

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

Memoria de Título

**REVISIÓN META-ANALÍTICA DEL EFECTO DE SELENIO ORGÁNICO SOBRE
LA RETENCIÓN A NIVEL MUSCULAR Y LA ACTIVIDAD DE GLUTATIÓN
PEROXIDASA EN PECES.**

ANA KARINA MORENO ACHURRA

Santiago, Chile

2012

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

Memoria de Título

**REVISIÓN META-ANALÍTICA DEL EFECTO DE SELENIO ORGÁNICO SOBRE
LA RETENCIÓN A NIVEL MUSCULAR Y LA ACTIVIDAD DE GLUTATIÓN
PEROXIDASA EN PECES**

**META-ANALYTIC REVIEW OF THE ORGANIC SELENIUM, EFFECT ON
RETENTION AT MUSCLE LEVEL AND GLUTATHIONE PEROXIDASE
ACTIVITY IN FISH**

ANA KARINA MORENO ACHURRA

Santiago, Chile

2012

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

Memoria de Título

**REVISIÓN META-ANALÍTICA DEL EFECTO DE SELENIO ORGÁNICO SOBRE
LA RETENCIÓN A NIVEL MUSCULAR Y LA ACTIVIDAD DE GLUTATIÓN
PEROXIDASA EN PECES.**

**Memoria para optar al Título Profesional de
Ingeniera Agrónoma**

ANA KARINA MORENO ACHURRA

	Calificaciones
PROFESORES GUÍAS	
Sra. Susana Muñoz M. Ingeniera Agrónoma M. Sc.	7,0
Sr. Jurij Wacyk G. Ingeniero Agrónomo Ph. D.	6,5
PROFESORES EVALUADORES	
Sr. Cristián Araneda T. Biólogo. Dr. Cs. Biomédicas	6,0
Sr. Elías Obreque S. Ingeniero Agrónomo	6,5

Santiago, Chile

2012

A mi familia...

Gabriel, Inés y Claudia.

AGRADECIMIENTOS

Luego del gran esfuerzo y dedicación en la realización de esta memoria de título, no quisiera dejar de expresar mis sinceras palabras de agradecimiento, a aquellas personas que estuvieron y fueron parte de la realización de este trabajo, tanto fuera como dentro de él, las cuales estuvieron a mi lado en todo momento.

En primera instancia, quisiera agradecer a mis Profesores guías, la Sra. Susana Muñoz M. y el Sr. Jurij Wacyk G., a quienes les agradezco haber participado de este trabajo, entregándome todos sus conocimientos, buena voluntad y apoyo en todo momento. Quisiera agradecer de igual forma, a mi Profesor Evaluador y Asesor Estadístico el Sr. Cristián Araneda T., por su buena disposición al aportar todos sus conocimientos para el buen desarrollo de esta memoria.

No quisiera perder la oportunidad de agradecer a la Sra. Patricia Bulboa, administrativa del Departamento de Producción Animal, por entregarme siempre su carisma con una sonrisa y alentándome a seguir a pesar de las circunstancias.

A mi querida familia, a quienes está dedicado este trabajo, pues sin su cariño y apoyo constante, todo esto no habría sido posible. Gracias papá y mamá por su ejemplo de perseverancia, sacrificio, esfuerzo, amor y por brindarme la oportunidad de llegar tan lejos en la vida, entregándome su mayor logro, mi educación. Gracias “hermanis” por la comprensión, alegría y tolerancia entregada en todo momento, y por el sacrificio hecho de ayudarme en cada ocasión necesitada, aun cuando tu trabajo y estudios estaban de por medio. Quisiera agradecer también, a mi prima Carola, por su alegría y sus buenos consejos, que a pesar de no estar involucrada directamente en la realización de mi memoria, si lo estuvo en los momentos difíciles, dándome sus buenas vibras y cariño.

Finalmente, quisiera extender mis agradecimientos y reconocimiento a mis amigos, Vane, Vero, Javi, Vale, Harry y Pipe, quienes han estado a mi lado de una u otra manera, impulsándome a seguir adelante y aconsejándome en los momentos oportunos y complejos, brindándome siempre una sonrisa.

A todos ustedes, muchas gracias.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Hipótesis.....	8
Objetivo.....	8
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Materiales.....	9
Métodos.....	10
Etapas del meta-análisis.....	10
Búsqueda de la literatura.....	10
Localización de los estudios de investigación.....	10
Criterios de inclusión y exclusión de los estudios.....	10
Evaluación de la calidad del contenido de los estudios incluidos.....	11
Índice del tamaño del efecto.....	11
Modelo de Efectos fijos (d^{\cdot}).....	12
Contrastes de homogeneidad de las estimaciones del tamaño del efecto (Q).....	13
Ajuste de un modelo categórico (Q_b).....	13
Cuantificación de la heterogeneidad existente (I^2).....	14
Representación gráfica <i>Forest Plot</i>	14
Análisis de sensibilidad.....	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
Localización de las Fuentes de Información.....	16
Criterios de Inclusión y Exclusión de los Estudios.....	16
Evaluación de la Calidad del Contenido de los Estudios Incluidos.....	17
Índice del Tamaño del Efecto.....	19
Modelo de Efectos Fijos (d^{\cdot}).....	21
Intervalo de Confianza (IC).....	21
Contrastes de homogeneidad de las estimaciones del tamaño del efecto (Q).....	22

Ajuste de un modelo Categórico (Q_b)	23
Cuantificación de la heterogeneidad (I^2)	25
Representación gráfica <i>Forest Plot</i>	26
Análisis de Sensibilidad	29
CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	38
APÉNDICES	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Criterios de inclusión y exclusión de los estudios del meta-análisis.....	10
Cuadro 2. Asignación de puntuaciones de los estudios incluidos	18
Cuadro 3. Índice del tamaño del efecto para retención de selenio a nivel muscular de peces.....	19
Cuadro 4. Índice del tamaño del efecto para actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático de peces.....	20
Cuadro 5. Índice del tamaño del efecto para actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces.....	20
Cuadro 6. Estimación global o modelo de efectos fijos.....	21
Cuadro 7. Contraste de homogeneidad para cada variable estudiada.....	22
Cuadro 8. Ajuste categórico de cada variable	23
Cuadro 9. Cuantificación de la heterogeneidad.. ..	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico <i>Forest Plot</i> para retención de selenio a nivel muscular de peces.....	26
Figura 2. Gráfico <i>Forest Plot</i> para Actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático de peces.....	27
Figura 3. Gráfico <i>Forest Plot</i> para Actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces.....	28
Figura 4. Análisis de sensibilidad para la variable retención de selenio a nivel muscular de peces.....	29
Figura 5. Análisis de sensibilidad para la variable actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces.....	30

RESUMEN

El selenio es un mineral traza esencial en la nutrición animal, y posee funciones importantes relacionadas con el sistema antioxidante del organismo. Actualmente los mercados se encuentran dirigidos a una producción más limpia y que implique menores costos para su obtención. Es por esto que surge la idea de suplementar las dietas de peces con selenio orgánico, ya que aumenta su absorción y retención, conllevando con ello un aumento en la biodisponibilidad del mineral.

Para evaluar esto, se realizó un meta-análisis, el cual permitió contrastar los resultados obtenidos por siete autores en relación a la suplementación de selenio orgánico en la alimentación de peces y su efecto en la retención de este mismo a nivel muscular y la actividad de la enzima glutatión peroxidasa a nivel plasmático y hepático.

Los resultados obtenidos de los estudios fueron llevados a una métrica común mediante el cálculo del índice del tamaño del efecto. A partir de él, se obtuvo la estimación del efecto global (d), con valores de 2,279, 1,085 y 1,884 para las variables, retención de selenio a nivel muscular, actividad de la enzima glutatión peroxidasa a nivel plasmático y actividad de la enzima glutatión peroxidasa a nivel hepático respectivamente, siendo este efecto alto en cada una de las variables.

La homogeneidad calculada entre los estudios presentó valores de p -value iguales a $9,96 \cdot 10^{-9}$, $8,9 \cdot 10^{-1}$ y $7,88 \cdot 10^{-3}$ para cada una de las variables respectivamente, presentando para cada variable heterogeneidad entre los resultados analizados.

En tanto, la comparación realizada entre las fuentes de selenio (selenito de sodio y selenometionina), indicó que con un p -value $9,955 \cdot 10^{-9}$ y $7,88 \cdot 10^{-3}$ para retención a nivel muscular y actividad a nivel hepático respectivamente, existe diferencia significativa entre las fuentes, por lo que la selenometionina aumentaría la retención a nivel muscular y la actividad de la enzima a nivel hepático, mientras que con un p -value de $8,6 \cdot 10^{-1}$ no se presenta diferencia entre las fuentes para actividad enzimática a nivel plasmático.

Los estudios con mayor influencia en el cálculo del efecto global para cada una de las variables fueron los de Lorentzen *et al.* (1994) y Wang *et al.* (2004) para la variable retención a nivel muscular, Lorentzen *et al.* (1994) y Liu *et al.* (2010) para actividad enzimática a nivel plasmático y los estudios de Zhou *et al.* (2009) y Raider *et al.* (2010) para actividad enzimática a nivel hepático.

Estos estudios son además, los que presentaron el mayor cambio en magnitud en la estimación del efecto global al removerlos del meta-análisis y graficar el efecto provocado por su ausencia en el análisis de sensibilidad.

PALABRAS CLAVE: Meta-análisis–Selenometionina-Selenito de sodio-GSH-Px - peces.

ABSTRACT

Selenium is a trace mineral which is essential in animal nutrition and has important functions related to the antioxidant system of the organism. At present fish farming markets are oriented towards a cleaner production involving lower costs. Based on this, supplementing fish diets with organic selenium arose as a feasible idea since this mineral increases its absorption and retention, which leads to an increase in the bioavailability of the mineral.

To evaluate this possibility, a meta-analysis was carried out to contrast the results obtained by seven authors in relation to supplementing fish feed with organic selenium and its effect on the retention of this mineral at the muscle level and on the activity of the glutathione peroxidase enzyme at plasma and hepatic levels.

The results obtained from the above studies were transformed to a common metric by means of the effect size estimation. Based on it, an estimate of the global effect (d) was obtained with values of 2.279, 1.085, and 1.884 for the variables selenium retention at muscle level, activity of the glutathione peroxidase enzyme at plasma level and activity of the glutathione peroxidase enzyme at hepatic level, respectively, this effect being high in each of the variables.

Homogeneity calculated among the studies showed p-values of $9.96 \cdot 10^{-9}$, $8.9 \cdot 10^{-1}$ and $7.88 \cdot 10^{-3}$ for each of the variables, respectively, thus presenting heterogeneity among the results analyzed for each variable.

Meanwhile, the comparison among the sources of selenium, sodium selenite and selenomethionine indicated that with p-values of $9.955 \cdot 10^{-9}$ and $7.88 \cdot 10^{-3}$ for retention at muscle level and activity at hepatic level, respectively, there is a significant difference among the sources. Consequently, selenomethionine would increase retention at muscle level and the enzymatic activity at hepatic level, while with a p-value of $8.6 \cdot 10^{-1}$ no difference exists among the sources for the enzymatic activity at plasma level.

The studies with greater influence on the estimation of the global effect for each of the variables were those by Lorentzen *et al.* (1994) and Wang *et al.* (2004) for the variable retention at muscle level, those by Lorentzen *et al.* (1994) and Liu *et al.* (2010) for the enzymatic activity at plasma level, and those by Zhou *et al.* (2009) and Raider *et al.* (2010) for the enzymatic activity at hepatic level.

KEY WORDS: Meta-analysis – Selenomethionine – Sodium selenite – GSH-Px – Fish.

INTRODUCCIÓN

El selenio es un mineral traza esencial en la nutrición animal y como tal, es requerido en la dieta en muy bajas concentraciones (Lim y Klesius, 2000). Si bien, los requerimientos pueden variar según la fuente de selenio utilizada, el contenido de ácidos grasos poli-insaturados y de vitamina E en la dieta y con la concentración de selenio presente en el agua, la National Reseach Council (1993), sugiere incluir entre los 0,15 y 0,4 mg Se·Kg⁻¹ de alimento en la dieta para satisfacer el requerimiento de peces. Particularmente, en dieta de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) se recomienda entre 0,15 y 0,38 mg Se·Kg⁻¹ de alimento (Hilton *et al.*, 1980) y en dietas para bagre (*Ictalurus punctatus*) 0,25 mg Se·Kg⁻¹ de alimento (Gatlin y Wilson, 1984), estimado esto, en base a un óptimo crecimiento y máxima actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) a nivel plasmático (National Reseach Council, 1993).

Bioquímicamente, el selenio actúa como cofactor en la síntesis de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) y también forma parte de ella, la cual en conjunto con otros antioxidantes participa en la regulación del balance oxidativo de las células, por lo tanto, una deficiencia de selenio induce una disminución en la síntesis y función de esta enzima, generando daño por acumulación de radicales libres (Avello y Suwalsky, 2006).

