

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

UNIDAD DE POSGRADO

Efecto de una dieta con grasa "light" sobre el tejido adiposo, hepático e intestino de ratas

Tesis para optar el Grado Académico de Magíster en Nutrición mención Aspectos Biológicos de la Nutrición

AUTOR:

Maria Virginia Del Pilar Villanueva Coz

LIMA – PERÚ 2007

ASESOR

*Dr. Carlos Guido Ayala Macedo
Profesor Principal de la Facultad de Medicina
Universidad Nacional Mayor de San Marcos*

DEDICATORIA

A DIOS Nuestro Padre, por su infinito amor.

*A Carlos y Virginia por su amor, comprensión, aliento que **SIEMPRE** me han brindado.*

A mis hermanos, con quienes compartimos ansias de superación.

Al Dr. CARLOS GUIDO AYALA MACEDO, Asesor de la Tesis, por su colaboración en el desarrollo del trabajo, la interpretación y análisis de los resultados.

A mis compañeros, quienes contribuyeron en todo momento en mantener un ambiente de camaradería y competencia leal.

INDICE

	Página
<i>GLOSARIO DE TERMINOS</i>	V
<i>RESUMEN</i>	VII
<i>INTRODUCCIÓN</i>	01
<i>HIPÓTESIS</i>	13
<i>OBJETIVOS</i>	13
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i>	15
<i>RESULTADOS</i>	32
<i>DISCUSIÓN</i>	42
<i>CONCLUSIONES</i>	54
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	55
<i>ANEXOS</i>	62

GLOSARIO DE TERMINOS

<i>AAP</i>	<i>Alquil aril polieter</i>
<i>ACETIL CoA</i>	<i>Acetil coenzima A</i>
<i>ATP</i>	<i>Adenosin tri fosfato</i>
<i>DHL</i>	<i>Deshidrogenasa láctica</i>
<i>EDTA</i>	<i>Ethylenediamine tetraacetico</i>
<i>6PGDH</i>	<i>6 fosfogluconato deshidrogenasa</i>
<i>G6PDH</i>	<i>glucosa 6 fosfato deshidrogenasa</i>
<i>G6P</i>	<i>glucosa 6 fosfato.</i>
<i>MOPS</i>	<i>Ac. Morpholino propaneo Sulfónico.</i>
<i>MSM</i>	<i>Manitol, sucrosa, MOPS</i>
<i>NADH</i>	<i>Nicotinamide adenina dinucleotido reducido</i>
<i>NADP</i>	<i>Nicotin adenin dinucleótido fosfato.</i>
<i>NADPH</i>	<i>Nicotin adenin dinucleotido fosfato reducido</i>
<i>NPU</i>	<i>Utilización proteica neta (Nitrógeno retenido)</i>
<i>NDpcal%</i>	<i>Net dietary protein calories (calorías totales de la dieta entregado en forma de proteínas)</i>
<i>OMS</i>	<i>Organización Mundial de la Salud.</i>

<i>P</i> %	<i>Concentración proteica</i>
<i>PK</i>	<i>Piruvato kinasa.</i>
<i>U</i>	$\mu\text{mol}(\text{NAD})(\text{NADP})/\text{min}/37^{\circ}\text{C}$

RESUMEN

Objetivo: Determinar los efectos que pueden ocasionar los ácidos grasos constituyentes del aceite y/o grasa denominada comercialmente "Light" sobre el tejido adiposo, hepático e intestinal y las posibles alteraciones enzimáticas a nivel hepático en ratas albinas.

Diseño: Estudio prospectivo, longitudinal, experimental aleatorizado.

Materiales y Métodos: Realizado en 30 ratas machos raza Wistar de 21 días de edad, distribuidas en tres grupos al azar. El grupo (A) recibió una dieta con 33% de ácidos grasos provenientes de un Aceite Vegetal, el grupo (B) recibió 33% de un Aceite "Light" y el grupo (C) recibió 33% de ácidos grasos presentes en Margarina "Light".

Resultados: El peso de las ratas se incremento durante todo el experimento (Grupo A 593%, Grupo B 586%, Grupo C 624%). La composición corporal del grupo C (alimentado con margarina "Light") registro un alto contenido de agua 146%, bajo contenido de proteínas 17,74 % y bajo contenido de lípidos 12,05% en comparación con los grupos A y B

La actividad enzimática de la Piruvato kinasa (E.C. 2.7.1.40) y la de Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (E.C. 1.1.1.49) en el grupo C se incremento en 0,8 u/g en relación al grupo A. El nivel de Lactato deshidrogenasa (E.C. 1.1.1.27) disminuyo en el grupo C (438,7 u/g) y la 6-Fosfogluconatodeshidrogenasa (E.C. 1.1.1.41) se incremento en el grupo B (1,3 u/g). Los niveles de peroxidación lipídica del grupo C registraron un incremento de 117.96% de nivel de lipoperoxidación al ser comparados con el grupo A (100%) y B (104.63%)

La concentración de proteínas hepáticas se incremento en el grupo B (0,86 g/dL)

En el tejido hepático del grupo C se observó menor volumen individual del hepatocito con un alto grado de infiltración acuosa, anisonucleosis, poiquilonucleosis e infiltración grasa.

El tejido adiposo presento mayor volumen individual.

En el tejido intestinal las células de paneth y las células cilíndricas perdieron su forma habitual y mayor deterioro histológico al ser comparado con los grupos A y B.

Conclusiones: Ratas alimentadas con dietas que incluían ácidos grasos provenientes de la grasa tipo Margarina Vegetal "Light", presentaron trastornos en la composición corporal, variaciones en las concentraciones enzimáticas, peroxidación lipídica y cambios morfológicos en el tejido hepático, adiposo e intestinal.

SUMMARY

Objective: To determine the effects caused by fatty acids comprised in oil and fats commercially designated as "light" on adipose, liver, and intestinal tissue of Albino rats, as well as possible liver enzyme alterations in these animals.

Design: Prospective, longitudinal, experimental, and randomized study.

Materials and Methods: The study was performed in 30 Wistar male rats, 21 days old, who were randomly assigned to one of three groups. The animals in group (A) received a diet comprising a 33% fatty acid content from vegetable oils, Group (B) received the same fatty acid content from a "light" oil, and Group (C) received a 33% fatty acid content from "light" margarine.

Results: Weights of the animals increased during the whole experiment (Group A, 593%; Group B, 586%; and Group C, 624%). Body composition of animals in Group C (fed with "light" margarine) revealed a high water content, 146%; low protein content, 17,74 %, and a low lipid content, 12,05% compared to body composition in groups A and B.

Pyruvate kinase enzyme activity (E.C. 2.7.1.40) and that of glucose 6-phosphate dehydrogenase (E.C. 1.1.1.49) in Group C had a 0,8 u/g improvement compared to Group A. Lactate dehydrogenase levels (E.C. 1.1.1.27) was reduced in Group C (438,7 u/g), and 6-phosphogluconatedehydrogenase levels (E.C. 1.1.1.41) increased in Group B (1,3 u/g). Lipid peroxidation in Group C animals had a 117.96% increase when compared to those of Group A (100%) and B (104.63%).

Liver protein concentrations were increased in Group B (0,86 g/dL)

Liver tissues of Group c animals had lower individual hepatocyte volumes, with a high degree of water infiltration, and isonucleosis, poikilonucleosis and fat infiltration.

Adipose tissue had a higher individual volume.

In intestinal tissues from Group C animals, both Paneth and cylinder-shaped cells lost their usual appearance, and they had more histological deterioration compared to intestinal cells from Groups A and B animals.

Conclusions: Rats fed with diets including fatty acids from "light" vegetable margarine had alterations in their body composition, they also had variations in enzyme concentrations and lipid peroxidation, as well as morphological changes in liver, adipose, and intestinal tissues.

INTRODUCCIÓN

Salud es definida como un estado de equilibrio, en el que existe una dinámica funcional y estructural óptimas, que permite vivir al individuo sin molestias físicas ni mentales, en un ambiente y circunstancias en el que se desenvuelve (1, 2, 3). Siendo la nutrición un pilar importante para lograr una salud óptima es necesario tener en cuenta los requerimientos de la dieta, que de otro lado, está vinculada estrechamente a las condiciones socio-económicas de la población (4).

En la dieta diaria, debe asegurarse un adecuado aporte de agua, macronutrientes (Carbohidratos, Lípidos y Proteínas) y micronutrientes (Vitaminas y Minerales), que permitan al organismo aprovisionarse de los elementos necesarios para su adecuado funcionamiento metabólico (5), de no ser así, se evidencia un impacto sobre la curva ponderal de crecimiento y el tiempo de vida (6, 7); debido a cambios en el metabolismo basal, la producción de energía y la acción dinámica específica (8), ocasionando daños en tejidos como el hepático, cerebral, adiposo e intestinal, dependiendo del momento en que la injuria se presenta.

Cuando el ser humano ingiere los nutrientes que le

proporcionan energía, estos van a ser absorbidos a nivel intestinal. El tejido intestinal está constituido por células denominadas enterocitos; estas células, al agruparse forman las vellosidades intestinales, responsables de la digestión y absorción de nutrientes (9), los cuales son utilizados por diversos tejidos como hígado, cerebro, corazón, riñones, intestino y músculo, hasta un 70% del consumo basal de energía. Dos tercios del gasto basal se destinan al funcionamiento de las bombas iónicas y a la reposición de proteínas; por lo que cualquier alteración en los niveles de ingesta energética afecta su adecuado metabolismo (10). Este ritmo del consumo de energía se correlaciona con la masa corporal y es regulado por las hormonas, en especial las tiroideas (11). La energía consumida debe ser utilizada permanentemente de acuerdo a la demanda y regulada por diferentes enzimas que controlan el metabolismo en los tejidos. (1).

Es importante destacar que la principal fuente de energía presente en nuestra dieta son los carbohidratos y representa el 50-60% del requerimiento energético del individuo. La mayor parte de estos está constituida por el almidón y las dextrinas, procedentes de los cereales y los tubérculos que ingerimos diariamente. Para su

absorción intestinal, los carbohidratos deben ser digeridos a monosacáridos; siendo los principales: glucosa, fructuosa y galactosa. Al ingresar en la sangre, los monosacáridos son transportados directamente al hígado a través del sistema portal. En el hepatocito se metabolizan más de un 60% de dichos monosacáridos. La glucosa es oxidada principalmente para generar ATP, el exceso de glucosa puede ser almacenada como glucógeno hasta un 8% respecto al peso del hepatocito húmedo y posteriormente el exceso almacenado como grasa. La entrada a las vías de oxidación se realiza siempre con la fosforilización directa del monosacárido, utilizando el fósforo derivado de la hidrólisis de ATP, en reacción catalizada por quinasas específicas.

La glucólisis es el conjunto de reacciones bioquímicas a través de las cuales la glucosa es metabolizada hasta producir compuestos de tres átomos de carbono, tales como el piruvato.

En el citoplasma la glucosa se transforma en piruvato y en anaerobiosis se transforma en lactato por la enzima lactato deshidrogenada (E.C.1.1.1.27). El piruvato ingresa a la mitocondria donde es oxidado a acetil-CoA, y a continuación entra en el ciclo del ácido cítrico,

proporcionando energía bajo la forma de ATP. En presencia de oxígeno, el piruvato, es oxidado completamente en la mitocondria a través del ciclo del ácido cítrico (glicolisis aeróbica). La glucólisis desempeña un papel central en el metabolismo celular al permitir la obtención de energía a partir de glucosa, y de otros azúcares, tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. Sin embargo, no es éste el único papel de la glucólisis, ya que sirve también como fuente para la síntesis de compuestos tales como los ácidos grasos, el colesterol, aminoácidos entre otros (12, 10, 5).

La enzima Piruvato quinasa (E.C. 2.7.1.40) es una enzima reguladora de la via glicolítica, registra al menos tres isoenzimas en tejidos de mamíferos, localizadas en el músculo y cerebro (Tipo M), en el hígado y riñón (Tipo L), y en el resto de tejidos, (Tipo A). La conformación más activa de esta enzima esta favorecida por el fosfoenolpiruvato (PEP) y por fructuosa 1-6-bifosfato (F.1,6 P), y modulación covalente, mientras que la conformación menos activa está fosforilada. El contenido de la Enzima Piruvato quinasa aumenta cinco veces con la ingesta de una dieta rica en carbohidratos y disminuye tres veces durante el ayuno (12, 10).

La actividad glucolítica en el músculo durante el ejercicio, genera lactato que es liberado a la circulación sanguínea, luego se dirige al hígado para formar glucosa (GLUCONEOGENESIS). Una vía alterna de la oxidación de la glucosa, es la vía de las pentosas, que es la fuente principal de NADPH citoplasmático, el cual es necesario para la biosíntesis de ácidos grasos. Este vía es regulada por la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (E.C. 1.1.1.49), enzima que utiliza NADP⁺ como co-sustrato y que cataliza la oxidación de la glucosa 6-fosfato (G6P). En esta misma vía interviene la Enzima 6-fosfogluconatodeshidrogenasa (E.C. 1.1.1.41), ambas reguladas en su actividad por la relación de concentraciones NADPH/ NADP⁺ en el citoplasma (una relación de 9:1 produce inhibición total de la acción de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa). Después de un ayuno prolongado, si se administra una dieta rica en carbohidratos (80%) estimula la lipogénesis en la rata, e induce un incremento simultáneo entre 5 y 10 veces, de la concentración de ambas enzimas en el hígado (12, 10). Otro macronutriente importante en la dieta son los lípidos, que al ser absorbidos a nivel intestinal, nos proporcionan los ácidos grasos. Estos se encuentran en

todas las células, generalmente esterificados, constituyendo desde el punto de vista cuantitativo, la mejor forma de almacenar energía para el organismo, especialmente en el tejido adiposo, siendo la única forma en que podemos llevar con nosotros grandes depósitos de energía; y llegar a sobrevivir en períodos prolongados en los que no disponemos de calorías del exterior (12, 10). Cabe recordar que existen dos tipos principales de tejido adiposo: el blanco y el pardo. El tipo blanco es el tipo común en los mamíferos; constituye casi todo el tejido adiposo del hombre. Mientras que el tejido adiposo pardo es muy escaso en el humano, pero abundante en muchos mamíferos (9).

