos evidencian que tanto el tipo de actividad realizada por el equino (entrenamiento) como la raza del mismo, son factores que están relacionados con las diferencias existentes en los resultados de GPx obtenidos de estos estudios, sin embargo, es importante tener en cuenta la metodología de estos, ya que se han descrito aumentos en la actividad de GPx de muestras obtenidas inmediatamente después de un ejercicio intenso. Kinnunen et al., (2005) indicó un aumento en la actividad de la enzima en equinos de prueba de resistencia de un 23% después de un recorrido de 80km, lo que nos evidencia la importancia del tiempo en el que se realiza la extracción de las muestras sanguíneas.

En cuanto a la relación entre estrés oxidativo y el rango etario de los equinos, estudios como el de Smarsh y Williams, (2016) demuestra la importancia de la edad y la intensidad del ejercicio en el estado antioxidante de los equinos. También destaca que el entrenamiento aplicado no tuvo un impacto grande en los animales de un año, lo que sugiere que su edad es el mecanismo de defensa más importante contra el estrés oxidativo. Este estudio encontró que los caballos jóvenes en crecimiento tienen menos estrés oxidativo y un mayor estado antioxidante que las yeguas. Sin embargo, las mediciones no contemplaban equinos mayores a 2,1 años.

Asahi et al, (2024) realiza pruebas de entrenamiento y ejercicio en equinos de distintas edades separados por grupos de rangos etarios; Grupo A (adolescente, <10 años), Grupo B (mediana edad, 10 a 16 años) y Grupo C (vejez, >17 años). Sus resultados arrojan que

las concentraciones de malondialdehído (MDA) y proteína amiloide sérica A (SAA) aumentaron con el envejecimiento, mientras que las actividades plasmáticas de aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y GPx no cambiaron.

Es importante destacar que los equinos del actual estudio están siendo suplementados con Se y vitamina E por parte de sus propietarios/cuidadores, sin embargo, los datos arrojan que un 14,3% de ellos se encuentra con una actividad de GPx deficiente, un 42,8% con una actividad baja/marginal, un 28,6% con una actividad marginal y solo un 14,3% con una actividad adecuada de GPx. Deride et al., (2023) realiza mediciones en equinos PRCH en donde obtuvo una correlación negativa entre GPx y Superóxido dismutasa SOD, disminuyendo la GPx a medida que aumenta la SOD. Esto podría explicarse como un efecto compensatorio entre ambas enzimas, aunque queda por determinar si esta compensación se debe a la demanda oxidativa en sangre, ante la cual la GPx podría verse superada mientras la SOD se mantiene estable. Casi la mitad de la población de este estudio tenía una actividad GPx marginal, resultados que se asemejan con los obtenidos en el presente estudio.

El selenio, como componente de GPx, es un nutriente necesario y un antioxidante. La recomendación actual es que los caballos de todas las clases reciban 0,10 mg/kg de materia seca (MS), con un nivel de tolerancia máximo de 5 mg/kg de MS (Karren et al., 2010). Rioseco et al., (2013) destaca la necesidad de suplementar con Se no sólo a los animales que constituyen los grupos de mayor riesgo, sino que también en aquellas épocas del año en que la concentración del mineral es baja, situación que se deduce de una actividad de GPx disminuida. Debido a esto, es de interés evaluar el metabolismo y la correcta administración del selenio en productos y suplementos disponibles en el mercado que ayudan a mantener cantidades ideales de este mineral en el organismo equino y que en ocasiones no son correctamente administrados.

## **7. CONCLUSIONES**

De acuerdo con las mediciones realizadas de los equinos en este estudio, se pudo determinar que la actividad de GPx no se ve influenciada por las distintas intensidades del entrenamiento ni por la edad de los caballos pura raza chilena que practican la disciplina ecuestre del rodeo chileno. Debido a estos resultados obtenidos, se acepta la hipótesis nula planteada anteriormente en este estudio.