Una disminución en la actividad de GSH-Px, puede provocar un aumento en la concentración de especies reactivas de oxígeno, generadas en el metabolismo intermedio de las células, las que pueden oxidar y dañar las grasas, proteínas de las membranas, en particular las mitocondriales y las plasmáticas, así como también los ácidos nucleicos, generando de esta forma el denominado estrés oxidativo (Avello y Suwalsky, 2006), lo que conlleva a una mayor susceptibilidad a enfermedades, así como una baja en el desarrollo y desempeño reproductivo (Miller y Brzezinska-Slebozinska, 1993).

Se ha señalado que una deficiencia de selenio causa retraso en el crecimiento de carpa (*Carassius auratus gibelio*) (Sato *et al.*, 1983), bagre (Gatlin y Wilson, 1984), salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Bell *et al.*, 1987) y trucha arcoiris (Hilton *et al.*, 1980), además en esta última, se ha observado diátesis exudativa (Halver y Hardy, 2002) y distrofia muscular (Bell *et al.*, 1985), cuadros que se encuentran asociados al desequilibrio de los peróxidos.

La deficiencia de Se, también afecta los niveles de Inmunoglobulinas G (IgG) y la función de los Linfocitos T, factores que determinan una mayor prevalencia y severidad de enfermedades presentes en las poblaciones animales (Arthur *et al.*, 2003). En bovinos, se ha visto que la baja actividad de la GSH-Px reduce la vida media de los macrófagos, afectando negativamente la presentación antigénica y las respuestas humorales, disminuyendo además la concentración de inmunoglobulinas (Awadeh *et al.*, 1998).

En el organismo animal, existen proteínas que contienen selenio en su estructura, las cuales se han clasificado en tres grupos dependiendo de la forma en que lo incorporan: las que lo

incorporan en forma no específica, las que lo hacen específicamente y las que demuestran estar codificadas para incorporar selenocisteína, conocidas como selenoproteínas (Behne y Kyriakopoulos, 2001).

Existen a los menos 30 selenoproteínas en el organismo animal, estas son proteínas donde uno o varios átomos de selenio han reemplazado el azufre de los aminoácidos cistina, cisteína y metionina, dando lugar a especies orgánicas de selenio como selenocistina (SeCys_2), selenocisteína (SeCys), selenometionina (SeMet), metil-selenocisteína (CH_3SeCys) y seleno-metil-selenocisteína (SCM) (Hernández y Ríos, 2009). La síntesis de estas selenoproteínas es altamente dependiente del aporte de selenio en la dieta y por lo tanto, si este aporte es limitado, el sistema jerarquiza las selenoenzimas a producir y los órganos de síntesis (Driscoll y Copeland, 2003).

De las selenoproteínas conocidas, se han identificado 4 tipos de selenoenzimas pertenecientes al sistema glutatión, la glutatión peroxidasa citosólica (C-GSH-Px), glutatión peroxidasa plasmática (P-GSH-Px), fosfolípido hidroperóxido glutatión peroxidasa (PH-GSH-Px), glutatión peroxidasa gastrointestinal (GI-GSH-Px), éstas enzimas metabolizan los peróxidos de hidrógeno y lipoperóxidos producidos en los distintos compartimentos de la célula (Ceballos *et al.*, 1999). Los peróxidos son reducidos mediante la reacción general catalizada por la GSH-Px, en la cual el Glutatión reducido (GSH) actúa como donante de hidrógeno. A continuación el Glutatión oxidado se reduce de nuevo, es decir, es regenerado por reacciones subsiguientes, mediante una reacción en la que participan la Glutatión reductasa y un donante de hidrógeno ($\text{NADPH}+\text{H}^+$) (López *et al.*, 1997).

La regulación de los procesos de síntesis y expresión de las selenoproteínas, demuestra que en condiciones de deficiencia de Se, en que el sistema prioriza las enzimas a expresar, la GSH-Px es la última prioridad, por lo tanto la primera que presenta reducción en actividad; es por esto que la actividad de esta enzima, medible en sangre, refleja en buena medida si los requerimientos de Se han sido cubiertas en el animal (Beckett y Arthur, 2005), aun cuando es posible tener una buena aproximación del diagnóstico del contenido de Se a través de muestras histológicas de hígado y riñones; ambos órganos reservorios del mineral, sin embargo, este procedimiento es más costoso y elaborado ya que requiere el sacrificio del animal (Stowe y Herdet, 1992).

Para evitar una deficiencia de selenio, es necesario suplementar las dietas que se administra a los animales, con el fin de cubrir los requerimientos nutricionales, que por medios naturales; como absorción del mineral desde el agua, no se pueden suplir (Montero, 2006). Para cubrir estos requerimientos es necesario suplementar el selenio en la dieta, cuidando en este caso administrar bajas dosis del mineral, debido a que en su condición de micronutriente es necesario una baja cantidad de él para suplir los requerimientos, evitando así posibles toxicidades en el organismo animal, en el caso de trucha arcoíris y bagre la toxicidad se produce frente a niveles de inclusión de 13 y 15 $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de alimento respectivamente (Hilton *et al.*, 1980). Frente a estos niveles se produce reducción del crecimiento, escasa eficiencia de alimentación y aumento de la tasa de mortalidad (Hilton y Hodson, 1983).

Con el objetivo de suplementar las dietas animales, actualmente se utilizan dos fuentes de selenio, una proveniente de una fuente inorgánica como selenito de sodio y selenato de sodio y una fuente de origen orgánica como lo son los aminoácidos selenometionina y selenocisteína, los que están siendo recientemente utilizados (Vinchira y Muñoz-Ramírez, 2010).

Tradicionalmente, las dietas de los animales son suplementadas con fuentes inorgánicas de minerales traza, cuya absorción en el tracto digestivo es realizada por difusión simple (Wolffram, 1999) y que por su forma química, pueden experimentar una diversidad de interacciones con otros componentes dietarios en el medio gastrointestinal (Arrieta, 2011). Los minerales inorgánicos, para ser absorbidos deben encontrarse en forma iónica o unirse a transportadores específicos, lo que propicia interacciones negativas con agentes ligantes (carbohidratos estructurales, ácido fítico, ácidos grasos); generando competencia entre los minerales, debido a que muchos de ellos comparten el mismo transportador (PROKEL, 2012).

Durante el proceso de digestión, los iones de minerales traza de las origen inorgánico, son liberados y pueden ser recombinados con otros componentes de la ingesta en el intestino, formando complejos insolubles y por ello excretados, reduciendo su absorción a través del intestino delgado (Castillo y Salvador, 2001). Estas interacciones, se traducen en una asimilación deficiente del mineral, generando estados sub óptimos de salud y una menor productividad en los animales; debido a la baja retención y disminución de la respuesta inmune (Arrieta, 2011).

Para satisfacer los requerimientos nutricionales estimados de los animales, normalmente se debe aumentar el nivel de inclusión de minerales inorgánicos en las dietas, debido principalmente a la baja biodisponibilidad y por consiguiente, a la disminución de la retención del mineral en el organismo, esto se traduce en un aumento en las excretas de residuos minerales que no fueron retenidos en el animal, produciendo una eventual contaminación de los sistemas, tanto terrestres como acuáticos (Daniels, 1996).

Se ha señalado que, la alimentación de los peces contamina el entorno natural a través de dos vías: la primera es mediante el alimento que no es aprovechado por los animales de cultivo y que va a depositarse directamente al fondo marino, y la segunda vía de contaminación es la materia fecal, desperdicios que en algunas ocasiones se acumulan en el fondo del mar, bajo las balsas jaulas, convirtiéndose en sedimentos que pueden dañar a otras especies marinas presentes en el ecosistema (Doren y Gabella, 2001). Del total de alimento suministrado para la producción de salmones en Chile, solo 25% de los nutrientes son asimilados por el animal, mientras que aproximadamente un 75% queda en el ambiente como desechos fecales y alimento no ingerido (Claude *et al.*, 2000).

Dependiendo de la fuerza de las mareas, los desechos pueden ser arrastrados y provocar alteraciones del medio, afectando la calidad de las aguas en una zona mucho más amplia que la que abarca el centro de acuicultura, estos impactos físicos, químicos y biológicos se manifiestan a través de la eutroficación de columnas de agua y, por consiguiente, en

cambios en la productividad primaria y composición de los sedimentos de los fondos acuáticos, así como en la transmisión de enfermedades hacia la fauna silvestre o nativa (Doren y Gabella, 2001).

Si bien, normalmente las bacterias presentes en los ambientes acuáticos pueden metabolizar estos residuos y reciclar nutrientes con un aumento proporcional de la productividad biológica, esto conlleva a un agotamiento del oxígeno del agua, un excesivo florecimiento de algas y una acumulación de sedimentos anóxicos y sulfurosos debajo y alrededor de las jaulas (Buschmann, 2001), los que contribuyen a la disminución de la diversidad biológica, admitiendo solamente la supervivencia de las especies que puedan adaptarse a estas nuevas condiciones (Weber, 1997).

Con la finalidad de aumentar la disponibilidad biológica de minerales traza como: Calcio, Cobalto, Cobre, Cromo, Hierro, Magnesio, Manganeseo, Selenio, Yodo y Zinc, pueden unirse o incorporarse a ligandos, los cuales pueden ser aminoácidos o péptidos (PROKEL, 2012). Estas moléculas estabilizan sus cargas eléctricas, formando una estructura de anillo abierto y estables al pH, lo que les permite llegar en mayor proporción a los sitios de absorción y facilitar su paso hacia los enterocitos (Arrieta, 2011), reduciendo así, la oportunidad de interactuar con otros minerales y compuestos orgánicos, que pueden actuar como antagonistas en el transporte de éstos a los sitios de acción (Segovia, 2005).

La inclusión de estas fuentes de minerales traza en la dieta, ha resultado en una mayor biodisponibilidad debido a que son más solubles, poseen mayor estabilidad en el tracto digestivo, una mejor absorción a través de la membrana epitelial y mejoran la utilización metabólica (Close, 1998), traduciendo esto en un aumento en el rendimiento del animal generando por lo tanto, efectos positivos en el organismo del animal (Muñoz *et al.*, 1998).

Por estas razones, las fuentes de selenio orgánico representan una nueva alternativa en alimentación animal, debido a que mejora la absorción, asimilación y retención del mineral (Wolffram *et al.*, 1988). Estas fuentes orgánicas de minerales, surgen como respuesta a las nuevas exigencias del mercado, donde los modelos productivos y las nuevas líneas genéticas exigen mayor incremento en los niveles de eficiencia, productividad, rendimiento, y contribución en la reducción del impacto sobre el medio ambiente, los que se ven favorecidos debido a la mayor capacidad de absorción y retención de este tipo de minerales (Chica, 2004)

Estudios en salmón del Atlántico y bagre, muestran que el selenio orgánico, presenta mayor biodisponibilidad que la fuente inorgánica (Küçükbay *et al.*, 2009); lo que está relacionado con la velocidad y cuantía en la que el mineral logra estar disponible en el sitio de acción (FDA, 2011). Esto se debe principalmente a que la absorción del mineral es mayor, lo que provoca que la disponibilidad del mineral a nivel plasmático sea inmediata, y la utilización y el almacenamiento se realice de forma rápida (Bautista, 2010). De esta misma forma, Lorentzen *et al.* (1994), reportaron que la concentración de selenio orgánico en su forma de selenometionina a nivel muscular, es muy superior a lo registrado con selenito de sodio, en salmón del Atlántico.

Es importante destacar que la selenometionina se incorpora de la misma forma que el aminoácido metionina y se acumula activamente en los tejidos corporales proteicos (Beilstein y Whanger, 1986). Los animales que se alimentan con esta fuente de selenio fácilmente la incorporan al tejido corporal (músculo) y pronto se convierte en selenocisteína (Beilstein y Whanger, 1988). En contraste, el selenio proporcionado a partir de la fuente inorgánica es excretado en la orina y cantidades mínimas se incorporan a las proteínas debido a que los animales no poseen la habilidad de biosintetizar o combinar el selenio metal con el aminoácido metionina, para formar selenometionina (Schrauzer, 2000).

Con el fin de analizar los resultados encontrados en la literatura, donde se comparan fuentes de selenio orgánico e inorgánico utilizadas como suplemento en la alimentación de peces, se propone realizar como metodología un meta-análisis de la información disponible sobre este tema, con el fin de analizar la consistencia de los resultados comparados y la existencia de diferencias entre las fuentes de selenio estudiadas en cada una de las variables estudiadas.

Un meta-análisis se puede definir como el análisis estadístico de una colección de resultados de trabajos individuales, con el propósito de integrar hallazgos obtenidos (Glass, 1976) o bien como, la síntesis estadística de los datos de estudios diferentes pero similares, es decir, estudios comparables, que proporcionan un resumen numérico de los resultados globales (Chalmers *et al.*, 2002).