El tejido adiposo blanco tiene un mecanismo de regulación hormonal, siendo la insulina que favorece su síntesis (lipogénesis) y especialmente el glucagón que favorece su movilización (lipólisis), generándose ácidos grasos, los cuales pueden ser oxidados en el interior de la matriz mitocondrial.

En su mayor parte, los ácidos grasos aparecen en el citosol, ya sea mediante biosíntesis, o a través del transporte de los triacil glicerolés o los ácidos grasos procedentes de los depósitos de grasa del exterior de la célula. Estos ácidos grasos deben

transportarse al interior de la matriz mitocondrial para su oxidación.

La oxidación de los lípidos se inicia en la membrana externa de la mitocondria, donde por medio de la enzima Acil CoA sintetasa (E.C. 6.2.1.2), los ácidos grasos libres pasan a convertirse en acil CoA. Como la oxidación se realiza en la matriz mitocondrial el acil CoA tiene que ser transferido al interior de la mitocondria, esto se realiza por medio del sistema Carnitin acil-transferasa (E.C. 1.2.3.7), situado en la membrana interna de la mitocondria, que une la carnitina al Acil CoA y lo transporta al interior de la mitocondria para proceder a la beta oxidación de los ácidos grasos y luego liberar Acetil CoA que después ingresa al Ciclo de Krebs, proporcionándonos energía (13, 10). Sin embargo, durante este proceso los ácidos grasos poliinsaturados pueden ser blanco fácil para ser atacados por radicales libres, originando peroxidación de lípidos, que ocasiona daño celular como resultado del estrés oxidativo. Se ha establecido que las enzimas antioxidantes involucradas en la protección contra el estrés oxidativo, son susceptibles a la manipulación dietética (14).

El consumo de alimentos en los pueblos desarrollados

registra hábitos alimentarios que los exponen a malnutrición por exceso, en tanto que los pueblos en vías de desarrollo y pobres tienen altas tasas de deficiencias nutricionales (4). Estos cambios de estilo de vida de nuestras poblaciones (como consecuencia de vida acelerada, de los medios de comunicación, la migración masiva del campo a la ciudad y otros), hacen que el poblador modifique sus hábitos alimentarios y en muchos casos, no están de acuerdo con sus requerimientos nutricionales, como al incluir en su alimentación productos y/o alimentos sofisticados (1, 15, 2, 16), tales como los alimentos llamados "Light" que se caracterizan por su menor contenido de calorías en relación al alimento original (50% menos de grasa o carbohidratos). Estos productos "Light" no pierden el sabor, textura y apariencia de los alimentos originales (17).

La elaboración de estos productos tuvo en un primer momento la finalidad de disminuir los niveles de colesterol y/o sodio para, disminuir los problemas de hipertensión arterial, así como, ocasionar una disminución del peso (18, 16).

Actualmente existe en el mercado una proliferación de los llamados productos "Light", los cuales son

consumidos por la población de manera insistente, sin control alguno, con la finalidad única de disminuir su peso, sin tomar en cuenta las complicaciones que puede derivar esta situación (16).

Los aceites y grasas "Light" están constituidos por productos sintéticos cuyas características físicas y organolépticas se asemejan a las de los lípidos, sin embargo su valor energético produce muy pocas calorías al ser metabolizados, además deben estar libres de efectos tóxicos como los fenoles (gospol, ac. Malvalico). (19, 20, 21, 23, 24, 25). Estos sustitutos de las grasas están constituidos por ácidos grasos y un poliéster de sacarosa, que se caracteriza por tener ventajas sobre la termoestabilidad que permite fritura y horneado, además, de no ser absorbible, pero que presenta efectos adversos como flatulencia, meteorismo, diarreas, náuseas cuando se consume en exceso. Un inconveniente es, que producen malabsorción de vitaminas liposolubles (26, 27, 28, 29). También encontramos como sustituto graso a TACTA, conocido como "retrograsa" porque se trata de un triácido sustituido por tres alcoholes de cadena larga, esto es, una especie de triglicéridos con las funciones químicas al revés. Es prácticamente igual a los ácidos grasos,

con la diferencia que no es hidrolizado en el tracto intestinal y por consiguiente no aporta calorías (23).

En el mercado encontramos un sin número de sustitutos de grasa, así como algunos carbohidratos como gomas, pectinas, fibra. Los productos comerciales de carbohidratos elaborados como el simplese, maltrin, N-oil, salatrim, caprenina, etc., cuya característica principal es que al ser metabolizados aportan entre 2 a 4 Kcal/g, según cada caso (17, 21, 23, 24).

Los alimentos "Light" que son consumidos por la población están bajo la forma de aceites, margarinas, bebidas gaseosas, yogurt, etc., (17).

Durante la elaboración de las grasas y/o aceites denominados comercialmente "Light" se producen transformaciones indeseables que alteran las propiedades biológicas y bioquímicas de éstas. Una de las más importantes alteraciones es la transformación de los ácidos grasos Cis a Trans, fenómeno que también ocurre durante el proceso térmico de la elaboración de alimentos. La sensibilidad de las grasas y/o aceites denominados comercialmente "Light" varía notablemente ante el tratamiento térmico y la composición de los ácidos grasos de los mismos. La industria utiliza tecnología especializada para modificar la fluidez y

estabilidad de las grasas y/o aceites ante la oxidación. Uno de estos procesos es la hidrogenación total o parcial, para producir las margarinas, en cuyo proceso se producen aproximadamente 40% de isómeros trans (30). El mercado y consumo de los productos "Light" esta en aumento vertiginoso, tanto por parte de la Industria Alimentaria como por el propio consumidor, los estudiosos estiman que cada año estos productos marcan una ganancia de cientos de millones de dólares (17), los cuales aumentan geométricamente y que además, no existe una regulación clara sobre el contenido adecuado de los ingredientes que conforman dichos productos, para ser considerados como "Light", y esto puede ser perjudicial para el consumidor. Sin embargo el público se ve motivado a la compra de estos productos por los resultados "milagrosos" de éstos, mucho más aún cuando la publicidad resalta con figuras esbeltas en ambos sexos los beneficios de éstos productos (31, 32, 17, 33).

En tal sentido el planteamiento del problema sería establecido de la siguiente manera:

¿Las ratas albinas sometidas al consumo de dietas con ácidos grasos provenientes del aceite y/o de la grasa comercialmente denominada "Light", presentan

*alteraciones enzimáticas a nivel hepático y cambios
histológicos en el tejido adiposo, hepático e
intestinal?*

HIPÓTESIS

Ratas alimentadas con dietas que tienen ácidos grasos bajo la forma de aceite y/o grasa "Light" presentan cambios a nivel histológico en el tejido adiposo, hepático e intestinal y variaciones enzimáticas a nivel hepático.

OBJETIVOS

A) OBJETIVO GENERAL

- *Evaluar los efectos de los ácidos grasos presentes en aceites y/o grasas "Light" a nivel histológico en el tejido adiposo, hepático e intestinal y variaciones enzimáticas a nivel hepático en ratas albinas.*

B) OBJETIVOS ESPECIFICOS

- *Determinar la relación existente entre el consumo de ácidos grasos constituyen los aceites y/o grasas "Light" y los cambios histológicos sobre el tejido adiposo, hepático e intestinal en ratas albinas sometidas a una alimentación con este tipo de grasas durante 45 días.*
- *Establecer la correlación existente entre el*

consumo de los ácidos grasos que constituyen los aceites y/o grasas "Light" en la dieta y las alteraciones enzimáticas a nivel hepático en ratas albinas sometidas a una alimentación con este tipo de grasas durante 45 días.

MATERIAL Y MÉTODOS

1) MATERIAL BIOLÓGICO.

Es un estudio prospectivo, longitudinal, experimental y aleatorizado en animales. Se utilizaron 33 ratas albinas machos, de la raza Wistar, de 21 días de edad de nacido; con un peso promedio de 40.98 g ± 2.96, obtenidas del Centro Nacional de Producción de Biológicos-Instituto Nacional de Salud (Ministerio de Salud). Fueron sacrificadas al azar tres ratas al inicio del experimento, con la finalidad de tener un patrón de referencia a tiempo cero, luego las 30 ratas restantes fueron distribuidas al azar y colocadas en jaulas individuales, de 28 x 24 x 20 cm, mantenidas en un ciclo de doce horas de luz y doce horas de oscuridad (34, 35, 36), (Tabla N° 1).

El alimento y el agua fueron suministrados ad libitum, controlándose el consumo de ambos diariamente. Para la alimentación se pesó 25 gramos de alimento para cada rata, el cual fue suministrado a las 8 a.m. durante el desarrollo del experimento. El alimento que no fue consumido por los animales fue recolectado y pesado a partir de las 8 a.m. del día siguiente.

El peso de las ratas fue controlado diariamente a partir de las 8 a.m, utilizando una balanza electrónica para animales menores, marca Kern.

Durante todo el período experimental, los animales se mantuvieron a temperatura ambiente y ventilación constantes; bajo estrictas condiciones de limpieza.

Al finalizar el experimento, fueron pesados y sacrificados por decapitación utilizando una tijera grande, y se recolectó la sangre en una caja petri. Inmediatamente después, se removió el hígado, intestino y tejido adiposo. Los fueron colocados en papel aluminio que estaba sobre hielo picado; éstos órganos fueron pesados en una balanza analítica marca Sauter de sensibilidad 0.0001g.

El hígado fue sometido al procedimiento de perfusión con suero fisiológico para eliminar la sangre y otros elementos que puedan interferir con la realización de las determinaciones enzimáticas.

El tejido adiposo, intestino y parte del hígado extraído, fueron sumergidos en una solución de formol al 10% que permitiría mantener la integridad de los tejidos para obtener los cortes histológicos. El lóbulo mayor del hígado fue pesado y sometido a un proceso de homogenización. El homogenizado fue utilizado para las

determinaciones enzimáticas.

En la carcasa se determinó la composición corporal (grasa, proteínas, carbohidratos y agua).

2) DISEÑO EXPERIMENTAL.

El diseño consistió en formar 03 grupos de animales completamente al azar: Un grupo control (A) y dos experimentales denominados B y C respectivamente; cada grupo estuvo constituido de 10 ratas machos recién destetados (21 días de edad)(Tabla N° 1).

Se utilizaron los ambientes del bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los animales de experimentación fueron alimentados con una dieta preparada en el laboratorio que cubrió los requerimientos de cada uno de los nutrientes y de energía.

Los animales estuvieron depositados en jaulas individuales, ubicadas en el bioterio, que es un ambiente aislado, ventilado y limpio. La higiene de las jaulas se realizaba cada dos días.

No se permitió el ingreso de personas extrañas, salvo personal de limpieza y el investigador al ambiente de experimentación.

3) DIETA EMPLEADA (Composición de la dieta).

Se elaboraron dietas para cada grupo cuya fuente de proteína la constituyó la caseína libre de vitaminas y minerales (ICN Pharmaceuticals, Inc. Life Sciences Group, Cleveland, Ohio).

La fuente de carbohidratos fue el almidón de maíz marca "DURYEA" y la fibra fue la celulosa de la casa Alphacel non nutritiva Bulk de la ICN. Se utilizó una mezcla de vitaminas y minerales de acuerdo con las recomendaciones (37) (Tabla N° 2).

La fuente de ácidos grasos son del Aceite Vegetal (Maíz) de Cocina para el grupo A, Aceite Vegetal (Maíz) de Cocina "Light" para el grupo B y Margarina Vegetal (Maíz) "Light" para el grupo C.

Las dietas para los tres grupos contenían la misma concentración de energía (Isocalóricas) y proteínas (Isoproteínicas). El valor energético total de las dietas fue 463.48 Kcal/100g de dieta, con una distribución energética del 12.95% de proteína, 33.01% de grasa, 54.04% de carbohidratos y 6.48 NDPKcal, relación ideal que nos indica el porcentaje de energía total de la dieta que se entrega en forma de proteínas totalmente utilizable para garantizar un crecimiento estable, como se puede observar en la Tabla N° 3 y

Gráfico N° 1. En la Tabla N°4 podemos observar la distribución del tipo de ácido graso por producto utilizado en la dieta.

Todos los componentes de la dieta, fueron mezclados y tamizados repetidas veces con el fin de obtener una mezcla homogénea, guardada en refrigeración, de donde diariamente se tomó la cantidad requerida para alimentar a los animales.