## 9. REFERENCIAS

- Araya, O., Urzua, R., y Bustamante, H. (2004). Efecto del selenato de bario inyectable sobre la actividad de Glutathion peroxidasa en caballos a pastoreo. *Archivos de medicina veterinaria*, 36(1), 31-37. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2004000100003>
- Arias, L., Mejía, N., Sánchez, C., Peláez, C. y Marquez, A. (2004). Actividad de la aspartato aminotransferasa y la creatinkinasa y su relación con la actividad de la glutatión peroxidasa en caballos Pura Sangre Inglés, antes y después de una carrera de 1100metros. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 17(2), 134-140.
- Asahi, Y., Arai, T., y Tanaka, Y. (2024). Changes in plasma metabolite concentrations and enzyme activities in aging riding horses. *Frontiers of veterinary science*, 11, 1345548. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1345548>
- Avery, J. y Hoffmann, P. (2018). Selenium, Selenoproteins, and Immunity. *Nutrients*, 10(9), 1203. <https://doi.org/10.3390/nu10091203>
- Bazzano, M., McLean, A., Tessei, B., Gallina, E. y Laus, F. (2019). Selenium and Vitamin E Concentrations in a Healthy Donkey Population in Central Italy. *Journal of equine veterinary science*, 39, 112–116. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.04.003>
- Brummer, M., Hayes, S., Dawson, K. y Lawrence, L. (2013). Measures of antioxidant status of the horse in response to selenium depletion and repletion. *Journal of animal science*, 91(5), 2158–2168. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5794>
- Brummer, M., Ringler, J, Parks, AG, Hayes, S., Adams, A, Horohov, D y Lawrence, L. (2009). Estado de selenio y función inmune equina. *Revista de ciencia veterinaria equina*, 29(5), 362-363.
- Calamari, L., Ferrari, A. y Bertin, G. (2009). Effect of selenium source and dose on seleniumstatus of mature horses. *Journal of animal science*, 87(1), 167–178. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0746>
- Camini, F., da Silva Caetano, C., Almeida, L., da Costa Guerra, J., de Mello Silva, B.,

- de Queiroz Silva, S., de Magalhães, J., y de Brito Magalhães, C. (2017). Oxidative stress in Mayaro virus infection. *Virus research*, 236, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.04.017>
- Ceballos, A., Wittwer, F., Andaur, M. y Böhmwald, H. (1998). Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa en equinos del sur de Chile mantenidos en pastoreo. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 30(1), 339-340. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1998000100002>
- Ceballos, M. (2012). Glutathione Peroxidase and Superoxide Dismutase activities in blood and seminal plasma in colombian stallions/Actividad de la Glutatión Peroxidasa y la Superóxido Dismutasa en sangre y plasma seminal en caballos colombianos/Atividade das enzimas antioxidantes: glutatión peroxidase e superóxido dismutase no sangue e plasma em cavalos colombiano. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(1), 64.
- Chihuailaf, R., Contreras, P., y Wittwer, F. (2002). Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. *Veterinaria México*, 33(3), 265-283.
- Contreras, P., Wittwer, F., Matamoros, R., Mayorga, I. y Schaik, G. (2005). Effect of grazing pasture with a low selenium content on the concentrations of triiodothyronine and thyroxine in serum, and GSH-Px activity in erythrocytes in cows in Chile. *New Zealand Veterinary Journal*, 53(1), 77-80. doi: 10.1080/00480169.2005.36472.
- Contri, A., De Amicis, I., Molinari, A., Faustini, M., Gramenzi, A., Robbe, D. y Carluccio, A. (2011). Effect of dietary antioxidant supplementation on fresh semen quality in stallion. *Theriogenology*, 75(7), 1319–1326. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.12.003>
- Corrales, L., y Muñoz Ariza, M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*, 10(18), 213-225. <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.1010>.
- De la Cruz, E., Ortega, J., Conteras, M., Alonso, M., y Abad, J. (2008). Micronutrientes antioxidantes y actividad física: evidencias de las necesidades de ingesta a partir de las nuevas tecnologías de evaluación y estudio del estrés oxidativo

en el deporte. *Retos: nuevas tendencias en educación física, deporte y recreación*, (13), 11-14. <https://doi.org/10.47197/retos.v0i13.35021>.

De Moffarts, B., Kirschvink, N., Art, T., Pincemail, J. y Lekeux, P. (2005). Efecto de la suplementación con antioxidantes orales sobre el estado de antioxidantes en sangre en caballos de pura sangre entrenados. *La revista veterinaria*, 169(1), 65–74. doi:10.1016/j.tvjl.2003.12.012

Deride, C., Chihuailaf, R., Arnés, V., Morán, G., y Uberti, B. (2023). Relationship between selenium, copper, zinc and their biomarkers in blood and skeletal muscle tissue in adult horses from southern Chile. *Journal of Equine Veterinary Science*, 128, 104881. doi: 10.1016/j.jevs.2023.104881.