La realización de un meta-análisis pasa necesariamente por las mismas fases que se requieren para llevar a cabo un estudio empírico, no obstante, dado que la unidad de análisis en este tipo de metodología es el estudio empírico, las fases de un meta-análisis presentan ciertas características que es preciso clarificar (Sánchez-Meca, 2010). En términos generales, la realización de un meta-análisis requiere de las siguientes etapas:

- 1.- Búsqueda de la literatura, la cual consiste en localizar los estudios empíricos que hayan abordado la pregunta objetivo de investigación.
- 2.- Identificación de las fuentes de información, en la que se debe localizar e identificar las fuentes de información a utilizar.
- 3.- Criterios de inclusión y exclusión, donde se identifican las características que deben contener los estudios para ser incluidos en el meta-análisis, de otra forma si éstas no se cumplen, los estudios que son excluidos.
- 4.- Evaluación de la calidad de los estudios, está basado en la confección de una base de datos para conocer las variables evaluadas de cada estudio y su posible comparación.
- 5.- Índice del tamaño del efecto, estimado para mostrar los resultados en una métrica común y realizar los posteriores análisis.
- 6.- Modelo de efectos fijos, estimado para ver como interviene cada estudio en la estimación global.
- 7.- Contraste de homogeneidad, estimado para conocer la variabilidad de los resultados de los estudios.
- 8.- Cuantificación de la heterogeneidad, estimada para conocer la proporción en que las variables son heterogéneas.

- 9.- Interpretación gráfica *Forest Plot*, gráfico cuyo fin es mostrar cómo influye cada estudio en la estimación global del efecto.
- 10.- Análisis de sensibilidad, interpreta cómo varía la estimación global del efecto al remover uno a uno los estudios del meta-análisis (Botella y Gambará, 2002).

Hipótesis

El meta-análisis realizado indica que el selenio orgánico utilizado como suplemento en la dieta de peces, produce una mayor retención del mineral a nivel muscular y una mayor actividad de la enzima glutatión peroxidasa que el selenio inorgánico.

Objetivo

Demostrar por medio del meta-análisis la superioridad del efecto del selenio orgánico incorporado en la dieta de peces, sobre la retención de Se a nivel muscular y la mayor actividad de la enzima glutatión peroxidasa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El estudio se realizó en el Departamento de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

El material revisado comprendió artículos de investigación relacionados con la suplementación de selenio orgánico en alimentación de peces, publicados a partir del año 1990 a la fecha, de las siguientes fuentes:

Material electrónico

- Revistas seriadas publicadas por distintas editoriales y extraídas desde el integrador de la base de datos del Servicio de Información y Bibliotecas de la Universidad de Chile (SISIB) (www.uchile.cl/bibliotecas).
- Revisión de publicaciones con comité editor, en sitios web asociados al tema.

Material Impreso

- Tesis y Memorias de Título de diversas Universidades nacionales y extranjeras.
- Libros de texto con comité editor.

Métodos

A continuación se presentan las etapas metodológicas para llevar a cabo el meta-análisis.

Etapas del meta-análisis.

Búsqueda de la literatura

En función del objetivo planteado, el material de estudio estuvo constituido por publicaciones científicas, en las cuales se utilizó selenio orgánico e inorgánico como fuentes de alimentación en dietas de peces.

Localización de los estudios de investigación

Identificación y localización de las fuentes de información:

- Fuentes electrónicas: revistas seriadas con comité editor disponibles en las bases de datos del SISIB de la Universidad de Chile y otros sitios webs.

Criterios de inclusión y exclusión de los estudios

Los requisitos contenidos en los estudios que fueron incluidos o excluidos del meta-análisis se muestran en Cuadro 1.

Cuadro 1. Criterios de inclusión y exclusión de los estudios del meta-análisis.

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Artículos publicados a partir del año 1990 a la fecha	Artículos publicados antes del año 1990 ¹
Nombre de autor(es)	Autor anónimo
Publicaciones con comité editor	Publicaciones sin comité editor
Presencia de un análisis estadístico	Publicaciones sin análisis estadístico
Presencia de un tratamiento control	Ausencia de un tratamiento control
Artículos con resultados	Artículos sin resultados
Publicaciones con citas bibliográficas	Publicaciones sin citas bibliográficas

¹ Estos estudios no fueron incluidos, debido a la poca claridad en los resultados obtenidos, debido principalmente a que estos fueron representados en forma gráfica y no numérica.

Evaluación de la calidad del contenido de los estudios incluidos

Se procedió a confeccionar una base de datos con las variables medidas en cada uno de los estudios y se le asignó un punto a aquellas que fueron analizadas y medidas en él, con el fin de obtener las variables comunes entre los estudios y con las se trabajó en el meta-análisis. Esta evaluación de la calidad permitió la comparación entre los estudios en base a las variables estudiadas.

Índice del tamaño del efecto

Con la finalidad de presentar los resultados en una métrica común para su posterior análisis se estimó el índice del tamaño del efecto, el cual expresa el grado en que el fenómeno bajo estudio está presente en la población, o el grado en que la H_0 es falsa (Cohen, 1988). Este tamaño, fue expresado bajo la diferencia de media estandarizada d , comparando el grupo con el resultado promedio más alto con el grupo control (sin suplementación) del respectivo estudio.

Para calcular d se trabajó con las siguientes ecuaciones, basadas en la metodología de Hedges y Olkin (1985).

$$d = \frac{\bar{X}_t - \bar{X}_c}{Sp} * J \quad \text{Ec. 1}$$

Siendo, \bar{X}_t = Promedio del grupo con el valor más alto
 \bar{X}_c = Promedio del grupo control no suplementado con Se
 Sp = Desviación Estándar agrupada
 J = Corrección de Hedges.

Siendo,

$$Sp = \frac{(nt - 1)St^2 + (nc - 1)Sc^2}{nt + nc - 2} \quad \text{Ec. 2}$$

Con, nt = Tamaño muestral del grupo seleccionado.

St = Varianza del tratamiento.

nc = Tamaño muestral del grupo control.

Sc = Varianza del control.

Y,

$$J = 1 - \frac{3}{4(nt + nc) - 9} \quad \text{Ec. 3}$$

Modelo de Efectos fijos ($d\cdot$)

Este estadístico fue calculado con la finalidad de conocer cómo interviene cada estudio en la estimación global. En este modelo, sólo se considera la variabilidad de las características dentro del estudio como factor determinante de la variación de los resultados (según reflejado en el intervalo de confianza). Sin embargo, no se considera la variación entre los estudios (Montero, 2011). Este modelo asume que los datos provienen de poblaciones normales, las cuales podrían diferir únicamente en sus medias (Molinero, 2003).

$$d\cdot = \frac{\sum_{i=1}^k w_i * d_i}{\sum_{i=1}^k w_i} \quad \text{Ec. 4}$$

Donde,

$$w_i = \frac{1}{S_d^2} = \frac{2 * (n_1 + n_2) * n_1 * n_2}{2 * (n_1 + n_2)^2 + n_1 * n_2 * d^2} \quad \text{Ec. 5}$$

Y,

$$S_d^2 = \frac{n_1 + n_2}{n_1 * n_2} + \frac{d^2}{2(n_1 + n_2)} \quad \text{Ec. 6}$$

Finalmente se calculó el intervalo de confianza, para ello se aplicó la siguiente fórmula:

$$d\cdot \pm z_{1-\alpha/2} * \sqrt{\frac{1}{\sum_{i=1}^k w_i}} \quad \text{Ec. 7}$$

Donde $d\cdot$ es el estimador puntual obtenido con la ecuación 4, $z_{1-\alpha/2}$ el valor de la distribución normal unitaria correspondiente al nivel de confianza establecido como 1,96 para $\alpha = 0,95$ y $\sum w_i$ la suma de los pesos obtenidos en la ecuación 5.

Contrastes de homogeneidad de las estimaciones del tamaño del efecto (Q)

Este estadístico fue calculado para conocer la variabilidad de los resultados de los estudios. Para éste cálculo, se trabajó bajo la base de la existencia de una hipótesis de contraste, la cual debería ponerse a prueba. La H_0 contrastada estableció que las diferencias observadas entre las estimaciones del tamaño del efecto proceden exclusivamente, de las fluctuaciones aleatorias procedentes del muestreo de los peces que participaron en cada estudio. Por su parte, la hipótesis alternativa o H_1 , estableció que existe alguna fuente de variación adicional a la de las fluctuaciones asociadas al muestreo (Botella y Gambara, 2002).

La fórmula propuesta por Hedges y Olkin (1885), para contrastar la hipótesis analizando la homogeneidad de las estimaciones del índice del tamaño del efecto mediante d , es la siguiente:

$$Q_t = \sum_{i=1}^k w_i * d^2 - \frac{(\sum_{i=1}^k w_i * d)^2}{\sum_{i=1}^k w_i} \quad \text{Ec. 8}$$

Donde d y w_i son nuevamente la estimación del tamaño del efecto del estudio i la valoración que se quiere dar a ese estudio.

Este estadístico se distribuye según χ^2 con $k-1$ grados de libertad, siendo k el número de estudios.

Ajuste de un modelo categórico (Q_b)

El procedimiento para realizar el contraste, consistió en calcular el mismo estadístico de la ecuación 8 (Q_t), pero con los estudios de cada categoría definidos como O para selenio orgánico (selenometionina) e I para selenio inorgánico (selenito de sodio). La suma de estos resultados individualizados para ambas categorías correspondió a $Q_{w(O)}$ y $Q_{w(I)}$. (Botella y Gambara, 2002).

Para el cálculo de este ajuste se utilizó la siguiente ecuación:

$$Q_b = Q_t - (Q_{w(O)} + Q_{w(I)}) \quad \text{Ec. 9}$$

Este estadístico permitió contrastar si las estimaciones combinadas dentro de cada categoría fueron homogéneas entre sí. Para ello, el resultado de Q_b fue contrastado con un χ^2 con $k-1$ grados de libertad, siendo k el número de categorías.

Cuantificación de la heterogeneidad existente (I^2)

El parámetro I^2 indica la proporción de la variación entre estudios respecto de la variación total, es decir la proporción de la variación total que es atribuible a la heterogeneidad (Molinero, 2003).

Este estadístico fue calculado para conocer la proporción en que las variables cuyo resultado obtenido bajo el ajuste categórico, presentaron heterogeneidad entre la fuente orgánica e inorgánica de selenio.

Para su estimación fue utilizada la siguiente expresión:

$$I^2 = \frac{Qb - k + 1}{Qb} * 100 \quad \text{Ec. 10}$$

Siendo,

Qb = el valor obtenido de la prueba de ajustes de contrastes

k = el número de estudios

De acuerdo a Borenstein *et al.* (2009), este índice puede interpretarse en torno al 25%, 50% y 75% reflejando heterogeneidad baja, media y alta respectivamente.

Representación gráfica *Forest Plot*

La representación gráfica de los resultados del meta-análisis, se realizó con el *software* “*Forest Plot Viewer*” herramienta de distribución gratuita del *National Toxicology Program* de los Estados Unidos, disponible en el sitio web <http://ntp.niehs.nih.gov/?objectid=52A0A4EB-F1F6-975E-75F11D97311DA671>.

Este *software* permitió visualizar gráficamente el resultado final del meta-análisis, mostrando en él, cómo intervine cada estudio en la estimación global del efecto. Para ello, se tomaron los valores de w_i calculados en la ecuación 5, los cuales quedaron representados por el tamaño de la figura (rombo) existente entre cada intervalo de confianza, indicando con ello la influencia o valor existente de cada estudio dentro del meta-análisis.

Análisis de sensibilidad

Se determinó para estudiar la influencia de cada uno de los estudios en la estimación global del efecto y por lo tanto, la estabilidad de la medida final obtenida. Para su análisis, se removieron uno por uno los estudios y se graficó el efecto global producido por la exclusión de cada uno de ellos (Molinero, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El meta-análisis permitió comparar los resultados obtenidos por diferentes autores respecto a una fuente inorgánica y orgánica de selenio utilizada en la dieta de peces, con el fin de estimar la existencia de homogeneidad o heterogeneidad entre las fuentes suplementadas.

Localización de las Fuentes de Información

De las distintas bases de datos asociadas al Sistema de Servicios de Información y Bibliotecas (SISIB) de la Universidad de Chile, se extrajeron 15 artículos asociados a la suplementación de selenio orgánico e inorgánico en peces procedentes de las siguientes publicaciones:

- Animal Feed Science and Technology (ISSN: 0377-8401)
- Aquaculture (ISSN: 0044-8486)
- Aquaculture Nutrition (ISSN: 1353-5773)
- Aquaculture Research (ISSN: 1355-557X)
- Critical Reviews in Food Science and Nutrition (ISSN: 1040-8398)
- Ecotoxicology and Environmental Safety (ISSN: 0147-6513)
- Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (ISSN: 0931-2439)
- Journal of Animal Science and Biotechnologies (ISSN: 1674-9782)
- The Israeli Journal of Aquaculture (ISSN: 0792 - 156X)

Criterios de Inclusión y Exclusión de los Estudios

Como primera instancia, se seleccionaron ocho estudios de un universo de 15 encontrados referentes al tema a investigar. Siete de los estudios excluidos, fueron desechados principalmente por presentar los resultados en forma gráfica y no numérica, publicados antes del año 1990 y por no presentar el tipo de análisis estadístico utilizado en la metodología.