4) OBTENCIÓN DEL HOMOGENIZADO Y MITOCONDRIAS PARA LAS DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS A NIVEL HEPATICO

Método de Hoopel. (24) Reactivos:

Buffer MSM de pH 7.4:

- Manitol	220 mM
- Sucrosa	70 mM
- MOPS	5 mM

Procedimiento:

El hígado extraído de la rata previamente perfundido se homogenizó, utilizando un homogenizador Potter Elvehjem con émbolo de teflón. Después de 4 pasajes rápidos, el homogenizado fue diluido con el Buffer MSM a una concentración de tejido de 10% y se le agregó EDTA hasta lograr una concentración de 2mM. Los núcleos, las células rotas y otros restos fueron removidos por centrifugación a 400 g por 15 minutos. Luego el

sobrenadante se centrifugó a 7000 g por 15 minutos y se descartó el precipitado. Las centrifugaciones fueron realizadas en una centrífuga marca Sorvall, rotor SS-34. Posteriormente se obtuvo la fracción citosólica utilizando la ultracentrífuga Beckman Modelo L5-50, rotor 50 Ti, a una temperatura de 4°C.

Se determinan las enzimas citosólicas del metabolismo de carbohidratos, lactato deshidrogenasa, piruvato quinasa, glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, para observar su comportamiento cinético frente a los diferentes grupos de estudio (gráfico No. 5)

5) DETERMINACION DE LAS PROTEINAS A NIVEL HEPATICO.

Método Colorimétrico para la determinación de proteínas (Kit Proteína Total de Wiener lab., Rosario-Argentina).

Reactivo:

a) Reactivo:

Complejo EDTA/Cu	13mmol/L
NaOH	875mmol/L

Alquil aril poliéter (AAP)

b) Standart de Proteína

Albúmina tipo bovina

Procedimiento:

Standard de Proteína 0.02 mL

Muestra 0.02 mL

Reactivo 2.0 mL

Preparar un blanco, standard y muestra.

Mezclar con varilla e incubar 15 minutos a 37°C.

Leer a 540 nm en un espectrofotómetro, contra un blanco.

6) DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA LACTATO DESHIDROGENASA HEPATICA

Método UV optimizado para la determinación de Lactato deshidrogenasa (Kit Lactato Deshidrogenasa de Wiener lab., Rosario-Argentina).

Reactivo:

Buffer tris pH 7.2 80 mM

Piruvato 1.6 mmol/L

NADH 0.2 mmol/L

ClNa 200 mmol/L

Procedimiento:

Reactivo reconstituido 3.0 mL

Pre-incubar unos minutos a 37°C, luego agregar:

Citosol 0.1 mL

Esperar 30 segundos.

Leer a 340 nm.

Repetir las lecturas a intervalos de 60 segundos, hasta por tres minutos.

7) DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA GLUCOSA 6-FOSFATO DESHIDROGENASA HEPÁTICA

Método de Kuby S. y Noltmann A. (98)

Reactivo:

<i>Buffer glicilglicina pH 8.0</i>	<i>0.03 M</i>
<i>NADP</i>	<i>0.01 M</i>
<i>Sulfato de Magnesio</i>	<i>0.15 M</i>
<i>Glucosa 6-Fosfato, sal sódica</i>	<i>0.03 M</i>

Procedimiento:

<i>Buffer glicilglicina pH 8.0</i>	<i>0.5 mL</i>
<i>NADP</i>	<i>0.1 mL</i>
<i>Sulfato de Magnesio</i>	<i>0.4 mL</i>
<i>Citosol</i>	<i>0.1 mL</i>
<i>Agua destilada</i>	<i>1.8 mL</i>

Incubar a 37°C por 5 minutos.

Inciar reacción con:

<i>Glucosa 6-Fosfato, sal sódica</i>	<i>0.1 mL</i>
--------------------------------------	---------------

Leer a 340 nm.

8) DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA 6-FOSFOGLUCONATO DESHIDROGENASA HEPÁTICA

Método de Pontremoli S. y Enrico G. (98)

Reactivo:

Buffer glicilglicina pH 7.6	0.05 M
NADP	0.01 M
Cloruro de Magnesio	0.1 M
6-Fosfogliconato, sal sódica	0.15 M

Procedimiento:

Buffer glicilglicina pH 7.6	0.5 mL
NADP	0.1 mL
Cloruro de Magnesio	0.4 mL
Citosol	0.1 mL
Agua destilada	1.8 mL

Incubar a 37°C por 5 minutos.

Iniciar reacción con:

6-Fosfogliconato, sal sódica	0.1 mL
------------------------------	--------

Leer a 340 nm.

9) DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA PIRUVATO QUINASA HEPÁTICA

Método de Valentine W. y Tanaka K. (98)

Reactivo:

<i>Buffer trietanolamina pH 7.5</i>	<i>0.05 M</i>
<i>KCl</i>	<i>2.25 M</i>
<i>Sulfato de Magnesio</i>	<i>0.24 M</i>
<i>ADP</i>	<i>0.006 M</i>
<i>NADP</i>	<i>0.01 M</i>
<i>Lactato deshidrogenasa</i>	<i>0.18 M</i>
<i>Fosfoenolpiruvato</i>	<i>0.045 M</i>

Procedimiento:

<i>Buffer trietanolamina pH 7.5</i>	<i>0.5 mL</i>
<i>KCl</i>	<i>0.1 mL</i>
<i>Sulfato de Magnesio</i>	<i>0.1 mL</i>
<i>ADP</i>	<i>0.2 mL</i>
<i>NADP</i>	<i>0.4 mL</i>
<i>Lactato deshidrogenasa</i>	<i>0.1 mL</i>
<i>Citosol</i>	<i>0.1 mL</i>
<i>Agua destilada</i>	<i>1.4 mL</i>

Incubar a 37°C por 5 minutos.

Inciar reacción con:

<i>Fosfoenolpiruvato, sal sódica</i>	<i>0.1 mL</i>
--------------------------------------	---------------

Leer a 340 nm.

10) PEROXIDACION LIPIDICA.

Método modificado de Gutterige M, Sunde R. Y Hoekstra

(14)

Reactivos:

Acido tiobarbitúrico (TBA) preparado de la siguiente manera:

- Acido tiobarbitúrico al 0.7%
- HCl 0.25 N
- Agua destilada 250 mL

Homogenizado del tejido hepático (10%) con buffer

Acido Tricloroacético al 20%

Homogenizado de hígado al 10%

Procedimiento:

Homogenizado 1.0 mL

Buffer tris pH 7.4 5.0 mL

Acido tiobarbitúrico 2.0 mL

Detener la reacción con ácido tricloroacético 1.5 mL

Incubar en baño maría hirviente durante 30 minutos.

Colocar la muestra en hielo picado durante 5 minutos.

Centrifugar a 15000 r.p.m durante 15 minutos.

Se lee su absorvancia del sobrenadante a 535 nm.

11) DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO CORPORAL.

Método de Miller D.S y Bender A.E (54)

Concluida la etapa experimental, las ratas fueron sacrificadas por decapitación, y luego de extraer el hígado para los estudios enzimáticos, parte del tejido

adiposo e intestinal se destino para los estudios histológicos, y se procedió a extraer todas las vísceras, quedando solo la carcasa que se pesó y colocó, en una estufa a 105°C por 48 horas, hasta obtener peso constante y obtener el contenido de agua corporal según las fórmulas siguientes:

Cálculo del contenido de agua corporal

$$\text{Agua (gr)} = \text{peso de carcasa húmeda} - \text{peso de carcasa seca} \quad (a)$$

$$\text{Agua (\%)} = \frac{\text{agua (g)}}{\text{peso de carcasa húmeda(g)}} \times 100 \quad (b)$$

Cálculo del nitrógeno corporal

Usamos la ecuación de Miller D.S y Bender A.E:

$$\text{Log (4.8 - y)} = 0.437 - 0.0123 X \quad (c)$$

$$Y = \frac{N (g)}{\text{Agua (g)}} \times 100$$

(d)

$$N = \frac{y}{\text{Agua (g)}} \times 100$$

(e)

X = edad en días del animal y = tiempo de experimentación

12) DETERMINACIÓN DEL NITRÓGENO Y LÍPIDOS

La determinación del Nitrógeno Corporal nos permite también evaluar la eficiencia de la dieta para propiciar retención de nitrógeno, utilizando para ello la energía proporcionada por lípidos y carbohidratos (Utilización Proteica Neta = NPU).

Utilizamos la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Nitrógeno retenido (NPU)} = \frac{\text{Nitrógeno Corporal retenido (g)}}{\text{Nitrógeno Total ingerido (g)}} \times 100$$

(f)

$$\text{Proteínas (g)} = \text{Nitrógeno (g)} \times 6.25$$

$$\text{Lípidos} = \text{Peso (g)} - \text{Nitrógeno corporal (g)} - \text{Agua corporal}$$

(h)

**13) FORMULAS PARA DETERMINAR: INGESTA DE ENERGIA DE LA
DIETA, RETENCION DE ENERGIA Y NDpKcal%**

Ingesta de Energía =Kcal.proteínas + Kcal. lípidos + Kcal. Carbohidratos

(i)

$$\text{Retención de energía} = \frac{\text{Kcal. proteínas} + \text{Kcal lípidos}}{\text{peso ganado en carcasa (g)}}$$

(j)

*Calculada según la fórmula de Atwater, W.O & Bryant,
A.P aplicada por Merrill, A.L & Watt, B.K (54)*

$$\text{NDPcal} = \frac{\text{NPU} \times \text{P\%}}{100}$$

(K)

14) OBTENCIÓN DE CORTES HISTOLÓGICOS

MÉTODO EOSINA-HEMATOXILINA.(38)

Reactivos

Formol (Diluido al 10%)

Alcohol (40°, 50°, 60°, 80°, 100°)

Xilol puro

Parafina

Eosina

Hematoxilina

Agua Clorhídrica (HCl Diluido al 1%)

Agua amoniacal

Bálsamo de Canadá

Procedimiento:

Obtenidas las muestras de tejido adiposo, hepático e intestino delgado de cada grupo de ratas, estas fueron sumergidas en solución de formol al 10% por un período de 4 días. Transcurrido este tiempo, se hacen cortes de 4 x 4 mm para proceder a la etapa de deshidratación del tejido.

La etapa de deshidratación se inicia sumergiendo el tejido muscular en un alcohol a 40° por 1 hora para luego hacer lo mismo por dos horas en alcohol de 60° y 80° respectivamente. Luego se hacen 3 baños en alcohol absoluto (100°) por 1 hora por vez.

Posteriormente se hacen 2 baños en xilol puro por 1 hora por vez.

Se seca el tejido en papel filtro.

El tejido sumergido en parafina líquida se lleva a la estufa a 60°C por 3 horas, debiendo transferir el tejido sucesivamente por tres recipientes. Transcurrido

un tiempo, se hace solidificar al ser enfriada en hielo, para ser cortada por el micrótomo de deslizamiento Spencer AO, en bloques de 3 a 5 micras. Los micro cortes se sumergen en un solución de alcohol a 50°, se lleva a baño maría (50°C) para compactar el corte y se traslada el corte a la estufa (Precision Scientific Co.) a 37°C por 3 horas. Una vez seco el corte, se procedió con la técnica de coloración de Hematoxilina-Eosina.

Los cortes histológicos obtenidos fueron observados con el uso de un microscopio biológico marca Olympus, modelo CH30 y con la ayuda una cámara fotográfica marca New Bawer se pudo obtener las medidas del adipocito y hepatocito. Las fotografías fueron obtenidas con una cámara fotográfica marca Olympus, modelo OLY-200, que permitió evaluar características histológicas de la vellosidad intestinal del intestino delgado. La lectura en el microscopio se realizaron con un lente de aumento de 400x.

15) ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La ganancia del peso corporal, el consumo de alimento y los pesos del hígado, así como los resultados de las actividades enzimáticas y peroxidación lipídica a nivel

hepática fueron analizadas mediante la prueba estadística de ANOVA, haciendo uso del programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Versión 10.0). Cuando el ANOVA indicó la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los grupos ($p < 0.05$), se realizaron comparaciones post-hoc haciendo uso de los procedimientos HSD de Tukey y de Scheffe (38, 39).

RESULTADOS

1) APARIENCIA FÍSICA

Las ratas a los 21 días de nacidas (t_0 = tiempo cero) mostraron una apariencia saludable; peso promedio 40.98g \pm 2.96; pelaje abundante de color blanco y terso; movimiento rítmicos de acuerdo a la edad.

Durante el experimento, el aspecto físico de los animales se mantuvo con una apariencia normal en todos los grupos hasta el final del experimento.

Después de sacrificar los animales, y al extraer los órganos de todos los grupos estos tuvieron una apariencia, color y tamaño semejantes.

2) GANANCIA DE PESO Y COMPOSICIÓN CORPORAL

Durante el experimento se determinaron 45 pesadas en cada uno de los 3 grupos experimentales y se observó que el peso incrementó constantemente durante todo el experimento; no hubo diferencias entre grupos, como sigue: Grupo A: peso 284.17g \pm 22.88, Grupo B: 285.55g \pm 17.54, y Grupo C: 292.70g \pm 14.53.

Esto significa un incremento desde el inicio del Grupo A: 593 %, Grupo B: 586% y Grupo C: 624 % (Tabla N° 5).

Como observamos en estas cifras no hubo diferencias

significativas de peso corporal entre los grupos experimentales.

El peso de la carcasa de las ratas y la composición corporal a los 45 días fue de 25.07g \pm 1.10, el contenido de agua corporal 16.52g \pm 1.056, las proteínas corporales 4.51g \pm 0.14, lípidos corporales 2.48g \pm 0.13 y otros 1.56g \pm 0.07 (Tabla N°6).