Effraimidis, G. y Wiersinga, W. (2014). Mechanisms in endocrinology: autoimmune thyroid disease: old and new players. *European journal of endocrinology*, 170(6), R241–R252. <https://doi.org/10.1530/EJE-14-0047>

Ferguson, L. y Karunasinghe, N. (2011). Nutrigenetics, nutrigenomics, and selenium. *Frontiers in genetics*, 2, 15. <https://doi.org/10.3389/fgene.2011.00015>

Hatfield, D., Tsuji, P., Carlson, B. y Gladyshev, V. (2014). Selenium and selenocysteine: roles in cancer, health, and development. *Trends in biochemical sciences*, 39(3), 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2013.12.007>

Hosnedlova, B., Kepinska, M., Skalickova, S., Fernandez, C., Ruttkay-Nedecky, B., Malevu, T., Sochor, J., Baron, M., Melčová, M., Zídková, J. y Kizek, R. (2017). A Summary of New Findings on the Biological Effects of Selenium in Selected Animal Species—A Critical Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), 2209. <https://doi.org/10.3390/ijms18102209>

Huerta, M., Ortega, M., Cobos, M., Herrera, A., y Guinzberg, R. (2005). Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *Interciencia*, 30(12), 728-734.

Karren, B., Thorson, J., Cavinder, C., Hammer, C., y Coverdale, J. (2010). Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals: selenium concentrations and glutathione peroxidase. *Journal of animal science*, 88(3), 991–997. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1743>

- Kinnunen, S., Atalay, M., Hyyppä, S., Lehmuskero, A., Hänninen, O. y Oksala, N. (2005). Effects of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horse. *Journal of sports science & medicine*, 4(4), 415–421.
- Kirkham, P. y Rahman, I. (2006). Oxidative stress in asthma and COPD: antioxidants as a therapeutic strategy. *Pharmacology & therapeutics*, 111(2), 476–494. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.10.015>
- Kirschvink, N., Moffarts, B., Farnir, F., Pincemail, J. y Lekeux, P. (2006). Investigación de marcadores oxidantes/antioxidantes en sangre en caballos sanos de competición de diferentes razas. *Revista veterinaria equina*, 38(S36), 239–244. doi:10.1111/j.2042-3306.2006.tb05546.x
- Lawrence, L. (2008). Nutrient needs of performance horses. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37, 206-210. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008001300024>
- Lekeux, P. y Kirschvink, N. (2009). Antioxidants and horse health. *Current Therapy in Equine Medicine*; Saunders: St. Louis, MO, USA, 73-78.
- McMurray, C., Rice, D. y Kennedy, S. (1983). *Experimental Models for Nutritional Myopathy. In Ciba Foundation Symposium 101 - Biology of Vitamin E* (eds R. Porter y J. Whelan). <https://doi.org/10.1002/9780470720820.ch13>
- Ostalowska, A., Birkner, E., Wiecha, M., Kasperczyk, S., Kasperczyk, A., Kapolka, D. y Zon-Giebel, A. (2006). Peroxidación lipídica y enzimas antioxidantes en el líquido sinovial de pacientes con osteoartritis primaria y secundaria de la articulación de la rodilla. *Osteoarthritis y cartilago*, 14(2), 139-145. doi: 10.1016/j.joca.2005.08.009.
- Pitel, M., McKenzie, E., Johns, J. y Stuart, R. (2020). Influence of specific management practices on blood selenium, vitamin E, and beta-carotene concentrations in horses and risk of nutritional deficiency. *Journal of veterinary internal medicine*, 34(5), 2132–2141. <https://doi.org/10.1111/jvim.15862>
- Powers, S., Duarte, J., Kavazis, A., y Talbert, E. (2010). Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. *Experimental physiology*, 95(1), 1–9. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.050526>
- Randox. (1990). *Ransel: Glutathione peroxidase. Technical brief. Randox*