De los ocho estudios restantes, el estudio de Küçükbay *et al.* (2009), fue descartado del meta-análisis debido a que no reportaba los valores de error estándar (EE) individuales en los resultados publicados.

De los siete estudios finalmente incluidos en el meta-análisis, se procedió a realizar una segunda selección, excluyendo en este caso a tres tratamientos que trabajaron con Seleno-levadura (Wang y Lovell, 1997; Raider *et al.*, 2010) y Seleno-nanopartícula (Zhou *et al.*,

2009), la primera proveniente de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* cultivadas en un medio enriquecido con selenio (Vinchira y Muñoz-Ramírez, 2010), y la segunda proveniente de partículas muy pequeñas de selenio menores a 100nm.

Se incluyeron por tanto solo los tratamientos dentro de los estudios que suplementaron las dietas de los peces con selenito de sodio para la fuente inorgánica y selenometionina para la fuente orgánica, debido a que fueron los tipos comunes de suplementación entre los estudios. Los estudios incluidos se muestran en el Anexo I.

Evaluación de la Calidad del Contenido de los Estudios Incluidos

De acuerdo a la base de datos que se elaboró con las variables medidas en cada estudio, se determinó que las variables comunes a evaluar en el meta-análisis son las siguientes, (Cuadro 2).

- Retención de selenio a nivel muscular: 7 de 7 estudios.
- Actividad de la enzima glutatión peroxidasa a nivel plasmático: 4 de 7 estudios.
- Actividad de la enzima glutatión peroxidasa a nivel hepático: 5 de 7 estudios.

Cuadro 2. Asignación de puntuaciones a los estudios incluidos (Adaptado de Lipsey, 1994).

		Estudios ⁽¹⁾						
		1	2	2	4	5	6	7
	Comité editor	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Análisis estadístico	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Tipo de muestra	Cobia	Carpa	Carpa	Bagre	salmon del Atlántico	Carpa	Trucha arcoíris
	Mediciones							
crecimiento (peso)	Peso inicial (g)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Peso final (g)		✓	✓	✓	✓	✓	✓
Actividad sérica de marcadores de estrés oxidativo	Actividad de GSH-Px (nkat·L ⁻¹) ⁽²⁾	✓	✓			✓	✓	
Actividad hepática GSH-Px	Actividad de GSH-Px (U·mg ⁻¹) ⁽³⁾		✓	✓	✓		✓	✓
Niveles de selenio	Se en Músculo (mg·Kg ⁻¹)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Se sérico (mol·L ⁻¹)							
Alimentación	Niveles de inclusión de Se (mg·Kg ⁻¹)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Índice de conversión de alimento FCR (g·g ⁻¹)	✓	✓	✓			✓	✓
Sobrevivencia	Tasa de sobrevivencia (%)	✓				✓	✓	✓

(1) Estudios incluidos en Anexo 1.

(2) katal: actividad catalítica responsable de la transformación de 1mol de compuesto por minuto (Dybkaer, 2001).

(3) U: cantidad enzimática que cataliza la conversión de 1μmol de sustrato por minuto (Dybkaer, 2001).

$$60 \cdot 10^6 \text{ U} = 1 \text{ katal}$$

$$\text{U} \cdot \text{L}^{-1} \cdot 16,67 = \text{nkatl} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$\text{nkatl} \cdot 0,06 = \text{U} \cdot \text{L}^{-1}$$

Índice del Tamaño del Efecto

La magnitud del índice del tamaño del efecto, asociado a la diferencia de media estandarizada (d), fue calculada para apreciar de mejor forma si la diferencia entre los tratamientos era grande, media o pequeña entre los estudios (Morales, 2011). Para valorar esta magnitud, Cohen (1988), propone considerar una diferencia pequeña con $d= 0,20$; diferencia media con $d= 0,50$ y una diferencia grande con $d= 0,80$.

El valor del índice del tamaño del efecto obtenido en cada tratamiento de las distintas variables, se encuentra a tantas desviaciones estándar como el valor d lo indica, por sobre el promedio del control al cual fue comparado (Coe y Merino, 2003).

A continuación se presentan los tamaños del efecto calculado para el promedio mayor de cada tratamiento en los estudios para la variable retención de selenio a nivel muscular (Cuadro 3), actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático (Cuadro 4) y actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático (Cuadro 5).

Los datos para el cálculo de d de cada variable, se muestran en el apéndice I, II y III respectivamente.

Cuadro 3. Tamaño del efecto para retención de selenio a nivel muscular de peces.

Estudio	Tratamiento	Nivel ($\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	d
Liu <i>et al.</i> , 2010	Se-Met 1,0 mg	2,62	6,687
Wang <i>et al.</i> , 2006	Selenito de sodio 0,5 mg	11,00	1,974
Wang <i>et al.</i> , 2006	Se-Met 0,5 mg	14,20	2,881
Han <i>et al.</i> , 2010	Se-Met 5,0 mg	6,40	6,014
Wang y Lowell, 1997	Selenito de sodio 0,4 mg	0,41	7,258
Wang y Lowell, 1997	Se-Met 0,4 mg	0,54	8,817
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	Selenito de sodio 2,0 mg	0,57	1,248
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	Se-Met 2,0 mg	2,51	9,948
Zhou <i>et al.</i> , 2009	Se-Met 0,5 mg	13,52	2,593
Raider <i>et al.</i> , 2010	Selenito de sodio 1,79 mg	0,23	0,923

El Cuadro 3 muestra que las magnitudes del índice del tamaño del efecto (d) presentan una alta diferencia comparando los tratamientos suplementados con sus respectivos tratamientos controles, debido a que todos los valores de d se encuentran por sobre 0,8, por lo tanto se encuentran a tantas desviaciones estándar por sobre el promedio del tratamiento control respectivo, dependiendo de la magnitud del valor d , siendo en este caso el estudio de Lorentzen *et al.* (1994), para la fuente de selenio orgánico, el que presenta un mayor valor dentro del meta-análisis para la variable estudiada, debido principalmente a que es el valor más alto registrado entre todos los calculados.

Cuadro 4. Tamaño del efecto para actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático de peces.

Estudio	Tratamiento	Nivel (nkat·L⁻¹)	<i>d</i>
Liu <i>et al.</i> , 2010	Se-Met 0,8 mg	1,128	0,280
Wang <i>et al.</i> , 2006	Selenito de sodio 0,5 mg	191,705	2,440
Wang <i>et al.</i> , 2006	Se-Met 0,5 mg	228,379	3,860
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	Selenito de sodio 1mg	305,061	0,036
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	Se-Met 2 mg	263,386	-0,016
Zhou <i>et al.</i> , 2009	Se-Met 0,5 mg	221,500	2,241

En el Cuadro 4, se presentan los valores calculados del índice del tamaño del efecto (*d*) para la variable actividad enzimática de GSH-Px a nivel plasmático, en donde se muestra claramente que las diferencias presentes entre los tratamientos suplementados y los controles presentan distintas magnitudes, siendo una diferencia baja para los tratamientos de Lorentzen *et al.* (1994), para ambas fuentes de selenio y el estudio de Liu *et al.* (2010), donde la diferencia es menor o cercana al valor $d=0,2$ propuesto por Cohen (1988). Para los estudios de Wang *et al.* (2006), para ambas fuentes de selenio y Zhou *et al.* (2009), la diferencia entre los tratamientos suplementados y sus respectivos controles presentan una alta diferencia, debido a que los valores son mayores a 0,8. Es importante destacar, que el estudio de Wang *et al.* (2006), es aquel que presenta el mayor valor dentro del meta-análisis para esta variable, ya que es aquel que presenta el mayor valor *d* calculado.

Cuadro 5. Tamaño del efecto para actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces.

Estudio	Tratamiento	Nivel (U·mg prot⁻¹)	<i>d</i>
Liu <i>et al.</i> , 2010	Se-Met 1,0 mg	1,510	6,28
Han <i>et al.</i> , 2010	Se-Met 5,0 mg	2,500	1,80
Wang y Lowell, 1997	Selenito de sodio 0,4mg	0,132	16,29
Wang y Lowell, 1997	Se-Met 0,4 mg	0,134	21,82
Zhou <i>et al.</i> , 2009	Se-Met 0,5 mg	32,020	2,60
Raider <i>et al.</i> , 2010	Selenito de sodio 1,79 mg	0,078	0,78

El Cuadro 5 presenta los valores calculados para el índice del tamaño del efecto (*d*) para la variable actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático, donde se muestra que las magnitud calculadas para este índice presentan una alta diferencia comprando los tratamientos suplementados con sus respectivos controles, debido a que todos los valores de *d* se encuentran por sobre 0,8, siendo en este caso el estudio de Wang y Lowell (1997), para la fuente de selenio inorgánico, el que presenta un mayor valor dentro del meta-análisis para la variable estudiada, debido principalmente a que es el valor más alto registrado entre todos los calculados.

Modelo de Efectos Fijos ($d\cdot$)

Luego de obtenido el cálculo del tamaño del efecto d , se procedió a realizar una estimación combinada de los efectos o modelo de efectos fijos ($d\cdot$), estimando un promedio ponderado de los efectos individuales de cada estudio. Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Estimación global o modelo de efectos fijos ($d\cdot$) para cada variable.

Variable	Estimación global ($d\cdot$)
Retención de Selenio en músculo	2,279
Actividad de la enzima GSH-Px plasmática	1,085
Actividad de la enzima GSH-Px hepática	1,884

En el Cuadro 6, se presentan las magnitudes calculadas para la estimación del efecto global de cada variable, indicando con esto el efecto que tienen en conjunto todos los estudios en el meta-análisis dentro de cada variable estudiada, siendo este efecto alto en cada una de las variables al ser comparadas con un $d\cdot = 0,8$ de acuerdo a Cohen (1998).

Intervalo de Confianza (IC)

Para aportar mayor información sobre la estimación global, se procedió a calcular el intervalo de confianza con un α del 95% para cada variable.

- IC para retención de selenio en músculo: $P[1,799 \leq d\cdot \leq 2,759] = 0,95$
- IC para actividad de la enzima GSH-Px plasmática: $P[0,525 \leq d\cdot \leq 1,645] = 0,95$
- IC para actividad de la enzima GSH-Px hepática: $P[1,164 \leq d\cdot \leq 2,60] = 0,95$

De acuerdo a los Intervalos de confianza calculados, se presume un efecto significativo para el efecto global de las tres variables, debido a que en cada intervalo el valor cero no está en el recorrido de estos. Por lo tanto, los estudios evaluados para cada variable, tienen una influencia positiva dentro del meta-análisis, aportando con información relevante para la realización de éste.

Contrastes de Homogeneidad de las Estimaciones del Índice del Tamaño del Efecto (Q)

Se estimaron los contrastes de homogeneidad de cada variable evaluada, retención de selenio a nivel muscular, actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático y actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático (Cuadro 7) y se contrastaron los resultados con sus respectivos *p-value* bajo una distribución χ^2 , tal como se muestra a continuación.

Los datos estadísticos para la realización del cálculo del contraste de homogeneidad de las distintas variables (n , Sd , wi , $wi*d$ y $wi*d^2$) se presentan en los Apéndice IV, Apéndice V y Apéndice VI respectivamente.

Cuadro 7. Contraste de homogeneidad (Q) para cada variable estudiada.

Variable	$\sum wi$	$\sum wi*d$	$\sum wi*d^2$	Qt	<i>p-value</i>
Retención de selenio a nivel muscular	16,470	37,537	160,239	74,686	$1,82 \cdot 10^{-12}$
Actividad de GSH-Px a nivel plasmático	12,086	13,114	35,309	21,079	$7,83 \cdot 10^{-4}$
Actividad de GSH-Px a nivel hepático	7,408	13,961	68,702	42,408	$4,8710^{-8}$

Dado que el contraste de homogeneidad fue significativo para las tres variables analizadas, debido a que *p-value* es menor que un α (0,05), se concluye que para la retención de selenio a nivel muscular, actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático y actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático, existe un nivel de heterogeneidad entre los resultados analizados, que es significativamente mayor a lo esperado por meras fluctuaciones aleatorias (Botella y Gambara, 2002).

Ajuste de un modelo Categórico (Q_b)

El ajuste fue realizado para determinar la existencia o ausencia de diferencias entre los estudios en cuanto a la fuente de selenio empleada. Los resultados del ajuste para retención de selenio a nivel muscular, actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático y actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático se muestran en el Cuadro 8, los cuales fueron comparados con su respectivo *p-value*, bajo una distribución χ^2 .