Al estudiar la composición corporal de la carcasa de los animales al final del experimento, se obtuvo la humedad siguiente, siendo en la Dieta A 54.47%, Dieta B 60.71% y en la Dieta C 64.89%. (Tabla No.6, gráfico No.2)

La composición corporal de las ratas al final del experimento (45 días) se observó, que en los animales alimentados con la Dieta C, presentaron un alto contenido de agua (146.39g) y un bajo contenido de proteínas (17.74g), así mismo de lípidos (27.18g), en relación a los animales alimentados con las Dietas A y B (Tabla N°6).

Respecto al Nitrógeno (proteína) corporal en base húmeda, los animales alimentados con la Dieta A contenía una concentración de 20.38%, mientras que los de las Dietas B y C presentaron 17.89% y 17.74%, respectivamente. Esto confirma que la presencia de

proteína en base húmeda es mayor en los animales alimentados con la Dieta A con relación a los Dietas B y C.

Igualmente se puede observar con respecto a la cantidad de grasa corporal, los animales alimentados con la Dieta A presentaron mayor concentración (18.94%) al compararse con los animales alimentados con la Dieta B (16.02%) y grupo C (12.05%).

Al analizar el nitrógeno (proteínas) en base a la materia seca, vemos que el porcentaje en los animales alimentados con la Dieta A (44.54%) es ligeramente menor que los valores presentados en los animales alimentados con la Dieta B (45.63%) y Dieta C (50.49%).

3) PESO DE HÍGADO Y SU RELACIÓN CON EL PESO CORPORAL (PH/PC).

Al final de la experimentación, los hígados perfundidos y previamente secados con papel de filtro se pesaron, encontrándose que el peso del hígado de los animales alimentados con la Dieta C ($8.09 \pm 0.68g$), fue mayor que en aquellos alimentados con la Dieta A ($7.89 \pm 0.83g$) y Dieta B ($7.35 \pm 0.57g$).

La relación en porcentaje de Peso del Hígado con respecto al Peso Corporal (PH/PC) en los animales

alimentados con la Dieta B (2.57%) es más baja que con las dietas A (2.78%) y C (2.76%), registrándose diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Tabla N° 7, Gráfico N° 3).

Los pesos del hígado de los animales alimentados con la Dieta A y C corresponden al peso corporal del animal excepto en aquellos animales alimentados con la Dieta B, en los cuales el hígado es más pequeño en relación al peso corporal.

4) CONSUMO DE ALIMENTO Y RELACIÓN CON LA INGESTA DE PROTEÍNAS, GRASA Y ENERGÍA.

ALIMENTO.- A los 45 días del experimento, el consumo total de alimento en cada grupo fue: Dieta A: 531.08g \pm 65.78, Dieta B: 534.88g \pm 43.73 y Dieta C: 632.74g \pm 63.90, registrándose un consumo de alimentos diarios de: animales alimentados con la Dieta A de 11.80 g/día; con la dieta B 11.89 g/día y con la dieta C: 14.06 g/día

CONSUMO DE CARBOHIDRATOS, LIPIDOS Y PROTEINAS.- La energía total promedio consumida en cada grupo hasta los 45 días fue 2452.53 kcal (Dieta A), 2470.08 kcal

(Dieta B) y 2254.28 kcal (Dieta C). En términos de Kcal/gramo peso corporal/ día , los resultados en los animales alimentados con la Dieta A fue 0.301, Dieta B: 0.297 y Dieta C: 0.256 . Este último grupo tuvo que consumir más alimentos para compensar la deficiencia de energía. Al inicio del experimento se observó diferencias significativas entre los grupos durante los primeros 28 días de experimentación ($p < 0.01$) (Tabla N° 8, Gráfico N° 4) pero a partir de los 35 días hasta el final del experimento no se registró diferencias significativas entre los grupos.

En la Tabla N° 9 se registra el promedio de ingesta total de macronutrientes: carbohidratos, lípidos y proteínas; demostrándose que existen diferencias significativas por gramo de peso del animal por día ($p < 0.05$) entre los grupos de ratas que pertenecen al grupo C y los otros dos grupos (A y B).

5) RETENCIÓN DE NITRÓGENO

A los 45 días del experimento, la retención de Nitrógeno expresado como % de NPU fue 56.70 ± 6.39 (Dieta A), 49.86 ± 4.08 (Dieta B) y 54.15 ± 5.17 . (Dieta C)(Tabla N° 10, Gráfico N° 5).

6) ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

6.1 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA: LACTATO DESHIDROGENASA HEPÁTICA

Al final de la experimentación (45 días) se observó que los niveles de actividad enzimática de Lactato deshidrogenasa (U/g de tejido) en sangre fue: Dieta A: 438.7 ± 79.4 ; Dieta B: 428.7 ± 55.6 ; Dieta C: 337.7 ± 115.1 . Registrándose niveles mucho más bajos en la actividad enzimática de la Lactato deshidrogenasa (LDH) en las ratas alimentadas con Margarina "Light" (Dieta C) comparados con los niveles de actividad enzimática de Lactato deshidrogenasa (LDH) de las ratas alimentadas con Aceite de Cocina (Dieta A) Aceite de Cocina "Light" (Dieta B). (Tabla N° 11, Gráfico N° 6)

6.2 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA: GLUCOSA 6-FOSFATO DESHIDROGENASA HEPÁTICA

Al final del experimento se observó que los niveles de actividad enzimática de la Glucosa 6-Fosfato deshidrogenasa (U/g tejido) en el hígado de los animales sometidos a la Dieta A: 0.6 ± 0.08 , Dieta B: 0.8 ± 0.1 , Dieta C: 0.8 ± 0.1 . Registrándose niveles altos de actividad enzimática de Glucosa 6-Fosfato deshidrogenasa en las ratas alimentadas con Margarina

Vegetal "Light" (Dieta C) y aceite de cocina light (dieta B) y bajos niveles de actividad enzimática de Glucosa 6-Fosfato deshidrogenasa en las ratas alimentadas con Aceite Vegetal de Cocina (Dieta A). (Tabla N° 11, Gráfico N° 6).

6.3 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA: 6-FOSFOGLUCONATO DESHIDROGENASA HEPATICA

Al final del experimento se observó que los niveles de actividad enzimática de la 6-Fosfogluconato deshidrogenasa (U/g tejido) en el hígado de los animales sometidos a la Dieta A fue: 1.2 ± 0.2 , Dieta B: 1.3 ± 0.3 , Dieta C: 1.1 ± 0.4 . Registrándose niveles más bajos de actividad enzimática de 6-Fosfogluconato deshidrogenasa en las ratas alimentadas con Margarina "Light" (Dieta C) al ser comparados con los niveles de actividad enzimática de las ratas alimentadas con Aceite de Cocina "Light" (Dieta B) y Dieta A. (Tabla N° 11, Gráfico N° 6).

6.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA: PIRUVATO KINASA HEPATICA

Al final del experimento se observó los niveles de actividad enzimática de Piruvato kinasa (U/g tejido) en

el hígado de las ratas alimentadas con la Dieta A: 0.64 ± 0.3 , Dieta B: 0.77 ± 0.2 , Dieta C: 0.78 ± 0.3 . Registrándose niveles altos de actividad enzimática de Piruvato kinasa en las ratas alimentadas con Margarina "Light" (Dieta C) y Aceite vegetal "Light" (Dieta B) comparados con los bajos niveles de actividad enzimática de Piruvato kinasa en las ratas alimentadas con Aceite de Cocina (Dieta A). (Tabla N° 11, Gráfico N° 6)

6.5 PROTEÍNAS A NIVEL HEPATICO.

La concentración de proteínas (g/dL) en el hígado de ratas alimentadas con la Dieta A: $0.58 \text{ g/dL} \pm 0.17$, Dieta B: $0.86 \text{ g/dL} \pm 0.14$ y Dieta C: $0.82 \text{ g/dL} \pm 0.2$. Notándose que las ratas alimentadas con la Dieta B y C registraron la mayor concentración de proteína hepática, comparadas con la Dieta A (Tabla No 12, Gráfico N° 7).

6.6 PEROXIDACION LIPIDICA HEPATICA

Al final del experimento se observó que los niveles de peroxidación lipídica (U/g tejido $\times 10^{-6}\text{M}$) en el hígado fueron, en la Dieta A: 5.4 ± 0.33 , Dieta B: 5.65 ± 0.66 , Dieta C: 6.37 ± 0.20 . Los niveles altos de

peroxidación lipídica hepática correspondieron a las ratas alimentadas con Margarina "Light" (Dieta C) y los niveles más bajos de peroxidación lipídica hepática se encuentran en las ratas alimentadas con Aceite de Cocina (Dieta A) y Aceite "Light" (Dieta B). (Tabla N° 13, Gráfico N° 8)

6.7 CORTES HISTOLÓGICOS

Al finalizar los 45 días que duró el estudio, se observó variaciones en el diámetro del adipocito en un corte transversal de tejido adiposo; donde los animales alimentados con la Dieta A tuvieron un diámetro de: 0.08 ± 0.01 mm, Dieta B: 0.11 ± 0.02 mm y en la Dieta C: 0.19 ± 0.06 mm, observándose diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.01$) (Tabla No 14). Los hepatocitos de los animales alimentados con la Dieta A tuvieron un diámetro de: 0.13 ± 0.01 mm, Dieta B: 0.10 ± 0.01 mm y en la Dieta C: 0.09 ± 0.01 mm, observándose diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.01$) (Tabla No 15).

Los adipocitos de las ratas que consumieron la Dieta C registraron un mayor volumen individual y a la vez una menor presencia grupal (Foto N° 3) al compararlos con los adipocitos de la Dietas A (Foto N° 1), mientras que

los adipocitos de la Dieta B (Foto N° 2) también evidenciaron estas diferencias en menor grado. Las ratas que consumieron la Dieta C registraron un menor volumen individual de hepatocitos con un alto grado de infiltración acuosa, anisonucleosis, poiquilonucleosis, infiltración grasa (Foto N° 6) al compararlos con el tejido hepático de la Dieta A (Foto N° 4), también se evidenció estas diferencias en menor grado en el tejido hepático de la Dieta B (Foto N° 5).

La vellosidad intestinal en ratas alimentadas con la Dieta A presentan características histológicas normales donde destaca la presencia de células cilíndricas con abundante citoplasma, células calciformes y linfocitos (Foto N° 7); mientras que en las ratas alimentadas con la Dieta B, las vellosidades intestinales han perdido su forma, las células calciformes son más grandes existiendo deterioro de la capa estriada y el corion de la vellosidad intestinal (Foto N° 8). Adicionalmente encontramos que en ratas alimentadas con la Dieta C, las células de Paneth y las células cilíndricas han perdido su forma habitual (Foto N° 9); lo que indica un mayor deterioro histológico al ser comparado con las dietas A y B.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se ha demostrado que el tipo de ácidos grasos constituyentes del aceite y la grasa denominada comercialmente "Light" en la dieta, influyeron en el metabolismo intermediario energético y en las estructuras celulares de los hepatocitos, adipocitos y enterocitos de las ratas de experimentación de la siguiente manera:

A.- ASPECTO FÍSICO

En los tres grupos de animales alimentados con diferentes tipos de grasas y ácidos grasos que constituyen el aceite de cocina y/o aceite "Light" y margarina "Light", no se observaron cambios significativos entre los grupos en el peso corporal y el aspecto físico. Después de sacrificar a los animales, se evidenció que el color de los hígados de todos los animales fue homogéneo, lo que nos hace suponer que el tipo de grasa no afecta las características macroscópicas del tejido hepático.

B.- GANANCIA DE PESO Y COMPOSICIÓN CORPORAL

Con referencia al incremento de peso (g) de las ratas, se observó ligera diferencia del peso corporal entre

los tres grupos (Dieta A, B y C), pero que no son significativas ($p > 0.05$); ello nos indica que el tipo de aceites o de ácidos grasos en la dieta de las ratas no influye sobre la ganancia de peso, (19, 40).

Al analizar la composición corporal en las ratas del experimento se observa diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los animales que consumieron Margarina "Light" (Dieta C) y los otros grupos animales que consumieron las dietas A y B. Destacándose la diferencia en la mayor concentración de agua corporal en el grupo C, que es muy probable sea debido al hecho de que la Margarina "Light" presenta una inadecuada relación entre el ácido linoleico (18:2 n-6) y alfa-linolénico (18:3 n-3) (4:1), ocasionando alteraciones en la permeabilidad de las membranas celulares (41); también puede sustentarse esta alteración en las membranas posiblemente por la presencia de AG TRANS que se forman durante el procesamiento de las margarinas (hidrogenación) lo que provoca un alto porcentaje (20%) de ácidos grasos tipo trans (19, 40, 42) que alteraría el requerimiento y el metabolismo de los ácidos grasos esenciales, así como, la absorción de grasa a nivel intestinal.