Laboratories. Ltd. Crumlin, UK

- Rayman M. (2004). The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up?. *The British journal of nutrition*, 92(4), 557–573. <https://doi.org/10.1079/bjn20041251>
- Rioseco, M., Noro, M., Ricardo Chihuailaf, V. y Wittwer, F. (2013). Selenium metabolic status and response to supplementation in grazing Chilean-Criollo horses. *Revista MVZ Córdoba*, 18(3), 3822-3828.
- Siqueira, R., Weigel, R., Nunes, G., Mori, C., y Fernandes, W. (2014). Perfiles oxidativos de caballos de resistencia que corren en diferentes distancias. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 66, 455-461. <https://doi.org/10.1590/1678-41625760>.
- Smarsh, D. y Williams, C. (2016). Estrés oxidativo y estado antioxidante en Standardbreds: efecto de la edad y el ejercicio agudo antes y después del entrenamiento. *Revista de Ciencia Veterinaria Equina*, 47, 92–106. doi:10.1016/j.jjevs.2016.07.019
- Streeter, R., Divers, T., Mittel, L., Korn, A. y Wakshlag, J. (2012). Selenium deficiency associations with gender, breed, serum vitamin E and creatine kinase, clinical signs and diagnoses in horses of different age groups: a retrospective examination 1996- 2011. *Equine veterinary journal. Supplement*, (43), 31–35. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00643.x>
- Surai, P. (2003). *Selenium-vitamin E interactions: Does 1+ 1 equal more than 2. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries* (TP Lyons and KA Jacques, eds.) Nottingham University Press, Nottingham, UK, 47-51.
- Surai, P. (2006). *Selenio en la nutrición de rumiantes. Selenio en Nutrición y Salud*. Nottingham University Press, Nottingham, Reino Unido , 487-587.
- Tan, R., Thatcher, C., Buechner-Maxwell, V., Christmann, U., Crisman, M. y Werre, S. (2010). Measurement of ascorbic acid concentration and glutathione peroxidase activity in biological samples collected from horses with recurrent airway obstruction. *American journal of veterinary research*, 71(12), 1500–1507. doi: 10.2460/ajvr.71.12.1500.
- Tapia, J. (2013). Balance metabólico nutricional de selenio y variaciones estacionales

de glutación peroxidasa en equinos de la zona sur de Chile entre los años 2004 a 2011. [Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar al título de Médico Veterinario, Universidad Austral de Chile]. Base de datos. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fvt172b/doc/fvt172b.pdf>

White, S. y Warren, L. (2017). El entrenamiento con ejercicio submáximo, más que la suplementación dietética con selenio, mejora el estado antioxidante y mejora el daño oxidativo inducido por el ejercicio al músculo esquelético en atletas equinos jóvenes. *Revista de ciencia animal*, 95(2), 657-670. doi: 10.2527/jas.2016.1130.

White, S., Johnson, S., Bobel, J. y Warren, L. (2016). Dietary selenium and prolonged exercise alter gene expression and activity of antioxidant enzymes in equine skeletal muscle. *Journal of Animal Science*, 94(7), 2867–2878. doi:10.2527/jas.2016-0348

Williams, C. (2016). El efecto del estrés oxidativo durante el ejercicio en el caballo. *Revista de ciencia animal*, 94(10), 4067–4075. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9988>

Williams, C. y Burk, A. (2012). Antioxidant status in elite three-day event horses during competition. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/572090>

Wittwer, F., Araneda, P., Ceballos, A., Contreras, P., Andaur, M. y Bohmwald, H. (2002). Actividad de glutación peroxidasa (GSH-Px) en sangre de bovinos a pastoreo de la IX Región, Chile y su relación con la concentración de selenio en el forraje. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 34(1), 49-57. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2002000100005>.

## 9. ANEXOS

Anexo 1: Prueba de Shapiro Wilks realizada en todos los resultados de actividades de GPx (U/gHb) señala que esta variable presenta una distribución normal.

### Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
GPx	22	97,95	52,76	0,91	0,1309

Anexo 2: Prueba de Anova realizada en resultados de actividades de GPx (U/gHb) en equinos según su intensidad de entrenamiento recibido, en la cual se señaló que no existen diferencias significativas de actividad de GPx de los grupos A, B y C (1,2 y 3).

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
GPx	22	0,21	0,13	50,36

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12229,51	2	6114,76	2,51	0,1076
Entrenamiento	12229,51	2	6114,76	2,51	0,1076
Error	46233,44	19	2433,34		
Total	58462,95	21			

Anexo 3: Prueba de T-Student realizada en resultados de actividades de GPx (U/gHb) en equinos de rango etario 1 y 2.