Cuadro 8. Ajuste categórico para determinar la existencia o ausencia de diferencia entre las fuentes de selenio suplementadas.

Variable	$Q_w(I)$	$Q_w(O)$	Q_b	<i>p-value</i>
Retención de selenio en músculo	5,691	36,145	32,850	$9,96 \cdot 10^{-9}$
Actividad de GSH-Px a nivel plasmático	5,882	15,166	0,031	$8,60 \cdot 10^{-1}$
Actividad de GSH-Px a nivel hepático	17,301	18,046	7,060	$7,88 \cdot 10^{-3}$

I: Selenio inorgánico; O: Selenio orgánico

El ajuste categórico para la variable retención de selenio a nivel muscular indica la existencia de heterogeneidad entre las fuentes de selenio utilizadas, por lo que aumentaría la retención del mineral con selenometionina.

Este resultado, es comparable con lo que indica Küçükbay *et al.* (2009), en su trabajo con trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), donde la diferencia encontrada entre la fuente inorgánica y orgánica de selenio es de aproximadamente 70% más de retención, a favor de ésta última.

Del mismo modo Lorentzen *et al.* (1994), en su trabajo con salmón del Atlántico (*Salmo salar*) informan que la concentración de selenio en músculo y el resto del cuerpo fue un 265% mayor en los grupos de peces que recibieron selenometionina en la dieta (1,0 mg de $\text{Se} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de alimento), en comparación con el grupo que recibió selenito de sodio al mismo nivel de inclusión. Además, los autores indicaron en su estudio, que el selenito de sodio y la selenometionina poseían distintas rutas metabólicas para su absorción, encontrándose la fuente orgánica más biodisponible que el selenito de sodio.

En términos de actividad de enzima a nivel plasmático, el ajuste categórico calculado indica que no hay diferencia significativa, existiendo por lo tanto, homogeneidad entre la fuente de selenio suplementada, por lo que no es posible corroborar lo expuesto por los autores, debido a que los estudios no son lo suficientemente consistentes para indicar que con selenometionina existe un aumento en la actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático.

Resultados obtenidos en el estudio de Wang *et al.* (2006), indican que al suplementar la dieta de carpa (*Carassius auratus gibelio*) con selenometionina (0,5 mg de $\text{Se} \cdot \text{Kg}^{-1}$), la

actividad de GSH-Px a nivel plasmático aumenta un 19% en comparación al tratamiento con selenito de sodio en el mismo nivel de inclusión.

En el estudio de Küçükbay *et al.* (2009), la suplementación con selenometionina (0,3 mg de Se·Kg⁻¹ de alimento), produjo un aumento del 55% en la actividad de GSH-Px a nivel plasmático, comparado con selenito de sodio al mismo nivel de inclusión en trucha arcoíris. Del mismo modo Liu *et al.* (2010), confirman en su estudio con cobia (*Rachycentron canadum L.*) que a partir de un nivel de inclusión de 0,6 mg·Kg⁻¹ de alimento, el aumento en la actividad de GSH-Px a nivel plasmático es de un 126% a favor de la fuente orgánica de selenio.

Por otro lado para la variable, actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático, el ajuste categórico calculado fue significativo, indicando por lo tanto, que existe heterogeneidad entre las fuentes de selenio utilizadas, por lo que aumentaría la actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático a favor de la selenometionina.

De acuerdo a lo expuesto por Wang *et al.* (2006), en su trabajo con carpa (*Carassius auratus gibelio*) la actividad de la enzima a nivel hepático fue superior en un 14% con selenometionina, a un nivel de inclusión de 0,5 mg de Se·kg⁻¹ alimento en relación al selenito de sodio al mismo nivel de inclusión.

Liu *et al.* (2010), en su trabajo con cobia (*Rachycentron canadum L.*) muestran que, a un nivel de inclusión de selenometionina con 0,6 mg de Se·Kg⁻¹ de alimento el aumento en la actividad de la enzima a nivel hepático es de un 85% más que con selenito de sodio al mismo nivel de inclusión.

Lin y Shiau (2005), informan que la actividad de glutatión peroxidasa a nivel hepático en grouper (*Epinephelus malabaricus*), se incrementa en un nivel máximo de 1,51 $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ proteína con 2,0 mg de Se·Kg⁻¹ de alimento en forma de selenometionina.

Por su parte, Raider *et al.* (2009), en su trabajo con trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), indican que tras un episodio de estrés, la actividad de la enzima aumenta en un 17%, a favor de la selenometionina, a un nivel de inclusión de 4,0 mg de Se·Kg⁻¹ de alimento.

Wang y Lovell (1997), indican por su parte que, la biodisponibilidad del selenio orgánico en la forma de selenometionina aumenta la actividad de la enzima a nivel hepático en un 111%, a partir de un nivel de inclusión de 0,2 mg de Se·Kg⁻¹ de alimento, en relación al mismo nivel de inclusión con selenito de sodio en catfish (*Ictalurus punctatus*).

En relación a la bibliografía consultada, es posible inferir que los resultados obtenidos a partir del meta-análisis para las variables retención de selenio a nivel muscular y actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático, presentan una buena aproximación a lo descrito por los autores, en relación al aumento en retención y actividad enzimática con el uso de selenometionina en la alimentación de peces. Por otra parte, no fue posible corroborar por

medio del meta-análisis, lo descrito por los autores en relación a la actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático en relación al aumento en la actividad enzimática a este nivel, debido principalmente a que los resultados de los estudios evaluados no fueron lo suficientemente consistentes para determinar la existencia de diferencia entre las fuentes de selenio suplementadas.

Es posible que el resultado obtenido para la variable actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático no haya sido a favor de la fuente orgánica de selenio, debido principalmente a la cantidad de estudios evaluados en el meta-análisis. Es posible que la baja cantidad de estudios haya inducido un cierto error en el resultado final del meta-análisis para la variable estudiada. Seguramente, que con un mayor número de trabajos analizados, como en los meta-análisis de Sales (2009) y Ceballos *et al.* (2008) en donde el número de estudios es ampliamente mayor a los evaluados en este trabajo, el resultado esperado para la actividad de la enzima a nivel plasmático de a favor de la fuente orgánica de selenio, pudiendo así corroborar los resultados obtenidos por los autores.

Cuantificación de la heterogeneidad (I^2)

Para cuantificar de mejor forma la heterogeneidad entre las fuentes de selenio empleadas, se propuso calcular este índice, el cual estimó la proporción de la variación total que es atribuible a la heterogeneidad (Molinero, 2007), esto fue expresado en forma de porcentaje, para conocer si la heterogeneidad o diferencia entre las fuentes de selenio es baja, media o alta (Cuadro 9).

Cuadro 9. Proporción de la variación total que es atribuible a la heterogeneidad (I^2).

Variable	I^2 (%)
Retención de selenio en músculo	72,6
Actividad de GSH-Px en hígado	29,2

De acuerdo a los resultados y siguiendo los criterios de Borenstein *et al.* (2009), se puede indicar que los resultados obtenidos en el meta-análisis para la variable retención de selenio en el músculo de los peces es medianamente heterogénea entre una fuente de selenio suplementada y otra. Mientras que los resultados obtenidos a partir de la variable actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático la diferencia se estrecha, presentando una diferencia baja diferencia entre la fuente de selenio suplementada.

Representación gráfica *Forest Plot*

Se presentan los gráficos *Forest plot* realizados con los resultados de cada una de las variables estudiadas en el meta-análisis.

Los datos estadísticos utilizados para la confección gráfica de la Figura 1, retención de selenio a nivel muscular de peces, se muestran en el Apéndice VII.

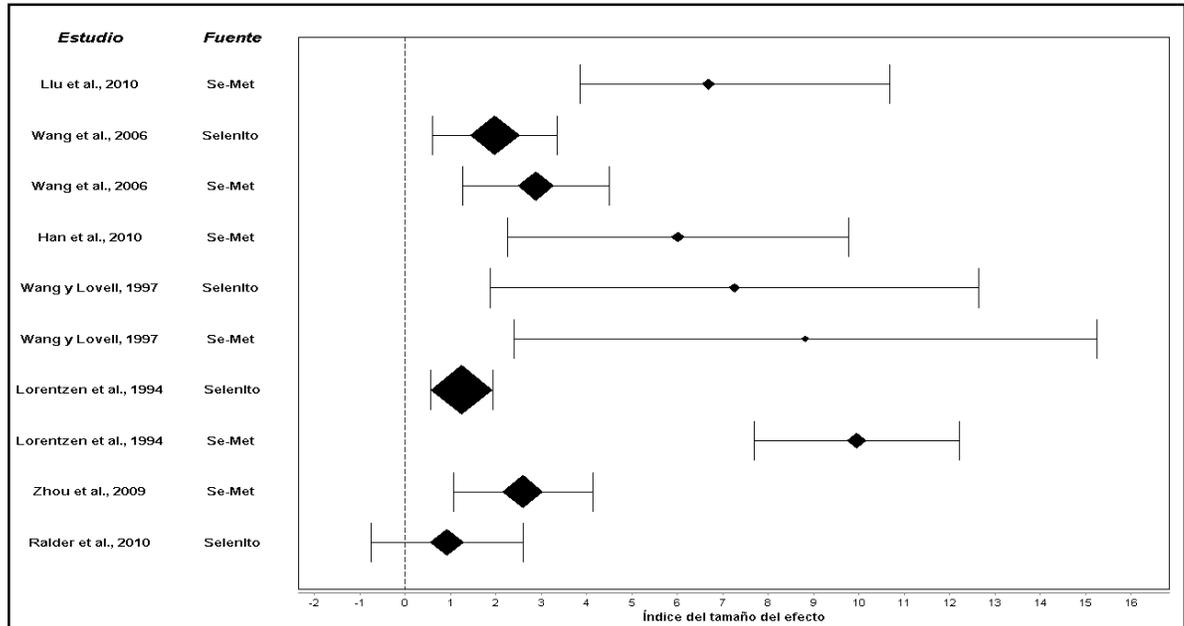


Figura 1. Gráfico *Forest Plot* para retención de selenio a nivel muscular de peces.

En la Figura 1, se puede indicar que los estudios de Liu *et al.* (2010), Han *et al.* (2010), Wang y Lovell (1997); para la fuente de selenito y selenometionina, presentaron la menor valoración dentro del meta-análisis; indicando valoración como, cantidad de información con la que contribuye cada estudio a la estimación global, debido a que fueron los estudios con menor peso (w_i) (representado este con un rombo) en el cálculo de la estimación del efecto global, por lo tanto, fueron los que presentaron los intervalos de confianza más amplios y el peso representado con un rombo de menor tamaño. Por otra parte, los estudios con mayor influencia en el cálculo de la estimación del efecto global; en este caso los estudios de Lorentzen *et al.* (1994) y Wang *et al.* (2006), ambos para la fuente de selenito de sodio, fueron los que indicaron los intervalos de confianza más pequeños, por lo tanto, los que presentaron una mayor influencia en el meta-análisis para esta variable estudiada (Molinero, 2003).

Es preciso indicar de igual forma que, la línea vertical punteada que pasa por el cero del eje de las abscisas, representa el punto de ausencia de efecto, de tal forma que en todos los estudios el resultado fue positivo, debido a que, el valor del índice del tamaño del efecto se

presenta al lado derecho de la línea vertical. De la misma forma, se puede indicar que los intervalos de confianza situados en su totalidad al lado derecho de la línea punteada, presentan un resultado estadísticamente significativo (Moliner, 2007).

De acuerdo a la calidad de los estudios evaluados se puede indicar que sólo uno, no muestra diferencias significativas, lo que indica que los estudios e significativos en el meta-análisis son lo suficientemente consistentes para demostrar que la selenometionina provoca un aumento en la retención de selenio a nivel muscular.

De la misma forma, se realizó el gráfico *Forest Plot* para la actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático de peces (Figura 2), para ello, se consideraron los datos estadísticos presentados en el Apéndice VIII.