Los ácidos grasos Trans se absorben rápidamente y son

incorporados a los tejidos adiposos. (43) La cantidad de ácidos grasos Trans absorbidos e incorporados a los tejidos adiposos va a depender de la cantidad que se consuma a través de la dieta. (43) Muestras de tejidos que contienen ácidos grasos Trans tienen una concentración de 2.4 a 12.2%, 4 a 14.4%, 4.9 a 9.3% y 2.3 a 8.8% para tejidos adiposo, hepático, cardíaco y aórtico, respectivamente. (43) Esto sugiere que las personas que consumen dietas ricas en ácidos grasos trans pueden acumularlos en los tejidos grasos del cuerpo. Asimismo, otro estudio indica que los ácidos grasos Trans pueden acumularse en la aorta y en ciertas grasas encontradas en la sangre como los trigiliceridos, esteres de colesterol y fosfolipidos Al alterarse la utilización de las grasas, el organismo y específicamente el músculo en reposo utilizaría las proteínas como fuente energética, disminuyendo las proteínas sanguíneas y alterando la presión oncótica, generando edema (41, 44, 19, 40). Estos hechos también se observan en los animales alimentados con la Dieta B que presentan un ligero aumento del porcentaje de agua corporal en relación al grupo de ratas alimentadas con la Dieta A, confirmando que durante el proceso de elaboración de los aceites, también se forman ácidos

grasos tipo trans, pero en menor porcentaje (3%) (25, 19), lo que estaría ocasionando alteraciones muy similares a las del grupo C, pero con menor intensidad (41, 40)

Hay evidencia científica de que el consumo de grasas trans causan diversos daños a la salud:

- Una dieta rica en ácidos grasos Trans disminuye los niveles sanguíneos del colesterol HDL (colesterol bueno). (45, 46, 47, 19)*
- Los ácidos grasos Trans aumentan los niveles en sangre del colesterol LDL (colesterol malo). (45, 46, 47, 48)*
- Aumentan los niveles de triglicéridos en sangre.(48)*
- Incrementan la necesidad de ácidos grasos esenciales (43), lo cual resulta perjudicial en el caso de personas con alergias, trastorno de déficit de atención, dislexia, trastorno bipolar y autismo.*

La baja concentración de grasa corporal en los animales alimentados con la dieta C ($p < 0.01$, en relación a los grupos de animales (A y B), indican bajo depósito energético que se compensa con la mayor concentración

de agua corporal. Estos resultados posiblemente se deben a la disminución de la absorción de ácidos grasos "cis" a nivel intestinal ocasionada por los ácidos grasos "trans" (49) que están presentes en la Dieta C(20%) lo que propiciaría una disminución de los depósitos energéticos; contrariamente a la ingesta de carbohidratos, proteínas y lípidos no hidrogenados en una dieta adecuada (50, 51). Finalmente las concentraciones de nitrógeno y agua depositadas en el cuerpo de los animales que consumieron las dietas experimentales fueron diferentes, indicándonos que la calidad y cantidad del contenido de ácidos grasos en la dieta promueve cambios en la composición corporal (40).

C.- PESO DEL HIGADO EN RELACION AL PESO CORPORAL (PH/PC).

La relación PH/PC registrada en los animales mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de ratas. En el caso de las Dieta A y C los hígados están hidratados por la relación inadecuada de ácidos grasos esenciales (ácido linoleico (18:2 n-6) y alfa-linolénico (18:3 n-3), y en la dieta B el hígado es más pequeño en relación al peso corporal. Esta diferencia ponderal entre hígados con relación al peso corporal podría deberse a la ausencia del ácido

linolénico sólo en la dieta B.

D.- RELACIONES DEL CONSUMO DE MACRONUTRIENTES Y LA RETENCIÓN DE NITRÓGENO

Los resultados, muestran que los animales alimentados con la Dieta C consumieron ligeramente menos macronutrientes y por lo tanto también menos (aunque estadísticamente no significativa) energía (7.70 Kcal/g de peso corporal/día) al comparar con los alimentados con la Dieta A (8.63 Kcal/g de peso corporal/día) y Dieta B (8.65 Kcal/g de peso corporal/día). Una de las explicaciones, es que, posiblemente los cambios en la composición de los ácidos grasos de la dieta, condujeron a cambios gustativos y fisiológicos motivados por el desbalance de los ácidos grasos esenciales y además la mayor presencia de los ácidos grasos trans. (52, 53, 54, 55, 56, 40, 35, 57).

La retención de nitrógeno corporal es mucho mejor si los requerimientos energéticos son más adecuados, no sólo en cantidad sino en calidad, esto se demuestra, en los animales alimentados con la Dieta A, donde se encontró una retención de nitrógeno (NPU) de 56.70 mientras que la Dieta C, dada la mayor presencia de los ácidos grasos trans, probablemente alteran la

estructura de membrana de las vellosidades intestinales y no permiten una absorción de ácidos grasos a nivel intestinal que proporcione energía suficiente para retener nitrógeno, siendo menores los niveles de NPU en la Dieta B (49.86) y Dieta C (54.15). Sin embargo, estos valores también podrían estar vinculados por la presencia del ácido esteárico y el ácido alfa-linolénico (18:3 n-3) en la Margarina "Light", que no están presentes en el Aceite de Cocina "Light", por lo que con un desequilibrio de ácidos grasos en la dieta es menor la retención de nitrógeno que una dieta equilibrada (40, 58).

Al analizar el porcentaje energético proveniente de la proteína (P%) en la dieta C, se observa que su proporción es ligeramente mayor (13.12%) en comparación a las dietas A y B (12.99%), esto es debido a que la ingesta energética del grupo C fue menor, pero el NDPcal% que representa la proteína disponible para crecimiento es menor en la dieta B (6.47%) al compararlas con las dietas A y C (7.37 y 7.10) respectivamente.

E.- COMPORTAMIENTO DE LA ENZIMAS GLICOLITICAS: PIRUVATO QUINASA Y LACTATO DESHIDROGENASA, Y DE LA RUTA ALTERNATIVA DE LA PENTOSA FOSFATO: GLUCOSA 6-FOSFATO DESHIDROGENASA, 6-FOSFOGLUCONATO DESHIDROGENASA.

La glucosa 6-fostato deshidrogenasa y 6-fosfogluconato deshidrogensa son enzimas esenciales en la vía de las pentosas que catalizan la oxidación de la glucosa 6-fosfato con la finalidad de aprovisionar esencialmente NADPH para la síntesis de acidos grasos y ribosa al organismo. Mientras que la Piruvato kinasa permite la formación de piruvato y proporciona energía bajo la forma de ATP y del mismo modo la Lactato deshidrogenasa permite que el lactato formado sea convertido en piruvato para luego ingresar al ciclo del acido cítrico. En nuestro caso se encontró valores ligeramente mayores de actividad en la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa en la Dieta C y B (Margarina y Aceite de Cocina "Light"), en relación al grupo de animales de la Dieta A de la misma manera los niveles de actividad de la 6-fosfogluconato deshidrogenasa fueron mayores en la dieta B a los valores hallados en la Dieta A (1.2 U/g tejido) y Dieta C (1.3 U/g tejido), y como consecuencia habrá mayor producción de NADPH + H⁺ el cual es proceso importante para la síntesis de

ácidos grasos y colesterol. La actividad enzimática de la Piruvato kinasa presente en la Dieta C (0,8 U/g) y B (0,8 U/g) (Margarina y Aceite de Cocina "Light") fue mayor que la dieta A (0,6 U/g). La piruvato kinasa estaba disminuida en la dieta A en relación con la dieta B y C esto conllevaría a que el piruvato sea transportado dentro de la mitocondria y luego es descarboxilado oxidativamente a acetil CoA, que luego ingresa al ciclo del ácido cítrico generando ATP, el piruvato no es convertido a lactato y por ende no se regenera glucosa para volver a la circulación y ser oxidado en los tejidos (ciclo de Cori), la piruvato kinasa está incrementada en la dieta C (> ácidos grasos saturados y trans), lo que conllevaría a incremento de ácido pirúvico por probable incremento de la glicólisis anaeróbica. La actividad de la Lactato deshidrogenasa en la dieta C (337.7 U/g tejido) siendo mucho menor al hallado en la Dieta A (438.7 U/g) y en la dieta Dieta B (428.7 U/g tejido), sería un mecanismo adaptativo del organismo que priorizaría el almacenamiento de grasa haciendo uso de la ruta metabólica de la vía de las pentosas para formar NADPH + H⁺ para la síntesis de ácidos grasos y colesterol. Hecho evidenciable, al incrementarse la actividad de la Glucosa 6-fosfato

deshidrogenasa que permite la glucosa 6 fosfato se transforme a 6 fosfogluconolactona con formación de NADPH para la síntesis de lípidos en los tejidos, tal como se observa en los hígados de los animales que consumieron la dieta B y C, comparados con los hígados de las ratas de la dieta A

F.- PROTEINAS A NIVEL HEPATICO

El promedio de proteínas en las ratas alimentadas con la Dieta C (Margarina "Light") fue 0.82 g/dL, Dieta B: 0.86 g/dL y Dieta A: 0.58 g/dL. Las Dietas B y C registran diferencias con la Dieta A, la cual consideramos como normal. Estas diferencias podrían ser explicadas debido a la baja absorción de ácidos grasos motivada por la presencia de ácidos grasos trans a nivel intestinal originaría desequilibrio energético, haciendo que el organismo no sólo trate de retener la mayor cantidad de proteínas posible por ello sintetiza a nivel hepático más proteínas para mantener por el mayor tiempo posible la integridad de tejidos, de allí que los valores de proteínas en la Dietas B y C son tan cercanos. En ambos casos se trata de mantener siempre un balance nitrogenado positivo (57, 8, 40).

G.- LIPEROXIDACION LIPIDICA A NIVEL HEPATICO

Los niveles de peroxidación lipídica (U/g tejido $\times 10^{-6}$ M) en las ratas alimentadas con la Dieta C (Margarina "Light") fue 6.37 u/g tejido $\times 10^{-6}$ M, Dieta B : 5.65 u/g tejido $\times 10^{-6}$ M y Dieta A: 5.40 u/g tejido $\times 10^{-6}$ M. Por lo tanto las Dietas A y B registran diferencias significativas con la Dieta C, las cuales consideramos como esperadas. Estas diferencias podrían ser explicadas debido a la baja absorción de ácidos grasos motivada por la presencia de ácidos grasos trans a nivel intestinal, los cuales originarían desequilibrio energético, provocando en el organismo un estrés oxidativo, de allí, que los valores de peroxidación lipídica en la Dieta C sean mayores que la Dieta A y B. (14, 60). Además los ácidos grasos trans se ubicarían a nivel de todas las estructuras de las membranas provocando mayor torsión de las cadenas hidrocarbonadas impidiendo que los ácidos grasos se alineen o se compacten disminuyendo su permeabilidad.

H.- CORTES HISTOLÓGICOS

Al final del período experimental, el estudio histológico del tejido hepático y adipocitos mostraron diferencias en las ratas alimentadas con la Dieta C

(Margarina Vegetal "Light") en relación con las Dietas A (Aceite Vegetal de Cocina) y B (Aceite Vegetal de Cocina "Light"). Siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$). En todos los casos las diferencias fueron considerables, no solo con el tamaño de los adipocitos y hepatocitos sino también la infiltración acuosa y aniso y poiquilonucleosis del tejido hepático. En el tejido intestinal se encontraron cambios histológicos en ratas alimentadas con la Dieta C (Margarina Vegetal "Light"), cuya intensidad disminuye en la Dieta B (Aceite Vegetal de Cocina "Light") y se encuentra ausente en la dieta A (Aceite Vegetal de Cocina). Estos cambios estarían motivados posiblemente por la falta de ácidos grasos esenciales (linoleico y alfa-linolénico) en la dieta, pero que pueden ser evitados por la presencia de ácido linoleico, tal como se observa en las ratas alimentadas con la Dieta A y Dieta B. (40, 42).

CONCLUSIONES

1.- La Margarina "Light" (Dieta C) afecta la composición corporal de las ratas, incrementando los niveles de agua y motivando variación en la retención de nitrógeno corporal cuando es comparado con los otros grupos experimentales (A y B).

2.- La Dieta A promueve una mejor retención de nitrógeno con respecto a las Dieta B y C.

3.- En la Dieta C (Margarina "Light") se observa disminución de LDH, generando incremento de piruvato, y compuestos intermediarios para entrar a la vía de las pentosas

4.- La glucosa 6 fosfato deshidrogenasa; está incrementada en el grupo B y C.

5.- El consumo de Margarina "Light" (Dieta C) origina alteraciones histológicas del adipocito, tejido hepático e intestinal lo que no se presenta en las ratas alimentadas con la Dieta A.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) FAO/OPS. Conferencia Internacional sobre Nutrición: Fomento de Dietas y estilos de vida sanos. Roma. Italia.1992.
- 2) OMS. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Informe Técnico No 797. Ginebra. Suiza; 1990.
- 3) RUZ, M. Nutrición y Salud. Editorial El Acuario. Chile; 1996.
- 4) MAHAN,K. ARLIN,M. Nutrición y Dietoterapia de Krause. Tercera Edición. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México, 1995.
- 5) OLIVARES,S. SOTO,D. ZACARIAS,I. Nutrición. Prevención de Riesgos y Tratamiento Dietético. Editorial El Acuario. Chile; 1989.
- 6) NOLEN, G. Effect of Various restricted dietary regimens on the growth, healt and longevity of albino rats. J Nutr. 1972; 102 :1477-1494.
- 7) SALZANO, E. REGUEIRA,N. CABRAL,J. Duración de la vida en ratas desnutridas, utilizando dieta básica del nordeste brasileño. Arch Latinoamer Nutr. 1997; 47: 338-342.
- 8) FORSUM,E. HILLMAN,P. NESHEIM,M. Effect of energy restriction total heat production basal metabolic rate, and specific dynamic action of food in rats. J Nutr. 1981; 111: 1691-1697.
- 9) HAM, A. Tratado de Histología. Editorial Interamericana. México; 1982.
- 10) LOZANO, A. GALINDO,D. SOLANO,F. Bioquímica para Ciencias de la Salud. Editorial McGraw-Hill Interamericana, 1996.