### Prueba T para muestras Independientes

Clasific	Variable	Grupo 1	Grupo 2	n(1)	n(2)	Media(1)	Media(2)	Media(1)-Media(2)	LI(95)	LS(95)	pHomVar	T	p-valor	prueba
Etario	GPx	{1}	{2}	10	12	100,30	96,00	4,30	-43,95	52,55	0,4155	0,19	0,8544	Bilateral

Anexo 4:

### **CONSENTIMIENTO PARA TOMA DE MUESTRAS**

Yo .....autorizo al estudiante de medicina veterinaria Claudio Benavente Kühnert y al médico veterinario Dr. Javier Neumann Vásquez para la realización de tomade muestras sanguíneas de los equinos seleccionados para el estudio de memoria para titulación en la Universidad San Sebastián, conociendo los riesgos precauciones de dichaactividad.

---

**Firma del Propietario**

Anexo 5: Protocolo de uso y cuidados de animales

<b>Código asignado por el Comité</b>	
<b>Fecha envío Versión 1</b>	<b>11/12/2023</b>
<b>Versión (marcar con X)</b>	<b>1 X    2    3    4    Otra:</b>
<b>Fecha envío (formato xx/xx/xxxx)</b>	

<b>Fecha aprobación (formato xx/xx/xxxx)</b>	<b>11/12/2023</b>
<b>Versión aprobada</b>	<b>1</b>

**1. ANTECEDENTES ADMINISTRATIVOS**

<b>1.1 Título del proyecto/ protocolo/ actividad:</b>
<b>ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE GLUTATIÓN PEROXIDASA EN EQUINOS PURA RAZA CHILENA EN ACTIVIDAD DE ENTRENAMIENTO</b>
<b>1.2 Fuente de Financiamiento(s) y número asignado por la agencia en caso que corresponda</b>
Particular
<b>1.3 Indicar si esta investigación es: proyecto piloto; unidad de investigación/ tesis de pregrado/ doctorado/ magister/ docencia/extensión/ demostración (etc.):</b>
Tesis de pregrado
<b>1.4 Otras instituciones participantes (ejemplo: INACH, industria, otras universidades, identificación del predio, clínica veterinaria, etc.)</b>
Universidad San Sebastian

**1.5 EQUIPO** (copie y pegue la tabla tantas veces como sea necesario).

Si planea reclutar personal, pero aún no lo ha hecho, identifíquelo como NN e indique qué capacitación debería tener. Recuerde que toda nueva inclusión de personal deber ser informada al comité mediante una enmienda antes de que la persona comience su trabajo con animales.

<b>Nombre</b>	<b>Claudio Lukas Benavente Kühnert</b>
<b>Institución</b>	<b>Universidad San Sebastian</b>
<b>Email</b>	<b>cbenaventek@correo.uss.cl</b>
<b>Categoría académica si corresponde</b>	<b>Estudiante</b>
<b>Rol en este proyecto (marque con una X el rol o roles que corresponda)</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> Profesor guía	<input checked="" type="checkbox"/> Académico Responsable USS

✓ <input type="checkbox"/> Investigador principal ✓ <input type="checkbox"/> Lab manager ✓ <input type="checkbox"/> Personal técnico o profesional ✓ <input type="checkbox"/> Profesional externo	✓ <input type="checkbox"/> Tesista doctorado ✖✓ <input type="checkbox"/> Tesista de pre-grado ✓ <input type="checkbox"/> Estudiante de pre o postgrado ✓ <input type="checkbox"/> Otro	
<b>Capacitación formal en Ética Animal</b> Marcar con X dentro del cuadrado:	<b>SI</b> (Adjunte certificado) <input type="checkbox"/>	<b>NO</b> <input checked="" type="checkbox"/>
<b>Función y técnicas a realizar en este protocolo</b> (ej: Alimentación, cirugía, estudios de comportamiento, etc.) Indicar N/A si <b>no realizará manejo animal</b> directamente y pase al punto 1.6		
<b>Toma manual de muestras sanguíneas, mediante punción yugular en equinos.</b>		
<b>Experiencia previa en manejo animal.</b> Marcar con X dentro del cuadrado e indique	<b>SI (indicar)</b> <input type="checkbox"/> - Quién lo capacitó? - Años de experiencia en las funciones - técnicas a realizar en este protocolo	
	<b>NO (indicar)</b> <input checked="" type="checkbox"/> - quién lo capacitara en las funciones - técnicas a realizar en este protocolo:	