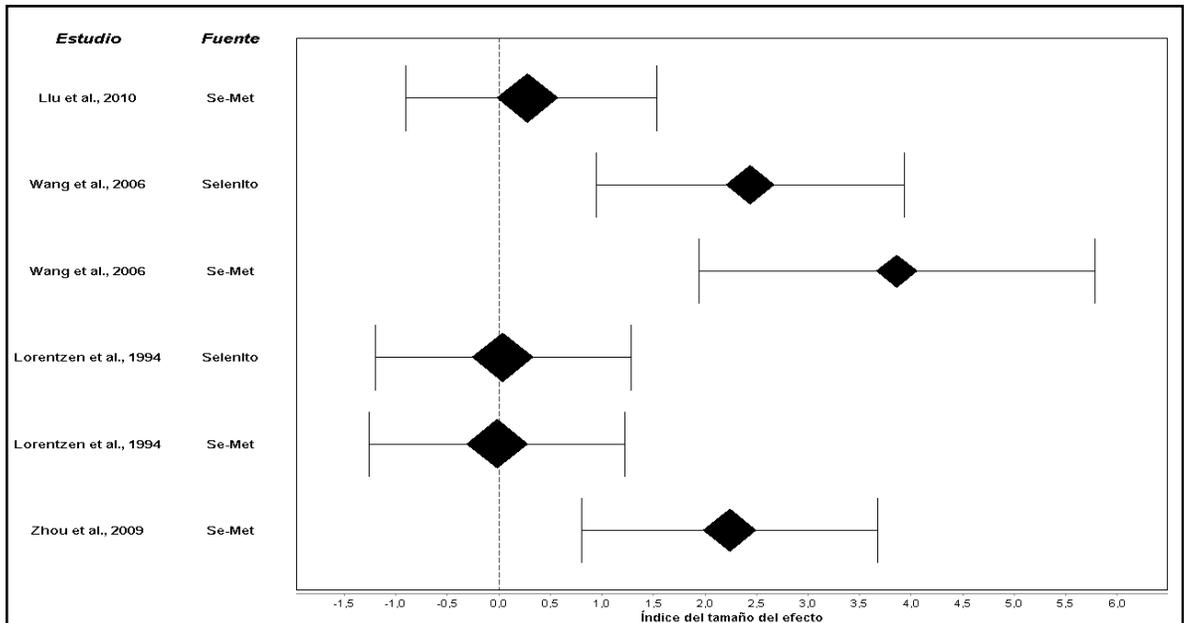


Figura 2. Gráfico *Forest Plot* de la actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático de peces

De acuerdo a la Figura 2, el estudio de Wang *et al.* (2006), para la fuente de selenometionina, presentó la menor valoración, debido a que fue el estudio con menor influencia en el cálculo de la estimación del efecto global, por lo tanto, el que presentó el intervalo de confianza más amplio y el peso, representado con un rombo de tamaño menor. Por otra parte, los estudios con influencia en el cálculo de la estimación del efecto global, fueron los que indicaron los intervalos de confianza más pequeños, por lo tanto, los que presentaron una mayor influencia en el meta-análisis para esta variable, estos estudios correspondieron a, Lorentzen *et al.* (1994), para ambas fuentes selenio y Liu *et al.* (2010), para la fuente de selenometionina.

Solo el estudio de Lorentzen *et al.* (1994), presenta un resultado negativo debido a que el índice del tamaño del efecto se presenta al lado izquierdo de la línea vertical. De la misma forma, se puede indicar que aquellos intervalos de confianza situados en su totalidad al lado derecho de la línea punteada en donde no existe efecto; Wang *et al.* (2006) y Zhou *et al.* (2009) presentan un resultado estadísticamente significativo (Molinero, 2007).

De acuerdo a la cantidad de estudios evaluados para la variable actividad de GSH-Px a nivel plasmático, tres de ellos no poseen significancia estadística, lo que indica que con la baja cantidad de estudios estadísticamente significativos, no es posible demostrar que con selenometionina la actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático aumenta.

Los datos estadísticos para la realización del gráfico *Forest Plot* de actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces (Figura 3), se muestran en el Apéndice IX.

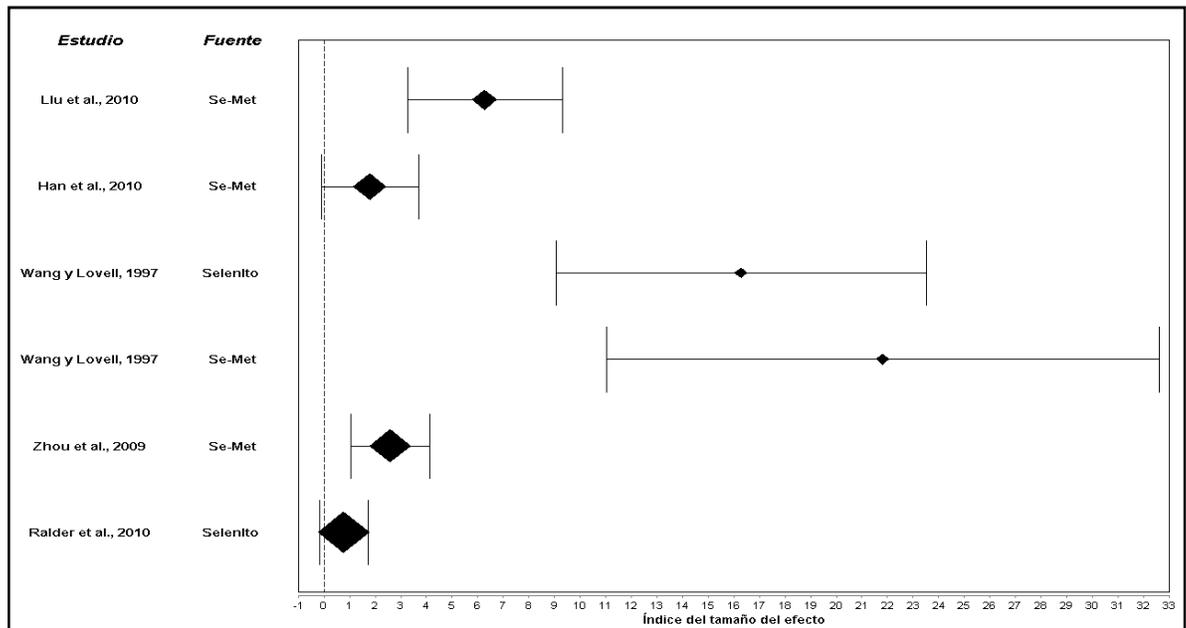


Figura 3. Gráfico *Forest Plot* para actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces.

En la Figura 3, el estudio con menor valoración para esta variable fue el de Wang y Lovell (1997), para ambas fuentes de selenio, debido a que contribuyeron con menor información al cálculo de la estimación del efecto global, por lo tanto, fueron los que presentaron el intervalo de confianza más amplio. Por otra parte, los estudios con mayor influencia en el cálculo de la estimación del efecto global; esto es, Zhou *et al.* (2009) y Raider *et al.* (2010), fueron los que indicaron los intervalos de confianza más pequeños, por lo tanto, estos estudios presentaron una valoración mayor dentro del meta-análisis.

Todos los estudios incluidos en el meta-análisis para esta variable, presentan un resultado positivo, debido a que el índice del tamaño del efecto se presenta al lado derecho de la línea que representa la ausencia de efecto. De la misma forma, se puede indicar que aquellos intervalos de confianza situados en su totalidad al lado derecho de la línea punteada; Liu *et al.* (2010) y Wang y Lovell (1997), para ambas fuentes de selenio, presentan un resultado estadísticamente significativo (Molinero, 2007).

De acuerdo a la cantidad de los estudios evaluados sólo dos de ellos no presentan significancia estadística, lo que indica que de los estudios estadísticamente significativos evaluados en el meta-análisis, son suficientemente consistentes para demostrar que la selenometionina induce un aumento en la actividad de GSH-Px a nivel hepático.

Análisis de Sensibilidad

Para la realización del análisis de sensibilidad, se procedió a remover uno por uno cada estudio y se graficó el efecto global provocado por la remoción del estudio en cuestión, para aquellas variables que presentaron heterogeneidad en sus resultados

Los datos estadísticos utilizados en la realización del gráfico del análisis de sensibilidad de la retención de selenio a nivel muscular de peces (Figura 4) se muestran en el Apéndice X.

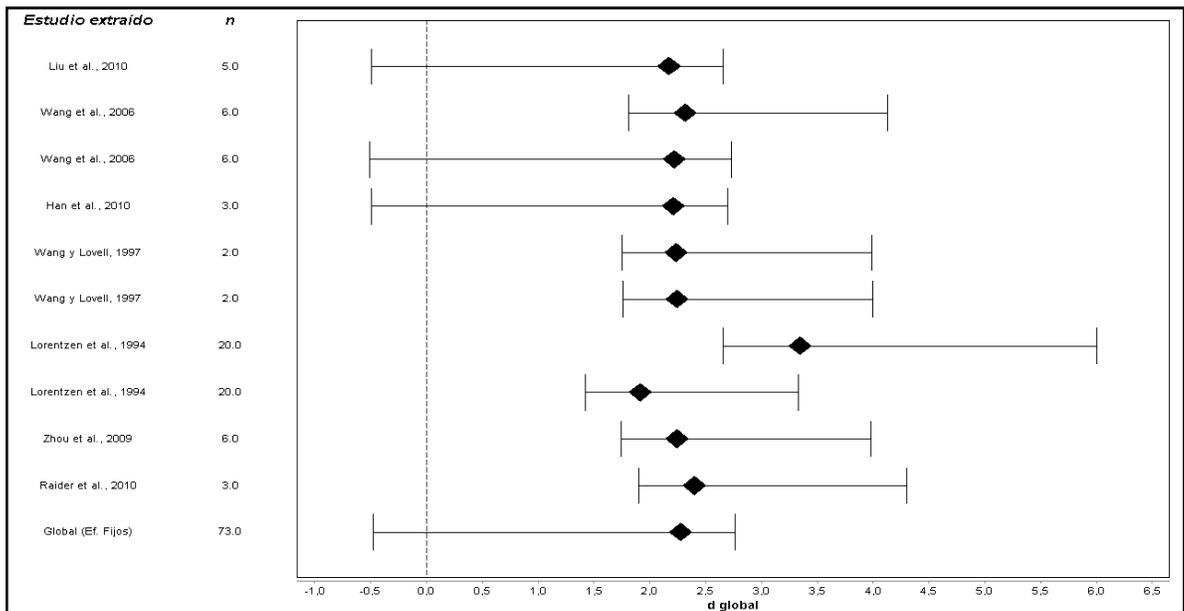


Figura 4. Análisis de sensibilidad para la variable retención de selenio a nivel muscular de peces.

La Figura 4 indica, como varía la estimación del efecto global al remover uno por uno los estudios del meta-análisis. De acuerdo a esto, se ve claramente como se desplazan las magnitudes de los efectos globales con cada estudio extraído, con respecto al efecto global que incluye todos los estudios, debido principalmente a la magnitud del peso (w_i) que posee cada uno en la estimación de este.

Se aprecia que el estudio de Lorentzen *et al.* (1994), que presentó la mayor influencia dentro del meta-análisis, es aquel estudio que al ser removido, muestra la mayor fluctuación en magnitud y desplazamiento de la estimación del efecto global, al ser graficado sin él. Por tanto, es el estudio que aporta mayor información, lo que implica que al ser removido del meta-análisis, hace que éste pierda robustez.

Los datos estadísticos utilizados en la realización del gráfico para el análisis de sensibilidad de la actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces (Figura 5), se muestran en el Apéndice XI.

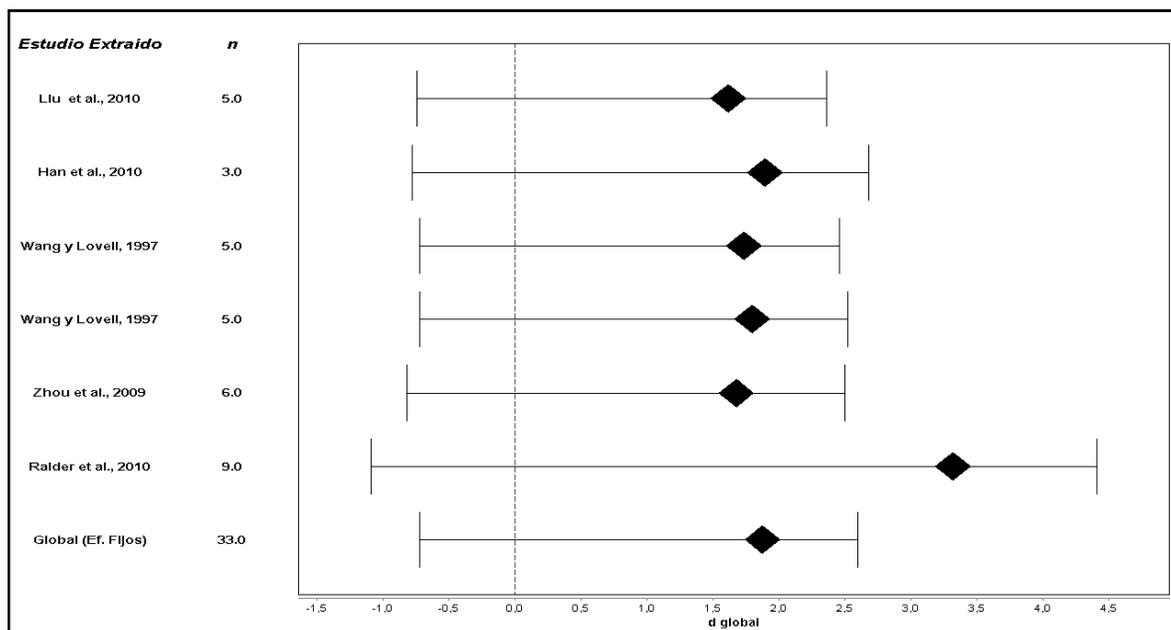


Figura 5. Análisis de sensibilidad para la variable actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces.