- 11) BRYER, J. Fisiopatología y Clínica de la Nutrición. Editorial Médica Panamericana. México. 1990
- 12) HERRERA, E. Elementos de Bioquímica. Editorial McGraw-Hill Interamericana; 1993
- 13) MURRIA, R. GRANNER, D. MAYES, P. Bioquímica de Harper. Editorial El Manual Moderno. México, 1997.
- 14) CALDERON-GUZMAN, D. Efecto de la deficiencia de proteínas sobre la peroxidación de lípidos en cerebro de ratas. Arch Neurocién. 2000; 5: 55-59.
- 15) MONTES, C. Consumo de Alimentos en el Perú 1990-1995. Asociación Benéfica Prisma. Lima. Perú; 1997.
- 16) RENJIFO, M. 2002. Reglas de Etiqueta. Somos 807: 20-30. Editorial El Comercio. Perú; 2002.
- 17) HELGUERA, I. Un Mercado en crecimiento: alimentos "Ligeros". Food Technol. 1994; 13: 28-33.
- 18) KANTOR, M. Light Dairy Products: The Need and the Consequences. Food Technol. 1990; 44: 81-85.
- 19) FAO/OMS. Grasas y Aceites en la Nutrición Humana. Roma. Italia; 1993.
- 20) NELSON, J. MOXONESS, K. JENSEN, M. GASTINEAU, C. Manual de la Clínica Mayo. Mosby/Doyma Libros. España; 1996.
- 21) OPS. Conocimientos Actuales en Nutrición. Publicación Científica No. 565. USA; 1997.
- 22) OPS. Conocimientos Actuales en Nutrición. Publicación Científica No. 532. USA; 1991.
- 23) VALENZUELA, A. NIETO, S. Lípidos para el futuro II: Sustitutos Hipocalóricos o no Calóricos de

- los lípidos. Alimentos. 1994; 19: 58-64.
- 24) YAÑEZ, E. BIOLLEY, E. Sustitutos de Grasa en la alimentación humana. Arch Latinoamer Nutr. 1999; 49: 101-105.
- 25) ZAPATA, J. Mitos en la prevención de problemas con lípidos e hipertensión "Las Margarinas". Hypertension. 1998; 1: 23-25.
- 26) CAIXAS, A. Tratamiento Farmacológico de la Obesidad. Endocrinol. 2000; 47: 16-30.
- 27) COOPER, D. WEBB, R. PETER, J. Evaluation of the potencial for Olestra to affect the availability of dietary phytochemicals. J Nutr. 1997; 127: 1699S-1790S.
- 28) DAHER, G. COOPER, D. ZORICH, N. KING, D. RICCARDI, K. PETER, J. Olestra ingestion and dietary fat absorption in humans. J Nutr. 1997; 127: 1694S-1698S.
- 29) THORNQUIST, M. KRISTAL, A. PATTERSON, R. Olestra consumption does not predict serum concentrations of carotenoids and fat soluble vitamins in free living humans: early results from the sentinel site of the olestra post-marketing surveillance study. J Nutr. 2000; 130: 1711-1718.
- 30) TAYLOR, S. Trans Fatty Acids in Margarine. N Engl J Med. 1995; 333: 130-132.
- 31) BARR, A. Consumer Motivational Forces Affecting the Sale of Light Dairy Products. Food Technol. 1990; 44: 97-98.
- 32) CARSON, K. Light Dairy Products: Regulatory Issues. Food Technol. 1990; 44: 88-92
- 33) OLSON, N. Light Dairy Products: Characteristics

- and Economics. Food Technol. 1990; 44: 93-96.
- 34) FRIEDMAN, S. BOYER, P. BARRIO, M Evaluación del Crecimiento normal en ratas a través del puntaje Z. Arch Latinoamer Nutr. 1999 49; 143 - 147.
- 35) SOMMER, C. MONROY, J. SILVA, P. DE DORTARI, P. Influencia del ciclo luz-oscuridad en el crecimiento de ratas macho con diferente estado de nutrición. Arch Latinoamer Nutr. 1996; 46: 63-66.
- 36) HARKNES, J. WAGNER, J. E. The Biology and medicine of rabbits and rodents. Lea & Febiger. USA; 1989.
- 37) MAYNARD, L. LOOSLI, J. HINTZ, H. WARNER, R. Nutrición Animal. Editorial Mc Graw Hill. México; 1992.
- 38) DAWSON-SAUNDERS, B. TRAPP, R. Bioestadística Médica. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. México. 1998
- 39) NORMAN, G. STREINER, D. Bioestadística. Mosby/Doyma Libros, S.A. España; 1996.
- 40) SCHRIJVER, R. PRIVETT, O. Energetic efficiency and mitochondrial function in rats fed trans fatty acids. J Nutr. 1984; 114: 1183-1191.
- 41) CONNOR, W. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. Am J Clin Nutr. 2000: 71(suppl): 171S-175S.
- 42) UAUY, R., HOFFAMAN, D.R. Essential fatty acid requirements for normal eye and brain development. Semin Perinatol. 1991; 15: 449-455.
- 43) J. E. Kinsella, G. Bruckner, J. Mai, and J. Shimp. Metabolism of trans fatty acids with emphasis on the effects of trans,trans-

- octadecadienoate on lipid composition, essential fatty acid, and prostaglandins : an overview. Am. J. Clin. Nutr. 1981. 34: 2307-2318.
- 44) ETHERTON, T. WANGSNESS, P. HAMMERS, V. ZIEGLER, J. Effect of Dietary Restriction on Carcass Composition and Adipocyte cellularity of swine with different propensities for obesity. J Nutr. 1982; 112: 2314-2323.
- 45) Antti Aro, Matti Jauhiainen, Raija Partanen, Irma Salminen, and Marja Mutanen. Stearic acid, trans fatty acids, and dairy fat: effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. Am J Clin Nutr. 1997; 65:1419-26.
- 46) <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/transfat.html>
- 47) Graciela Peterson, Daniel Aguilar, Marcelo Espeche, Milton Mesa, Patricia Jáuregui, Hernán Díaz, Marcelo Simi y Marcelo Tavella. Ácidos grasos trans en alimentos consumidos habitualmente por los jóvenes en Argentina Arch Argent Pediatr. 2004; 102(2) / 102
- 48) Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud. Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos. (Estudio FAO Alimentación y Nutrición - 57). Organizada por la, Roma, 19-26 de octubre de 1993.
- 49) ARO, A. MARJA, M., SALMINEN, I., PARTANEN, R., JAUHAINEN, M. Stearic acid, trans fatty acids,

- and dairy fat: effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein (a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65: 1419-1426.
- 50) WOOD, J.D. REID, J.T. The influence of dietary fat on fat metabolism and body fat deposition in mealfeeding and nibbling fat. *Br J Nutr.* 1975; 34: 15-24.
- 51) HARSTOCK, W. HERSHBERGER, V. NEE, C. Effects of Dietary protein content and ratio of fat to carbohydrate calories on energy metabolism and body composition of growing rats. *J Nutr.* 1973; 103: 167-178.
- 52) FERNSTROM, J.D. WURTMAN, R.J. Elevation of plasma tryptophan by insulin in the rat. *Metabolism.* 1972; 21: 337-342.
- 53) FERNSTROM, J.D. Food induce changes in brain serotonin synthesis: is there a relationship to appetite for specific macronutrients. *Appetite.* 1987; 8: 163-182.
- 54) MULLEN, B. MARTIN, R. Macronutrient Selection in Rats: Effect of Fat Type and Level. *J Nutr.* 1990; 120: 1418-1425.
- 55) PARDRIDGE, W.M. OLDENDORF, W.H. Kinetic analysis of blood brain barrier transport of amino acid. *Biochem Biophys Acta.* 1975; 401: 128-136.
- 56) PI-SUNYER, X.F. Effect of the composition of the diet on energy intake. *Nutr Rev.* 1990; 48: 94-105.
- 57) WURTAMN, R.J. Neurotransmitter control of carbohydrate consumption. *Ann NY Acad Sci.* 1985;

443: 143-151.

- 58) BANTLE, J. RAATZ, S. THOMAS, W. GEORGOPOULOS, A.
Effects of dietary fructose on plasma lipids in
healthy subjects. Am J Clin Nutr. 2000; 72: 1128-
1134.
- 59) SCHEMMEL, R. STONE, M. WARREN, M. STODDART, K.
Nitrogen and protein losses in rats during weight
reduction with a high protein, very low energy
diet or fasting. J Nutr. 1983; 113: 727-734.
- 60) CLAPES, S. TORRES, O. CAMPANIONI, M. Peroxidación
lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo
en pacientes diabéticos. Rev Cubana Invest Biomed.
2001; 20: 93-98.

ANEXOS

TABLA N° 1

DISTRIBUCIÓN DE LAS RATAS DE EXPERIMENTACIÓN POR TIPO DE DIETA

TIPO DE DIETA N° RATAS POR DIETA PESO INICIAL (g) DE RATAS POR DIETA

A

Aceite de Cocina 10 40.95 ± 3.55

B

Aceite de Cocina 10 41.60 ± 2.45

"Light"

C

Margarina 10 40.40 ± 2.96

"Light"

TABLA N° 2

COMPOSICION DE MACRO Y MICRONUTRIENTES DE LA DIETA EXPERIMENTAL

COMPONENTE	CANTIDAD/100 g DE DIETA
ENERGIA (KCAL)	463.48
PROTEINA (g)	15
GRASA (g) (*)	17
CARBOHIDRATOS (g)	62.62
Celulosa (g)	2.70
Mezcla de Minerales (g) (**)	2.08
Mezcla de Vitaminas (g) (***)	0.1
Metionina (g)	0.5

*** Fuente de grasa:**

- Dieta A : Aceite de Cocina
- Dieta B : Aceite de Cocina "Light"
- Dieta C : Margarina "Light"

****Mezcla de Minerales (% en 100 g):**

- Fosfato de Calcio	50.00%
- Clorato de Sodio	7.40%
- Citrato de Potasio Monohidratado	22.00%
- Sulfato de Potasio	5.20%
- Oxido de Magnesio	2.40%
- Carbonato de Manganeso	0.35%
- Citrato férrico	0.60%
- Carbonato de zinc	0.16%
- Carbonato cúprico	0.03%
- Iodato de potasio	0.001%
- Selinato de sodio	0.001%
- Sulfato potásico de cromo	0.055%

***** Mezcla Vitaminas (miligramos en 100 ml):**

- Clorhidrato de tiamina	60
- Riboflavina	60
- Clorhidrato de piridoxina	70
- Acido Nicotínico	300
- Pantotenato de calcio	160
- Acido fólico	20
- Biotina	2
- Cianocobalamina	0.1
- Palmitato de Retinol	80
- Acetato de tocoferol	2
- Colecalciferol	0.25
- Menaquinona	0.5
- Clorhidrato de colina	80
- Acido p-aminobenzóico	60
- Inositol	80
- Acido Ascórbico	50

Disuelto en 842 ml de Alcohol etílico y completado a 1000 ml con agua destilada.

TABLA N° 3

DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS MACRONUTRIENTES DE LA DIETA (*)

NUTRIENTE	GRAMOS (g)	Kcal	%
PROTEINAS	15	60	12.95
LIPIDOS	17	153	33.01
CARBOHIDRATOS	62.62	250.48	54.04
OTROS	5.38	---	---
TOTAL	100.00	463.48	100.00

(*)= Por cada 100 gramos de dieta.