<b>Nombre</b>	<b>Javier Neumann Vásquez</b>	
<b>Institución</b>	<b>Universidad San Sebastián</b>	
<b>Email</b>	<b>cbenaventek@correo.uss.cl</b>	
<b>Categoría académica si corresponde</b>		
<b>Rol en este proyecto (marque con una X el rol o roles que corresponda)</b>		
✖✓ <input type="checkbox"/> Profesor guía ✓ <input type="checkbox"/> Investigador principal ✓ <input type="checkbox"/> Lab manager ✓ <input type="checkbox"/> Personal técnico o profesional ✓ <input type="checkbox"/> Profesional externo	✖✓ <input type="checkbox"/> Académico Responsable USS ✓ <input type="checkbox"/> Tesista doctorado ✓ <input type="checkbox"/> Tesista de pre-grado ✓ <input type="checkbox"/> Estudiante de pre o postgrado ✓ <input type="checkbox"/> Otro	
<b>Capacitación formal en Ética Animal</b> Marcar con X dentro del cuadrado:	<b>SI</b> (Adjunte certificado) <input checked="" type="checkbox"/>	<b>NO</b> <input type="checkbox"/>

<b>Función y técnicas a realizar en este protocolo</b> (ej: Alimentación, cirugía, estudios de comportamiento, etc.) Indicar N/A si no realizará manejo animal directamente y pase al punto 1.6		
<b>Toma manual de muestras sanguíneas, mediante punción yugular en equinos.</b>		
<b>Experiencia previa en manejo animal.</b> Marcar con X dentro del cuadrado e indique	<b>SI (indicar)</b> <input type="checkbox"/> <b>X</b> - Quién lo capacitó? - Años de experiencia en las funciones - técnicas a realizar en este protocolo	
	<b>NO (indicar)</b> <input type="checkbox"/> - quién lo capacitará en las funciones - técnicas a realizar en este protocolo:	

<b>1.6 EN CASO DE UNA EMERGENCIA CON LOS ANIMALES EN HORARIO NO LABORAL AVISAR A:</b>	
<b>Nombre:</b>	<b>Teléfono:</b>
<b>Nombre:</b>	<b>Teléfono:</b>

**1. PROPÓSITOS Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

<b>2.1 FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA:</b> Señale de qué se trata el proyecto, indique el modelo animal y la relevancia principal. (250 palabras)
<p>La enzima glutatión peroxidasa (GPx) es la enzima encargada de proteger al organismo del daño oxidativo destruyendo los peróxidos, superóxidos y radicales hidroxilicos, nocivos para la integridad celular y producidos durante el ejercicio. La actividad de esta enzima GPx se relaciona directamente con las concentraciones de selenio (Se) en sangre, ya que este oligoelemento forma parte de su estructura molecular teniendo esta enzima 4 átomos de Se en su estructura, debido a esto la presencia de Se en el organismo es fundamental en equinos dedicados a la alta competencia. En Chile existe poca información acerca de las concentraciones de sanguíneas de Se y como estas se relacionan con el estrés oxidativo de los equinos atletas.</p>

Equinos pura raza chilena (PRCH), que practiquen la disciplina del rodeo chileno y estén en entrenamiento al momento de la toma de muestras

**Criterios de exclusión**

- Equinos menores de 6 años
- Equinos mayores de 17 años
- Equinos en mal estado general
- Equinos que no se encuentren en entrenamiento
- Equinos indóciles
- Yeguas preñadas

Se utilizarán un total de 30 equinos sin distinción de sexo, clasificados dentro de los criterios de inclusión mencionados anteriormente. Se tomarán las muestras de sangre de los equinos antes de que sean entrenados ya que de esta manera no habrá alteraciones en sus parámetros sanguíneos. Debido a que se trabajará con muestras sanguíneas, se solicitará completar un formulario de ética a los propietarios de los equinos en estudio.

Los equinos serán separados en 3 grupos de acuerdo a la frecuencia del entrenamiento que estén recibiendo: Grupo A para equinos que estén comenzando su entrenamiento y/o que no reciban un entrenamiento diario, Grupo B para equinos que estén en constante entrenamiento (diariamente) y Grupo C correspondiente a equinos que se encuentren en constante entrenamiento y compitiendo en rodeos al momento de la toma de muestras. También se separarán en 2 grupos de acuerdo con la edad de los equinos: Grupo 1 para equinos entre 6 y 12 años, Grupo 2 para equinos entre 13 y 17 años.

Los equinos de este estudio serán muestreados una vez, antes de comenzar su entrenamiento.