En la Figura 5 se muestra el análisis de sensibilidad realizado para la variable actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático, donde se aprecia que el estudio de Raider *et al.* (2010), presenta la mayor influencia dentro del meta-análisis, siendo aquel estudio que al ser removido de este, induce un cambio en magnitud y desplazamiento de la estimación global del índice del efecto, lo que implica que al ser el estudio que aporta mayor información en el meta-análisis, también es aquel que hace perder la robustez de éste al ser removido.

CONCLUSIONES

Los resultados de los estudios evaluados en el meta-análisis son suficientemente consistentes para demostrar que la selenometionina en la dieta de peces induce un aumento en la retención del mineral a nivel muscular, en comparación con el selenito de sodio.

Los resultados de los estudios evaluados no son suficientemente consistentes para demostrar que la selenometionina en la dieta de peces induce un aumento en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa a nivel plasmático.

Los resultados de los estudios evaluados en el meta-análisis son suficientemente consistentes para demostrar que la selenometionina en la dieta de peces induce un aumento en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa a nivel hepático, en comparación con el selenito de sodio

BIBLIOGRAFÍA

- Arrieta, M. 2011. Ventaja de los minerales orgánicos. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/articulos/minerales-organicos-en-la-nutricion-animal-t3463/141-p0.htm>. Leído el 24 de Julio de 2011.
- Arthur, J., Mckenzie, R. and Beckett, G. 2003. Selenium in the immune system. *The Journal of Nutrition* 133:1457S-1459S.
- Avello, M. y Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, estrés oxidativo y defensa antioxidante. *Revista Ciencia Ahora* 17(9):10-15.
- Awadeh, F., Kaincaid, R. and Jonhson, K. 1998. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. *Journal of Animal Science* 76:1204-1215.
- Bautista, E. 2010. Evaluación de dos fuentes de selenio orgánico para desarrollar leche enriquecida en hatos de bovino doble propósito. Maestro en Ciencia Animal, Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Veracruz, México. 80p.
- Beckett, G. and Arthur, J. 2005. Selenium and endocrine systems. *Journal of Endocrinology* 184:455-465.
- Behne, D. and Kyriakopoulos, A. 2001. Mammalian selenium-containing proteins. *Annual Reviews of Nutrition* 21:453-73.
- Beilstein, M.A. and Whanger, P.D. 1986. Chemical forms of selenium in rat tissues after administration of selenite or selenomethionine. *The Journal of Nutrition* 116(9):1711-1719.
- Beilstein, M.A. and Whanger, P.D. 1988. Glutathione peroxidasa activity and chemical forms of selenium in tissue of rats given selenite or selenomethionine. *Journal of Inorganic Biochemistry* 33:31-46.
- Bell, J., Cowey, C. and Adron, J. 1985. Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition* 53:149-157.
- Bell, J., Cowey, C., Adron, J. and Pirie, B. 1987. Some effects of selenium deficiency on activities and of tissue peroxidation in Atlantic salmon parr. *Aquaculture* 65:43-54.

- Borenstein, M., Hedges, L., Higgins, J. and Rothstein, H. 2009. Introduction to meta-analysis. United Kingdom. 421p.
- Botella, J. y Gambara, H. 2002. ¿Qué es el meta-análisis? Editorial Biblioteca Nueva, Madrid, España. 216p.
- Buschmann, A. 2001. Impacto ambiental de la acuicultura, el estado de la investigación en Chile y el mundo. Disponible en: <http://www.cetmar.org/DOCUMENTACION/dyp/ImpactoChileacuicultura.pdf>. Leído el: 13 de febrero de 2012.
- Castillo, N., Salvador, F. 2001. Aplicaciones de los minerales traza en la nutrición de cerdos. Disponible en: <http://comunidad.uach.mx/fsalvado/MINERALES%20QUELATADOS.htm> Leído el 08 de septiembre de 2011.
- Ceballos, A., Wittwer, F., Contreras, P., Quiroz, E. y Böhmwald, H. 1999. Actividad de glutatión peroxidasa en bovinos lecheros a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 34(12): 2331-2338p.
- Ceballos, A., Sánchez, J., Stryhn, H., Montgomery, J.B., Barkema, H.W. and Wichtel, J.J. 2008. Meta-analysis of the effect of oral selenium supplementation on milk selenium concentration in cattle. Journal of Dairy Science 92:324-342.
- Chalmers, I., Hedges, L. and Cooper, H. 2002. A brief history of research synthesis. Evaluation and the Health Professions 25:12-37.
- Chica, J. 2004. Nutrición mineral de alto rendimiento para animales. Leído el 06 de septiembre de 2011. Disponible en: http://www.contacto-i.org/site/index.php?option=com_content&view=article&id=97:nutricion-mineral-de-alto-rendimiento-para-animales&catid=3:noticias-innovadoras&Itemid=67.
- Claude, M., Oporto, J., Ibáñez, C., Brieva, L., Espinosa, C. y Arqueros, M. 2000. La ineficiencia de la Salmonicultura en Chile: Aspectos sociales, económicos y ambientales. Disponible en: <http://www.terram.cl/nuevo/images/storiesrppublicos1.pdf> Leído el: 10 de febrero de 2012.
- Close, W. 1998. The role of trace mineral proteinates in pig nutrition. In: Biotechnology in the feed Industry. Nottingham University Press. Nottingham, Reino Unido. 469-483p.
- Coe, R y Merino, C. 2003. Magnitud del efecto: Una guía para investigadores y usuarios. Revista de Psicología PUCP 21(1):147-177.
- Cohen, J. 1988. Statistical power analysis for the behavioral sciences. 2nd Edition. Estados Unidos. 569p.

Daniels, L. 1996. Selenium metabolism and bioavailability. *Biological Trace Element Research* 54:185-199.

Doren, D. y Gabella, J.P. 2001. *Salmonicultura en Chile: Desarrollo, proyecciones e impacto*. Fundación Terram. 39p.

Driscoll, D. and Copeland, P. 2003. Mechanism and activity of selenoprotein synthesis. *Annual Reviews of Nutrition* 23:17-40.

Dybkaer, R. 2001. Unit “katal” for catalytic activity (UIPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry* 73(6):927-931.

Food and Drug Administration (FDA). 2011. Bioavailability and bioequivalence requirements. Disponible en: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?CFRPart=320&showFR=1&subpartNode=21:5.0.1.1.7.1>. Leído el: 21 de enero 2012.

Gatlin, D. and Wilson, R. 1984. Dietary selenium requirement of fingerling Channel catfish. *The Journal of Nutrition* 114:627-633.

Glass, G. 1976. Primary, secondary, and meta-Analysis of research. *Educational Researcher* 5(10):3-8.

Halver, J. and Hardy, R. 2002. *Fish nutrition*. 3rd edition. Elsevier Science, San Diego, California, United States. 824p.

Han, D., Xie, S., Xiao, X., Liu, H., Zhu, X. and Yang, Y. 2010. The effects of dietary selenium on growth performances, oxidative stress and tissue selenium concentration of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition* 17:e741-e749.

Hedges, and Olkin T. 1985. *Statistical methods for meta-analysis*. Orlando, Florida, Estados Unidos. 369p.

Hernández, H. y Ríos, M. 2009. Rol biológico del selenio en el humano. *Revista Química Viva* 8(2):64-80.

Hilton, H.W., Hodson, P.V. and Slinger, S.J. 1980. The requirement and toxicity of selenium in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *The Journal of Nutrition* 110:2527-2535.

Hilton, J.W. and Hodson, P.V. 1983. Effect of increased dietary carbohydrate on selenium metabolism and toxicity in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *The Journal of Nutrition* 113:1241-1248.

- Küçükbay, F., Yazlak, H., Karaca, I., Sahin, N., Tuzcu, M., Cakmak, M. and Sahin, K. 2009. The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions. *Aquaculture Nutrition* 15:569-576.
- Lim, C. y Klesius, P.H. 2000. El papel de los minerales traza en la salud de los peces. *Avances en nutrición acuícola*. 270-281p.
- Lin, Y.H., and Shiau, S.Y. 2005. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture* 250:356-363p.
- Lipse, M. W. 1994. Identifying potentially interesting variables and analysis opportunities. *The handbook of research of synthesis*. 111-123p.
- Liu, K., Wang, X., Ai, Q., Mai, K. and Zhang, W. 2010. Dietary selenium requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L. *Aquaculture Research* 1:1-8.
- López, M., Miranda, M., Hernandez, J., Castillo, C. y Benedicto, J. 1997. Glutación peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. *Archivos de Medicina Veterinaria* 29(2):171-180.
- Lorentzen, M., Maage, A. and Julshamn, K. 1994. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 121:359-367.
- Miller, J. K. and Brzezinska-Slebozinska, E. 1993. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of Dairy Science* 76(9):2812-2823.
- Molinero, L. 2003. Heterogeneidad entre los estudios incluidos en un meta-análisis. Disponible en: <http://www.seh-lelha.org/metaanalisis.htm>. Leído el 5 de agosto de 2011.
- Molinero, L.M. 2007. Meta-análisis, una guía rápida para lectores y usuarios. *Revista de Hipertensión* 25(3):108-120.
- Montero, R. 2006. Suplementación mineral en bovinos. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/nutricion/articulos/suplementacion-mineral-bovinos-t919/p0.htm>. Leído el: 20 de febrero de 2012.
- Montero, R. 2011. Efectos fijos o aleatorios: test de especificación. 2012. Disponible en: <http://www.ugr.es/~montero/matematicas/especificacion.pdf>. Leído el 17 de febrero de 2012.
- Morales, P. 2011. El tamaño del efecto (*effect size*): análisis complementarios al contraste de medias. Disponible en: <http://www.upcomillas.es/personal/peter/investigacion/Tama%F1oDelEfecto.pdf>. Leído el: 04 de Enero de 2012.

Muñoz, A., Ramis, G., Pallarés, F. y Martínez, J. 1998. Efecto de la suplementación con selenio orgánico y vitaminas E y C en dietas de engorde de ganado porcino sobre parámetros productivos y de calidad de la canal y de la carne 13-14:89-100.

National Research Council (NRC). 1993. Nutrient requirement of fish. 124p. Disponible en: <http://www.nap.edu/openbook.php?isbn=0309048915>. Leído el: 04 de Noviembre de 2011.

PROKEL, 2012. Minerales orgánicos. Disponible en: <http://www.prokel.net/es/faq.php>. Leído el: 20 de febrero de 2012.

Raider, S., Davies, S., Jha, A., Fisher, A., Knight, J., and Sweetman, J. 2009. Supra-nutricional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Implications on selenium status and health responses. *Aquaculture* 295: 282-291.

Rider, S., Davies, S., Jha, A. and Sweetman, J. 2010. Bioavailability of co-supplements organic and inorganic zinc and selenium sources in a white fishmeal-based rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94:99-110.

Sales, J. 2009. The effect of fish meal replacement by soyabean products on fish growth: a meta-analysis. *British Journal of Nutrition* 102:1709-1722.

Sánchez-Meca, J. 2010. Cómo realizar una revisión sistemática y un meta-análisis. *Aula Abierta* 38(2):53-64.

Satoh, S., Yamamoto, H., Takeuchi, T. and Watanabe T. 1983. Effects on growth and mineral composition of carp of deletion of trace elements or magnesium from fish meal diet. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 49:431-435.

Segovia, J. 2005. Comparación de dos fuentes de selenio (orgánico vs inorgánico) en ganancias de peso y parámetros ruminales en borregas lactantes. Maestro en Ciencias, Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia. Chihuahua, México. 93p.

Schrauzer, G.N. 2000. Selenomethionine: A review of its Nutritional significance, Metabolism and Toxicity. *The Journal of Nutrition* 130(7):1653-1656.

Stowe, H. and Herdet T. 1992. Clinical assessment of selenium status of live stock. *Journal of Animal Science* 70:3928-3933.

Vinchira, J. y Muñoz – Ramírez, A. 2010. Selenio: nutriente objetivo para mejorar la composición nutricional del pescado cultivado. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia* 57:48-64.

Wang, Ch. And Lowell, R. 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 152:223-234.

Wang, Y., Han, J., Li, W. and Xu, Z. 2006. Effects of activity selenium source on growth performances, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (*Crassius aurantus gibelio*). *Animal Feed Science and Technology* 134:243-251.

Weber, M. 1997. Cultivo del Salmón: Libro de Introducción. San Francisco, California, Estados Unidos. 47p.

Wolffram, S., Grenacher, B. and Scharrer, E. 1988. Transport of selente and sulphate across the intestinal brush border membrane of pig jejunum by two common mechanisms. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 73:103-111.