Densidad Energética: 4.6

NDPKcal% = 6.48 para todas las dietas

GRÁFICO N° 1

DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA ENERGÍA DE LA DIETA POR CADA MACRONUTRIENTE

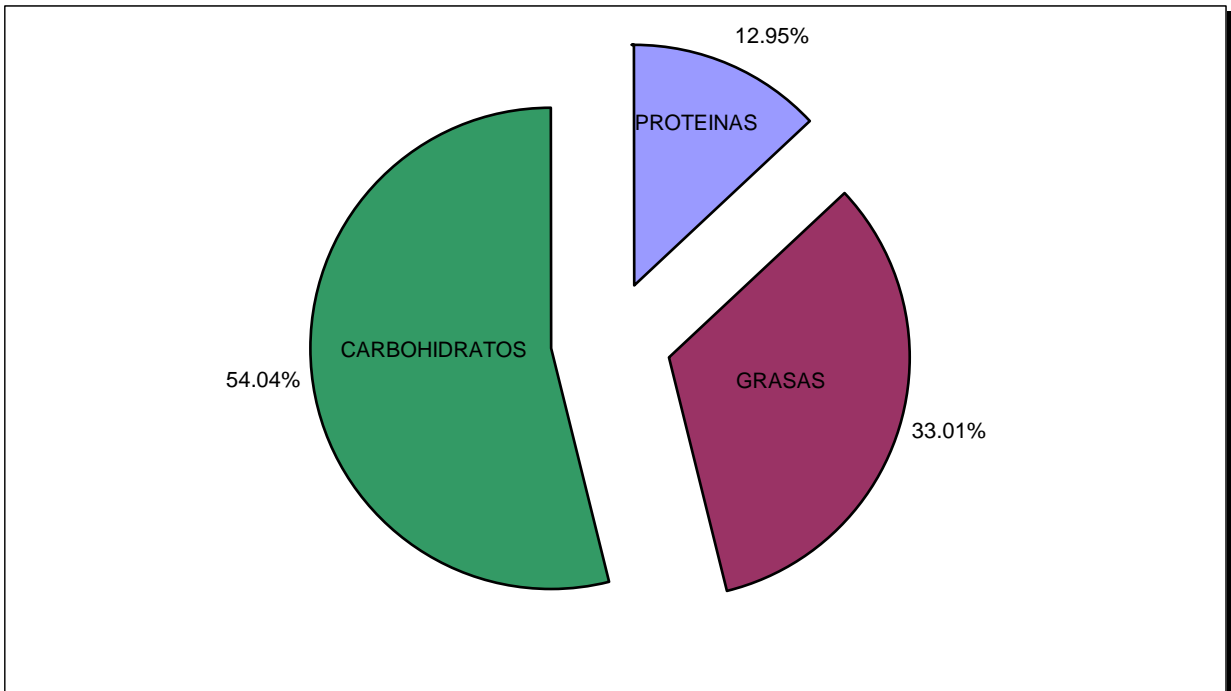


TABLA N° 4
COMPOSICIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN 100 GRAMOS
DE GRASA PRESENTES EN LA DIETA

<i>Tipo de ácido graso</i>	<i>Aceite de Cocina</i>	<i>Aceite de Cocina "Light"</i>	<i>Margarina "Light"</i>
<i>Palmítico (16:0)</i>	<i>10.99g</i>	<i>7.20g</i>	<i>13.55g</i>
<i>Esteárico (18:0)</i>	<i>0.00g</i>	<i>0.00g</i>	<i>8.80g</i>
<i>Oleico (18:1 n-9)</i>	<i>28.86g</i>	<i>36.85g</i>	<i>28.15g</i>
<i>Linoleico (18:2 n-6)</i>	<i>51.68g</i>	<i>54.62g</i>	<i>44.90g</i>
<i>Linolénico (18:3 n-3)</i>	<i>6.58g</i>	<i>0.00g</i>	<i>4.60g</i>
<i>Otros elementos no grasos</i>	<i>1.89g</i>	<i>1.33g</i>	<i>0.00g</i>
<i>TOTAL</i>	<i>100g</i>	<i>100g</i>	<i>100g</i>

Método: Cromatografía de Ácidos Grasos (Validado por el Laboratorio Físico-Químico. Laboratorios del Instituto Tecnológico Pesquero del Perú según R. 0072-1998/INDECOPI-CRT)

TABLA N° 5

GANANCIA DE PESO CORPORAL PROMEDIO (g ± DE y %) EN LAS RATAS

DESDE LOS 0 A 45 DIAS DE EXPERIMENTACION Y POR TIPO DE DIETA

t días	DIETA A			DIETA B			DIETA C		
	Aceite de Cocina			Aceite de Cocina "Light"			Margarina "Light"		
	PESO (g ± DE)	GANANCIA(g)	%	PESO (g ± DE)	GANANCIA (g)	%	PESO (g ± DE)	GANANCIA (g)	%
0	40.95 ± 3.55	0	100.00	41.60 ± 2.45	0	100.00	40.40 ± 2.96	0	100.00
7	67.94 ± 5.33	26.99	65.91	71.07 ± 4.98	29.47	70.84	66.93 ± 5.91	26.53	65.67
14	115.15 ± 9.41	74.20	181.19	115.35 ± 7.81	73.75	177.28	113.85 ± 10.96	73.45	181.81
21	155.38 ± 12.61	114.43	279.44	156.63 ± 10.35	115.03	276.50	156.35 ± 11.04	115.95	287.00
28	200.57 ± 16.62	159.62	389.79	200.35 ± 12.15	158.75	381.61	201.40 ± 13.65	161.00	398.51
35	249.15 ± 16.49	208.20	508.43	252.15 ± 15.96	210.55	506.12	256.10 ± 15.68	215.70	533.91
45	284.17 ± 22.88	243.22	593.94	285.55 ± 17.54	243.95	586.42	292.70 ± 14.53	252.30	624.50
X	153.90 ± 99.41	137.77 ± 81.7		160.38 ± 91.11	138.58 ± 81.67		161.10 ± 94.56	140.82 ± 85.63	

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p>0.05).

TABLA N° 6

PROMEDIO DE LA COMPOSICION CORPORAL DE LA CARCASA (g y % ± DE) DE LAS RATAS A LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN Y SEGÚN TIPO DE DIETA

	DIETA A	DIETA B	DIETA C
	Aceite de Cocina	Aceite de Cocina "Light"	Margarina "Light"
Peso Total	221.66 ± 17.48	223.61 ± 14.07	225.59 ± 12.44
g ± DE	120.74 ± 8.21	135.75 ± 10.14	146.39 ± 5.40 ^(c.a1)
Agua % ± DE	54.47 ± 3.70	60.71 ± 4.53	64.89 ± 2.39 ^(c.a1)
g ± DE	45.17 ± 3.17	40.00 ± 4.10	40.02 ± 5.12
Nitrógeno % ± DE	20.38 ± 1.43	17.89 ± 1.83	17.74 ± 2.27
g ± DE	41.98 ± 4.92	35.82 ± 5.26	27.18 ± 3.31 ^(c.a2)
Lípidos % ± DE	18.94 ± 2.21	16.02 ± 2.35	12.05 ± 1.47 ^(c.a2)
g ± DE	13.77 ± 1.38	12.03 ± 1.83	12.00 ± 1.88
Otros % ± DE	6.21 ± 0.62	5.38 ± 0.82	5.32 ± 0.84

(&)= Datos a los 21 días de edad.

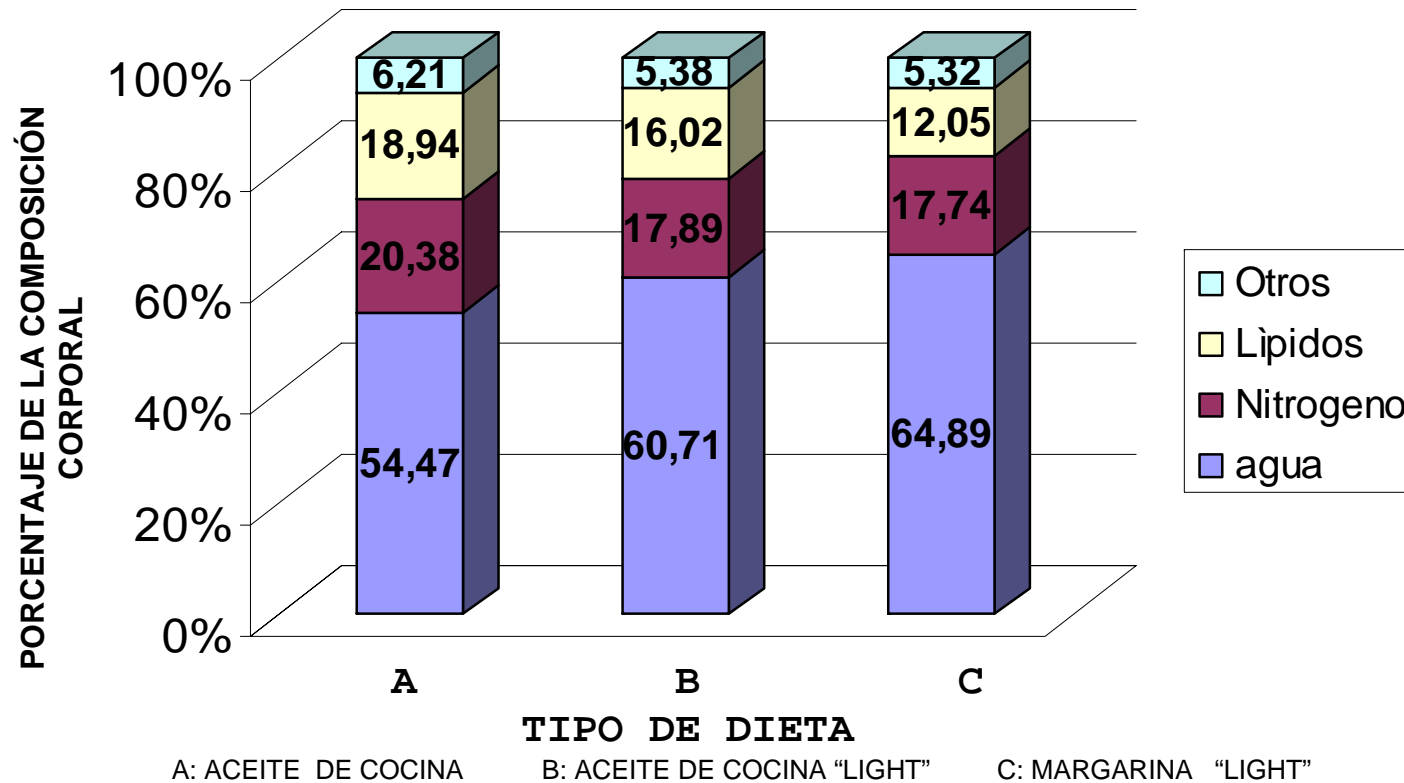
(c.a1)=p<0

(c.a2)= p<0.01

(*) = Datos a los 45 días de experimentación.

GRAFICO N° 2

PORCENTAJE DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL (% ± DE) DE LAS RATAS EN EXPERIMENTACIÓN SEGÚN TIPO DE DIETA



(c.a1)= $p < 0.02$

(c.a2)= $p < 0.01$

Nota: En el resto de los grupos no se registro diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$)

TABLA N° 7

PROMEDIO DE PESO DE HÍGADO ($g \pm DE$) Y SU RELACIÓN

AL PESO CORPORAL ($g \pm DE$), EN LAS RATAS AL FINAL DE LA EXPERIMENTACIÓN

Y SEGÚN TIPO DE DIETA

	DIETA A	DIETA B	DIETA C
	Aceite Vegetal de Cocina	Aceite Vegetal de Cocina "Light"	Margarina Vegetal "Light"
Peso Corporal ($g \pm DE$)	284.17 \pm 22.88	285.55 \pm 17.54	292.70 \pm 14.53
Peso de Hígado ($g \pm DE$)	7.89 \pm 0.83	7.35 \pm 0.57	8.09 \pm 0.68
PH/PC ($\% \pm DE$)	2.78 \pm 0.22	2.57 \pm 0.10 ^(b.a)	2.76 \pm 0.16 ^(c.b)

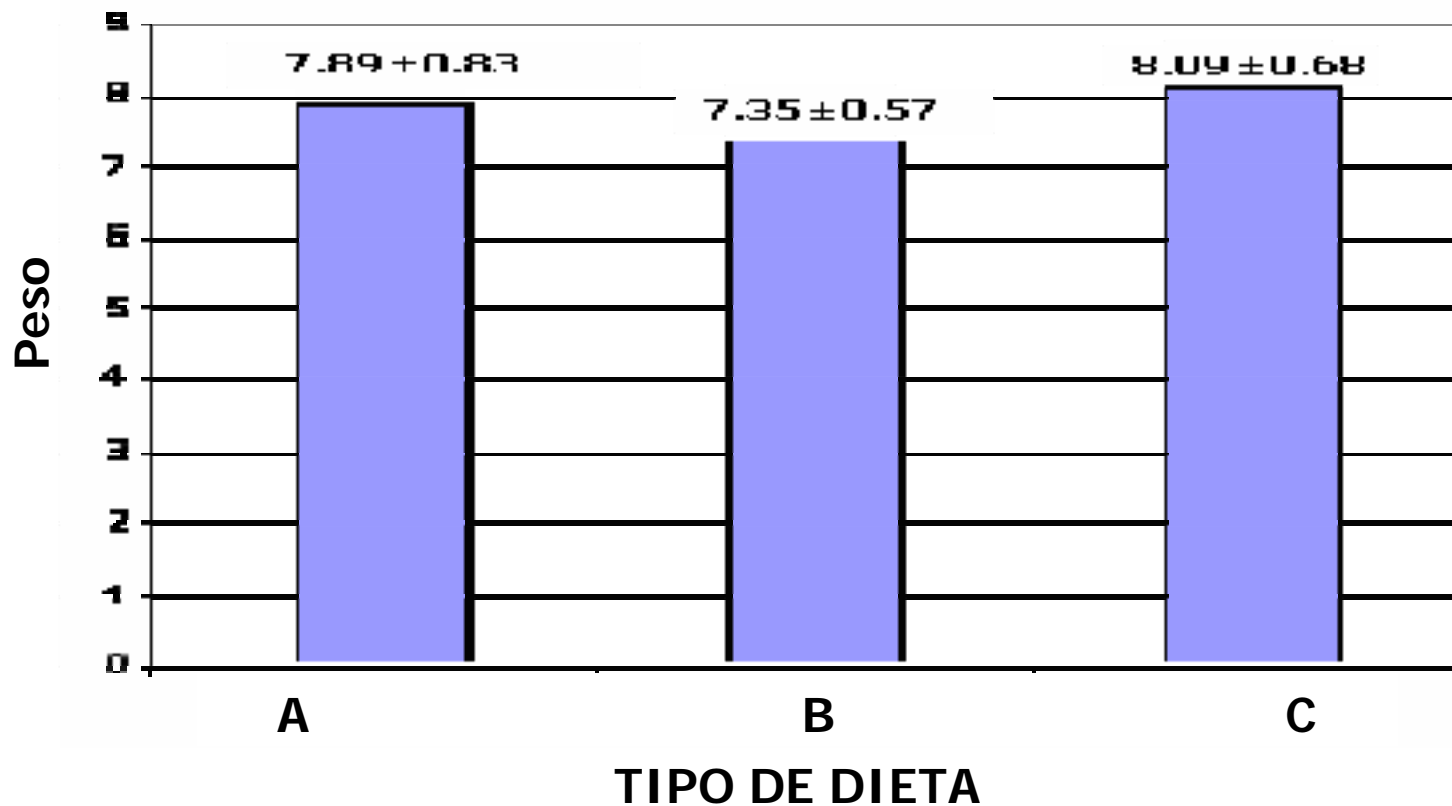
(b.a) $p < 0.05$

(c.b) $p = 0.05$

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los demás grupos ($p > 0.05$).