Las muestras de sangre serán extraídas mediante venopunción yugular, de la cual se obtendrán 5ml de sangre de cada equino, posteriormente serán almacenadas en tubos lila (EDTA) con anticoagulante para ser transportadas.

Los datos se tabularán en Microsoft Excel y se analizarán con el software InfoStar. Para determinar las diferencias que existan entre las concentraciones de GPx de los equinos se utilizará la prueba de T Student.

**3.3 DETALLE DE ANIMALES A UTILIZAR POR OBJETIVO ESPECÍFICO (OE)**

Indique el número de animales a utilizar según especie, cepa, peso, sexo y estado de desarrollo. Verifique que sea coherente con el diagrama de flujo.

OE1	Especie/ Cepa:	Edad/ estado desarrollo	Peso	Sexo	Número
-----	-------------------	----------------------------	------	------	--------

	<b>Equino</b>	<b>6-17 años</b>	<b>NO APLICA</b>	<b>NO APLICA</b>	<b>30</b>
	<b>Estado de conservación de la especie en Chile</b> (en peligro / vulnerable/rara/N/A) (revisar <a href="#">Ley de caza</a> y <a href="#">clasificación de especies del Ministerio de Medio Ambiente</a> )		<b>Requiere Autorización SAG/ Sernapesca/otro (Si/No)</b>		
	<b>NO APLICA</b>		<b>NO</b>		
<b>OE 2</b>	<b>Especie/ Cepa:</b>	<b>Edad/ estado desarrollo</b>	<b>Peso</b>	<b>Sexo</b>	<b>Número</b>
	<b>Equino</b>	<b>6-17 años</b>	<b>NO APLICA</b>	<b>NO APLICA</b>	<b>30</b>
	<b>Estado de conservación de la especie en Chile</b> (en peligro / vulnerable/rara/N/A) (revisar <a href="#">Ley de caza</a> y <a href="#">clasificación de especies del Ministerio de Medio Ambiente</a> )		<b>Requiere Autorización SAG/ Sernapesca/otro (Si/No)</b>		
	<b>NO APLICA</b>		<b>NO</b>		

### 3.4 JUSTIFICACIÓN DEL NÚMERO DE ANIMALES

Justifique número de animales (n) a utilizar, incluya el cálculo del tamaño muestral, incluyendo la/s fórmula/s, valores de variables para el cálculo y fundamente si es que existe una excepción. Considere si tendrá un porcentaje de pérdida de animales y justifique.

Puede apoyarse en <https://www.nc3rs.org.uk/experimental-design-assistant-eda>

Se seleccionara un numero de 30 equinos mediante el criterio por conveniencia que incluyen los puntos de inclusión y exclusión:

#### **Criterios de inclusión**

Equinos que hayan sido suplementados con selenio inyectable u oral

Equinos adultos sin distinción de sexo (mayores de 6 años y menores de 17)

Equinos de pertenecientes a la comuna de Parral

Equinos clínicamente sanos

Equinos pura raza chilena (PRCH), que practiquen la diciplina del rodeo chileno y estén en entrenamiento al momento de la toma demuestras.

#### **Criterios de exclusión**

Equinos menores de 6 años

Equinos mayores de 17 años

Equinos en mal estado general

Equinos que no se encuentren en entrenamiento  
 Equinos indóciles  
 Yeguas preñadas.

#### SECCIÓN 4. DETALLE DEL USO DE ANIMALES

<b>4.1 ORIGEN DE LOS ANIMALES (identifique el origen de los animales)</b>	
Criaderos Quillaimo, Acampao, Doña Erika, San Eugenio y Los Mines, en la comuna de Parral.	
<b>4.2 MANTENCIÓN DE LOS ANIMALES:</b>	
Lugar de mantención durante el desarrollo del estudio	Criaderos Acampao, Santa Erika, Los Mines, en la comuna de Parral.
Encargado del lugar de mantención (Nombre y correo electrónico)	Erasmus Benavente Claudio Benavente Gonzalo Contreras
¿Se utilizará enriquecimiento ambiental? Descríbalo o justifique la no utilización	NO APLICA
Características del lugar de mantención: Densidad animal, área disponible por animal, tipo de comida, disponibilidad de agua, etc. Condiciones de temperatura, humedad y fotoperíodo	Criaderos de caballos pura raza chilena que cumplen con condiciones óptimas de estabilización ambiental.
Lugar de procedimientos y su ubicación física	Criadero Acampao, Comuna de Parral, Maule, Chile.
Método(s) de Identificación del animal	Mediante la edad y sexo del animal.
En caso de transporte de los animales, describa las condiciones en que se realizará el movimiento de estos y la duración del viaje.	NO APLICA

## SECCIÓN 5. PROCEDIMIENTOS A REALIZAR CON LOS ANIMALES

### 5.1 PROCEDIMIENTOS NO QUIRÚRGICOS

Detalle los procedimientos NO QUIRÚRGICOS, incluyendo aquellos realizados bajo anestesia.