Wolffram, S. 1999. Absorption and metabolism of selenium: differences between inorganic and organic sources. Pp 547-560. *In*: Lyons and Jacques. Proceedings of Alltech's 15th. Annual Symposium Biotechnology in the Feed Industry. Nottingham University Press, United Kingdom.

Zhou, X., Wang, Y., Gu, Q. and Li, W. 2009. Effects of dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture* 291:78-91.

ANEXOS**Anexo I:** Estudios incluidos en el meta-análisis.

- 1.- Liu, K., Wang, X., Ai, Q., Mai, K. and Zhang, W. 2010. Dietary selenium requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L. *Aquaculture Research* 1:1-8.
- 2.- Wang, Y., Han, J., Li, W. and Xu, Z. 2006. Effects of different selenium source on growth performances, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (*Crassius auratus gibelio*). *Animal Feed Science and Technology* 134: 243-251.
- 3.- Han, D., Xie, S., Xiao, X., Liu, H., Zhu, X. and Yang, Y. 2010. The effects of dietary selenium on growth performances, oxidative stress and tissue selenium concentration of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition* 17:e741-e749.
- 4.- Wang, Ch. And Lowell, R. 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 152: 223-234.
- 5.- Lorentzen, M., Maage, A. and Julshamn, K. 1994. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 121: 359-367.
- 6.- Zhou, X., Wang, Y., Gu, Q. and Li, W. 2009. Effects of dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture* 291: 78-91.
- 7.- Rider, S., Davies, S., Jha, A. and Sweetman, J. 2010. Bioavailability of co-supplements organic and inorganic zinc and selenium sources in a white fishmeal-based rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94: 99-110.

APÉNDICES

Apéndice I. Datos estadísticos para el cálculo del índice del tamaño del efecto de la variable retención de selenio a nivel muscular en peces.

Estudio	Tratamiento	Nivel (mg·Kg⁻¹)	E.E	S.D	n	S	J
Liu <i>et al.</i> , 2010	Control s/supl	1,13	0,09	0,20	5		
	Se-Met 1 mg	2,62	0,09	0,20	5	0,20	0,90
Wang <i>et al.</i> , 2006	Control s/supl	5,90	1,12	2,74	6		
	Selenito 0,5 mg	11,00	1,57	3,85	6	3,34	0,92
	Se-Met 0,5 mg	14,20	1,05	2,57	6	2,65	0,92
Han <i>et al.</i> , 2010	Control s/supl	0,80	0,10	0,17	3		
	Se-Met 5,0 mg	6,40	0,60	1,03	3	0,75	6,01
	Selenito 0 mg	0,12	0,01	0,02	2		
Wang y Lowell, 1997	Se-Met 0,4 mg	0,41	0,01	0,02	2	0,02	0,57
	Se-Met 0 mg	0,12	0,01	0,03	2		
	Se-Met 0,4 mg	0,54	0,01	0,03	2	0,03	0,57
	Control s/supl	0,48	0,02	0,09	20		
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	Selenito 2 mg	0,57	0,01	0,04	20	0,07	0,98
	Se-Met 2mg	2,51	0,06	0,27	20	0,20	0,98
	Control s/supl	6,10	0,78	1,91	6		
Zhou <i>et al.</i> , 2009	Se-Met 0,5 mg	13,52	1,31	3,21	6	2,64	0,92
	Control s/supl	0,21	1,31	3,21	3		
Rider <i>et al.</i> , 2010	Control s/supl	0,23	0,01	0,02	3	0,02	0,80
	Selenito 1,79 mg						

Apéndice II. Datos estadísticos para el cálculo del índice del tamaño del efecto para la variable actividad de GSH-Px a nivel plasmático en peces.

Estudio	Tratamiento	Nivel(nktal·L)	E.E	S.D	n	S	J
Liu <i>et al.</i> , 2010	Control s/supl	0,03	0,04	0,09	5		
	Se-Met 0,8 mg	0,13	0,05	0,11	5	0,31	0,9032
Wang <i>et al.</i> , 2006	Control s/supl	96,69	11,17	27,36	6		
	Selenito 0,5 mg	191,71	17,50	42,87	6	35,96	0,9231
	Se-Met 0,5 mg	228,37	14,34	35,11	6	31,48	0,9231
	Control s/supl	271,72	266,72	536,40	5		
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	Selenito 1 mg	305,06	450,09	1006,43	5	827,23	0,9032
	Se-Met 2 mg	363,37	150,03	335,48	5	483,86	0,9031
Zhou <i>et al.</i> , 2009	Control s/supl	100,00	16,34	40,02	6		
	Se-Met 0,5 mg	221,50	23,84	35,39	6	50,05	0,9231

Apéndice III. Datos estadísticos para el cálculo del índice del tamaño del efecto para la variable actividad de GSH-Px a nivel hepático en peces.

Estudio	Tratamiento	Nivel (nkat/L)	E.E	S.D	n	S	J
Liu <i>et al.</i> , 2010	Control s/supl	0,32	0,060	0,134	5		
	Se-Met 1,0 mg	1,51	0,060	0,134	5	0,134	0,903
Han <i>et al.</i> , 2010	Control s/supl	1,50	0,050	0,090	3		
	Se-Met 0,5 mg	2,50	0,360	0,620	3	0,445	0,800
Wang y Lowell, 1997	Selenito 0 mg	0,01	0,003	0,007	5	0,007	0,903
	Selenito 04 mg	0,13	0,003	0,007	5		
	Se-Met 0 mg	0,01	0,002	0,005	5		
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	Se-Met 0,4 mg	0,13	0,002	0,005	5	0,005	0,903
	Control s/supl	20,00	1,750	4,287	6		
Zhou <i>et al.</i> , 2009	Se-Met 0,5 mg	32,02	1,740	4,262	6	4,274	0,923
	Control s/supl	0,07	0,003	0,010	9		
	Selenito 1,79 mg	0,08	0,004	0,013	9	0,012	0,952

Apéndice IV. Datos estadísticos para la obtención del contraste de homogeneidad de la variable retención de selenio en músculo en peces.

Estudio	Categoría	n	$S \cdot d^2$	w_i	$w_i \cdot d$	$w_i \cdot d^2$
Liu <i>et al.</i> , 2010	O	5	2,636	0,379	2,537	16,965
Wang <i>et al.</i> , 2006	I	6	0,496	2,017	3,982	7,862
Wang <i>et al.</i> , 2006	O	6	0,679	1,472	4,242	12,222
Han <i>et al.</i> , 2010	O	3	3,680	0,272	1,634	9,826
Wang y Lowell, 1997	I	2	7,584	0,132	0,957	6,945
Wang y Lowell, 1997	O	2	10,716	0,093	0,823	7,253
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	I	20	0,119	8,371	10,443	13,028
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	O	20	1,337	0,748	7,440	74,017
Zhou <i>et al.</i> , 2009	O	6	0,614	1,630	4,227	10,963
Raider <i>et al.</i> , 2010	I	3	0,738	1,355	1,252	1,157
Σ				16,470	37,537	160,239

I: Selenio inorgánico; O: Selenio orgánico

Apéndice V. Datos estadísticos para la obtención del contraste de homogeneidad de la variable actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático en peces.

Estudio	Categoría	n	$S \cdot d^2$	w_i	$w_i \cdot d$	$w_i \cdot d^2$
Liu <i>et al.</i> , 2010	O	5	0,404	2,476	0,691	0,193
Wang <i>et al.</i> , 2006	I	6	0,581	1,720	4,196	10,235
Wang <i>et al.</i> , 2006	O	6	0,955	1,047	4,045	15,621
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	I	5	0,400	2,500	0,091	0,003
Lorentzen <i>et al.</i> , 1994	O	5	0,400	2,500	-0,039	0,001
Zhou <i>et al.</i> , 2009	O	6	0,543	1,842	4,130	9,256
Σ				12,086	13,114	35,309

I: Selenio inorgánico; O: Selenio orgánico

Apéndice VI. Datos estadísticos para la obtención del contraste de homogeneidad de la variable actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático en peces.

Estudio	Categoría	n	$S \cdot d^2$	w_i	$w_i \cdot d$	$w_i \cdot d^2$
Liu <i>et al.</i> , 2010	O	5	2,375	0,421	2,646	16,631
Han <i>et al.</i> , 2006	O	4	0,936	1,068	1,920	3,451
Wang y Lowell, 1997	I	5	13,662	0,073	1,192	19,414
Wang y Lowell, 1997	O	5	30,280	0,033	0,720	15,718
Zhou <i>et al.</i> , 2009	O	6	0,614	1,628	4,227	10,973
Raider <i>et al.</i> , 2010	I	9	0,239	4,183	3,255	2,532
Σ				7,408	13,961	68,702

I: Selenio inorgánico; O: Selenio orgánico

Apéndice VII. Datos estadísticos para la realización de *Forest Plot* de retención de selenio a nivel muscular de peces.

Estudio	Fuente	IC inf.	IC sup.	d	wi
Liu et al., 2010	Se-Met	3.845	10.685	6,687	0,379
Wang et al., 2006	Selenito	0.594	3.354	1,974	2,017
Wang et al., 2006	Se-Met	1.261	4.501	2,881	1,472
Han et al., 2010	Se-Met	2.254	9.774	6,014	0,272
Wang y Lovell, 1997	Selenito	1.868	12.648	7,258	0,132
Wang y Lovell, 1997	Se-Met	2.400	15.237	8,817	0,093
Lorentzen et al., 1994	Selenito	0.568	1.928	1,248	8,371
Lorentzen et al., 1994	Se-Met	7.688	12.208	9,948	0,748
Zhou et al., 2009	Se-Met	1.054	4.134	2,593	1,630
Raider et al., 2010	Selenito	-0.756	2.604	0,923	1,355

Apéndice VIII. Datos estadísticos para la realización de *Forest Plot* de la actividad de la enzima GSH-Px a nivel plasmático de peces.

Estudio	Fuente	IC inf.	IC sup.	d	wi
Liu et al., 2010	Se-Met	-0,90	1,53	0,28	2,476
Wang et al., 2006	Selenito	0,95	3,93	2,44	1,720
Wang et al., 2006	Se-Met	1,94	5,78	3,86	1,047
Lorentzen et al., 1994	Selenito	-1,20	1,28	0,04	2,500
Lorentzen et al., 1994	Se-Met	-1,26	1,22	-0,02	2,500
Zhou et al., 2009	Se-Met	0,80	3,68	2,24	1,842

Apéndice IX. Datos estadísticos para la realización de *Forest Plot* de la actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces.

Estudio	Fuente	IC inf.	IC sup.	d	wi
Liu et al., 2010	Se-Met	3,26	9,3	6,28	0,421
Han et al., 2010	Se-Met	-0,10	3,7	1,80	1,068
Wang y Lovell, 1997	Selenito	9,05	23,57	16,29	0,073
Wang y Lovell, 1997	Se-Met	11,03	32,61	21,82	0,033
Zhou et al., 2009	Se-Met	1,06	4,14	2,60	1,628
Raider et al., 2010	Selenito	-0,18	1,74	0,78	4,183

Apéndice X. Datos estadísticos correspondientes al análisis de sensibilidad de la retención de selenio a nivel muscular de peces.

Estudio extraído	Fuente	IC inf.	IC sup.	d global	n
Liu et al., 2010	Se-Met	-0,49	2,66	2,18	5
Wang et al., 2006	Selenito	1,81	4,13	2,32	6
Wang et al., 2006	Se-Met	-0,51	2,73	2,22	6
Han et al., 2010	Se-Met	-0,49	2,70	2,22	3
Wang y Lovell, 1997	Selenito	1,75	3,99	2,24	2
Wang y Lovell, 1997	Se-Met	1,76	4,00	2,24	2
Lorentzen et al., 1994	Selenito	2,66	6,00	3,35	20
Lorentzen et al., 1994	Se-Met	1,42	3,33	1,91	20
Zhou et al., 2009	Se-Met	1,74	3,98	2,25	6
Raider et al., 2010	Selenito	1,90	4,30	2,40	3
Global (Ef. Fijos)		-0,48	2,76	2,28	73

Apéndice XI. Datos estadísticos correspondientes al análisis de sensibilidad de la actividad de la enzima GSH-Px a nivel hepático de peces.

Estudio extraído	Fuente	IC inf.	IC sup.	d global	n
Liu <i>et al.</i> , 2010	Se-Met	-0,74	2,36	1,62	5
Han <i>et al.</i> , 2010	Selenito	-0,78	2,68	1,90	6
Wang y Lovell, 1997	Se-Met	-0,72	2,46	1,74	6
Wang y Lovell, 1997	Se-Met	-0,72	2,52	1,80	3
Zhou <i>et al.</i> , 2009	Selenito	-0,82	2,50	1,68	2
Raider <i>et al.</i> , 2010	Se-Met	-1,09	4,41	3,32	2
Global (Ef. Fijos)		-0,72	2,60	1,88	33