Ejemplos: administración de sustancias, obtención de muestras, métodos de sujeción o inmovilización, etc.

Indicar en detalle las vías de administración, de obtención de muestras, características del material a utilizar, frecuencia, volumen, etc.

La extracción de las muestras sanguíneas se realizará antes del comienzo del entrenamiento de los equinos para no interrumpir este. Se utilizarán métodos de sujeción si se llegaran a necesitar.

La vía de obtención de la muestra será mediante punción yugular. Se contemplara un volumen de 3 a 5 ml de sangre por equino.

### 5.2 PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS

Escriba aquí el detalle de los procedimientos quirúrgicos a realizar:

NO APLICA

a) Indique las medidas de apoyo intraoperatorio. Marcar con una X.	Suero	Ungüento oftálmico
	Calor (indique cómo lo proporcionará):	
	Otro (indique):	
b) Métodos de asepsia durante la cirugía:	NO APLICA	

c) Condiciones del lugar donde se efectuará el procedimiento quirúrgico.

NO APLICA

d) Si el o los procedimientos(s) quirúrgico(s) incluye(n) supervivencia del animal, defina la duración y cuidado del periodo postoperatorio inmediato y mediato. Indique la frecuencia de los cuidados. Identifique a la persona responsable.

NO APLICA

## SECCIÓN 6. BIENESTAR ANIMAL

### 6.1 IMPACTO EN EL BIENESTAR ANIMAL

¿Se espera que los procedimientos no-quirúrgicos o quirúrgicos tengan un impacto negativo en el bienestar animal que pueda ser reducido a través de un manejo adecuado?

Explique el manejo adecuado según el impacto esperado

La extracción de las muestras sanguíneas se realizara antes del comienzo del entrenamiento de los equinos para no interrumpir este. Se utilizaran métodos de sujeción si se llegaran a necesitar.

### 6.2 SUPERVISIÓN

Indique frecuencia y periodo de supervisión de los animales en caso de ser requerido. Recuerde esta información también debe quedar establecida en la pauta de supervisión, ficha clínica o de hospitalización de los animales.

NO APLICA

¿Anexa la (s) pauta(s) de supervisión de los animales o no aplica?, marcar con una X

Recuerde esta pauta deberá ser ESPECÍFICA, es decir, aplicable al procedimiento al que se va a someter cada animal. (ver ejemplo)

	SI
X	NO
	N/A

### 6.3 ANESTESIA Y ANALGESIA

Indique los compuestos que utilizará para inducir anestesia, analgesia y otros cuidados paliativos, es decir, incluya antiinflamatorios, tranquilizantes y sedantes. En caso de que utilice compuestos para revertir el efecto de la anestesia, inclúyalo.

Detallar nombre del compuesto, dosis, vía de administración y frecuencia

NO APLICA

## SECCIÓN 7. FINAL

Si el estudio implica un procedimiento que debido a su naturaleza podría tener que interrumpirse, si el estudio implica eutanasia o el procedimiento quirúrgico está asociado a la posibilidad de tener que eutanasiar al animal, debe completar las siguientes tablas:

### 7.1. CRITERIOS INTERRUPTIÓN CON SOBREVIVENCIA

Describa el o los criterios para interrupción del trabajo con animales y los indicadores que permitirán una sobrevivencia en condiciones de bienestar adecuadas

NO APLICA

### 7.2. CRITERIOS Y MÉTODOS DE EUTANASIA COMO PUNTO FINAL HUMANITARIO o FINAL DEL ESTUDIO

Describa el o los criterios para interrupción del trabajo con animales que indicarían la eutanasia y los métodos correspondientes (método, compuesto, dosis y vía)

NO APLICA

Puede ingresar a link: [AVMA Euthanasia 2020](#). (American Veterinary Medical Association Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition) y consultar los métodos aceptados por especie.