GRÁFICO N° 3

PESO* DE HÍGADOS DE LAS RATAS CON DIFERENTES DIETAS DE EXPERIMENTACIÓN



A: ACEITE VEGETAL DE COCINA B: ACEITE VEGETAL DE COCINA "LIGHT" C: MARGARINA VEGETAL "LIGHT"

* (g ± DE)

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p > 0.05$).

TABLA N° 8

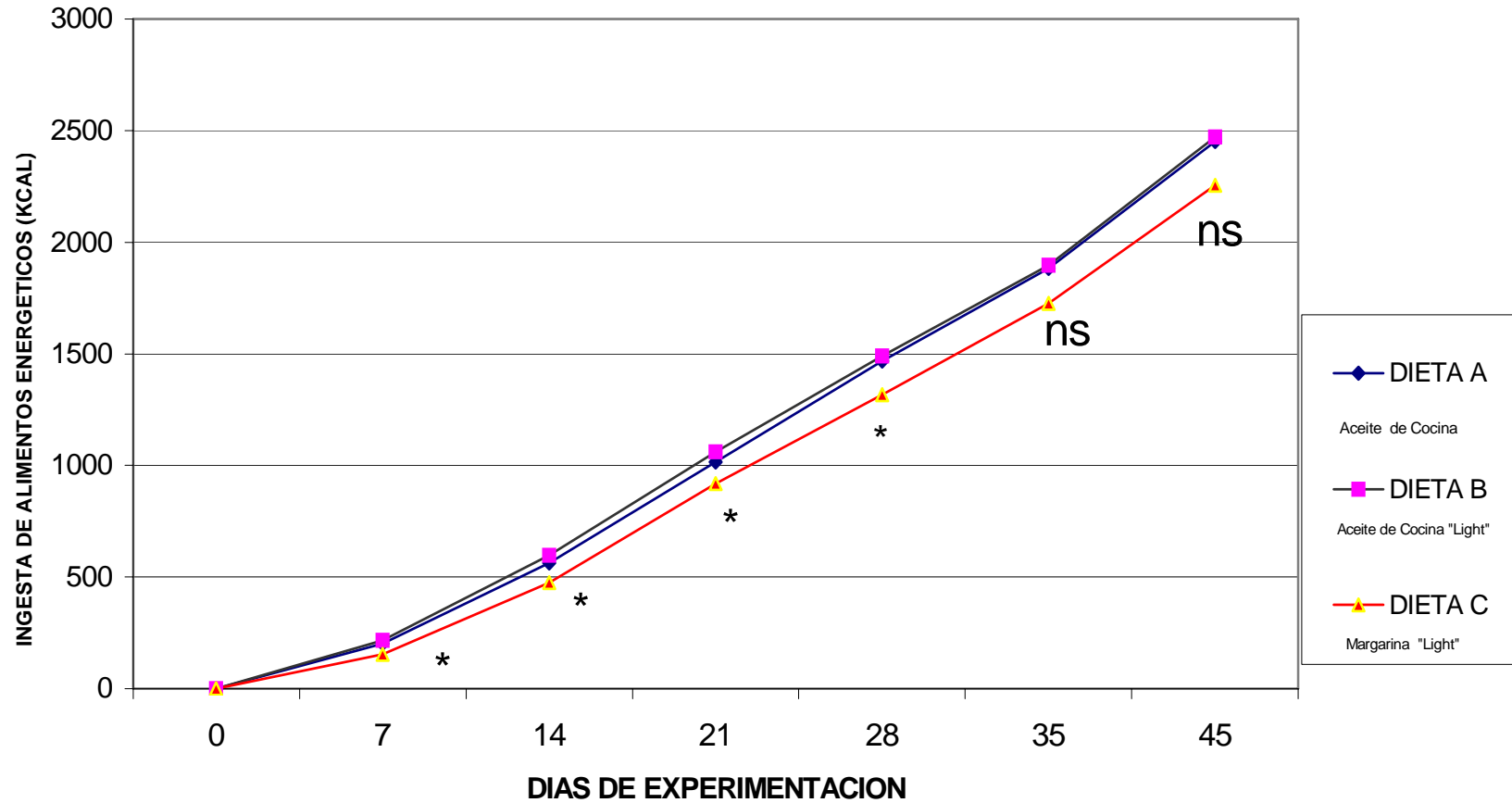
PROMEDIO DE CONSUMO DIARIO (Kcal/día ± DE) Y TOTAL (Kcal ± DE) DE ALIMENTOS ENERGÉTICOS DURANTE LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN Y SEGÚN TIPO DE DIETA

	DIETA A		DIETA B		DIETA C	
	Aceite de Cocina		Aceite de Cocina "Light"		Margarina "Light"	
	Consumo Diario (Kcal/día ± DE)	Consumo Total (Kcal ± DE)	Consumo Diario (Kcal/día ± DE)	Consumo Total (Kcal ± DE)	Consumo Diario (Kcal/día ± DE)	Consumo Total (Kcal ± DE)
7 días	28.82 ± 2.41	201.71 ± 16.89	30.94 ± 1.88	216.58 ± 13.13	22.13 ± 2.67 ^(c.a y c.b)	153.70 ± 18.53 ^(c.a y c.b)
14 días	40.02 ± 3.27	562.2 ± 45.82	42.60 ± 2.88	596.70 ± 40.39	34.2 ± 2.63 ^(c.a y c.b)	474.60 ± 36.50 ^(c.a y c.b)
21 días	48.34 ± 2.72	1015.22 ± 57.09	50.47 ± 2.60	1059.97 ± 54.53	44.05 ± 2.35 ^(c.a y c.b)	917.94 ± 49.06 ^(c.a y c.b)
28 días	52.44 ± 4.07	1468.34 ± 113.94	53.23 ± 2.38	1490.32 ± 66.77	47.42 ± 4.61 ^(c.a y c.b)	1317.32 ± 127.98 ^(c.a y c.b)
35 días	53.75 ± 5.83	1881.10 ± 204.22	54.15 ± 4.28	1895.41 ± 149.75	49.69 ± 5.41	1725.75 ± 187.76
45 días	54.50 ± 6.75	2452.53 ± 303.75	54.89 ± 4.49	2470.08 ± 201.96	50.49 ± 5.10	2254.28 ± 227.66
Promedio	46.31 ± 10.09	1263.51 ± 838.81	47.71 ± 9.36	1288.17 ± 834.86	41.33 ± 11.11	1140.59 ± 784.98

(c.a y c.b) = p < 0.01

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas en los demás grupos (p > 0.05).

GRÁFICO N° 4
PROMEDIO DE CONSUMO DE ALIMENTOS ENERGETICOS (Kcal)
DURANTE 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN EN RATAS ALBINAS



(*) = $p < 0.01$

(ns) = sin significancia estadística

TABLA N° 9

INGESTA PROMEDIO DE MACRONUTRIENTES POR GRAMO DE PESO CORPORAL ± DE DURANTE LOS 45 DE EXPERIMENTACION SEGÚN TIPO DE DIETA

	DIETA A	DIETA B	DIETA C
	Aceite de Cocina	Aceite de Cocina "Light"	Margarina "Light"
Carbohidratos (g/p ± DE)	0.030 ± 0.002 ^(a.c 1)	0.030 ± 0.002 ^(b.c 1)	0.027 ± 0.002 ^(c.a y c.b 1)
Lípidos (g/p ± DE)	0.008 ± 0.0 ^(a.c 2)	0.008 ± 0.0 ^(b.c 2)	0.007 ± 0.001 ^(c.a y c.b 2)
Proteínas (g/p ± DE)	0.007 ± 0.0 ^(a.c 2)	0.007 ± 0.0 ^(b.c 2)	0.006 ± 0.001 ^(c.a y c.b 2)
Energía Total (Kcal/p ± DE)	0.22 ± 0.012 ^(a.c 2)	0.225 ± 0.013 ^(b.c 2)	0.199 ± 0.018 ^(c.a y c.b 2)

(c.a 1y c.b 1) = p<0.01

(c.a2 y c.b2) = p< 0.05

(a.c 1y b.c 1) = p<0.01

(a.c2 y b.c2) = p< 0.05

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los demás grupos (p>0.05).

TABLA N° 10

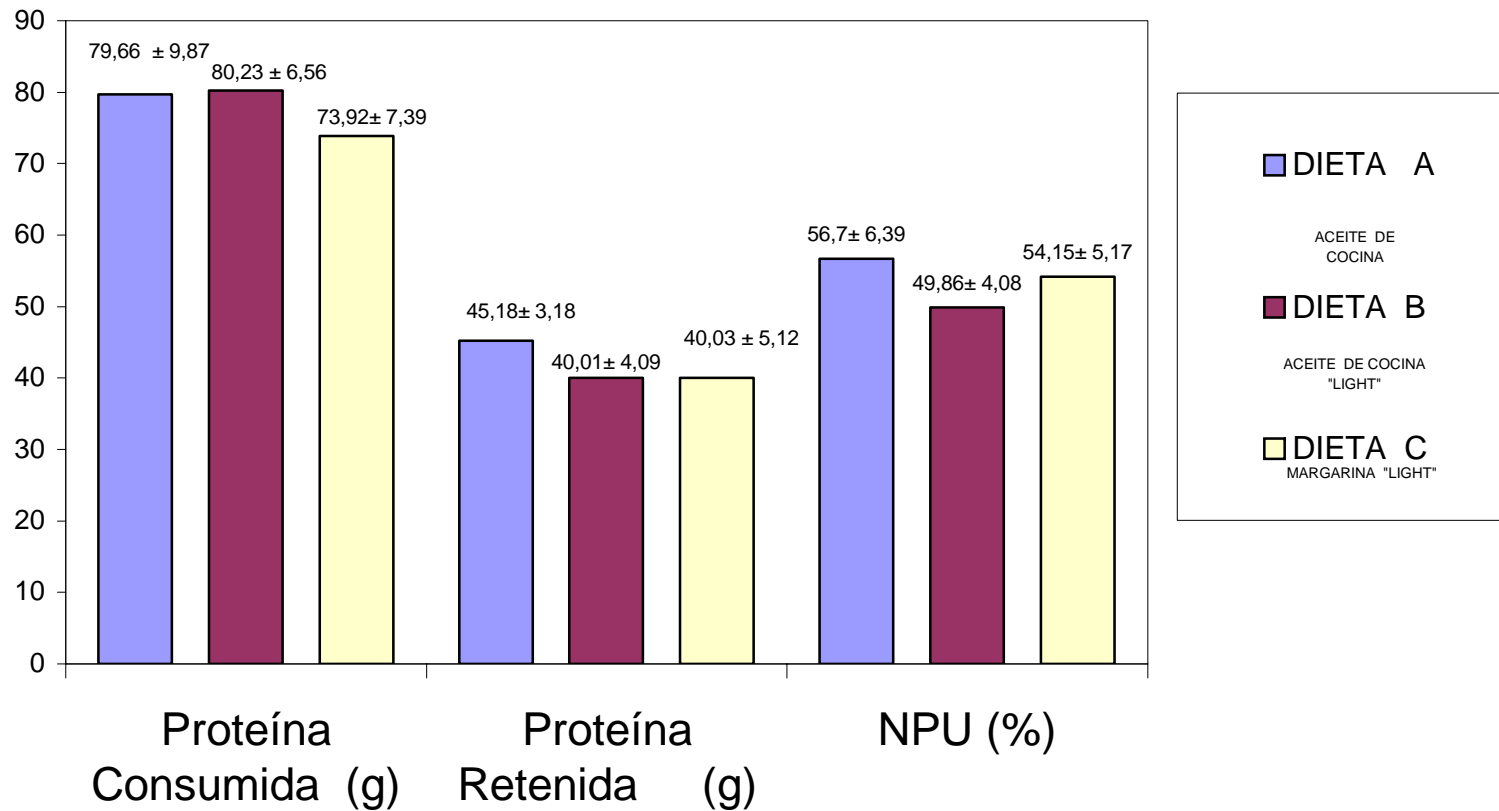
PROMEDIO DE UTILIZACIÓN DE PROTEINA NETA (NPU) EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DE ACUERDO A LA DIETA Y DIFERENTES TIPOS DE GRASAS

	DIETA A	DIETA B	DIETA C
	Aceite de cocina	Aceite de cocina "Light"	Margarina "Light"
Energía Total Consumida (Kcal±DE)	2452.53 ± 303.75	2470.08 ± 201.96	2254.28 ± 227.66
Proteína Total Consumida (g±DE)	79.66 ± 9.87	80.23 ± 6.56	73.92 ± 7.39
Proteína de carcasa (g±DE)	45.18 ± 3.18	40.01 ± 4.09	40.03 ± 5.12
NPU (%±DE)	56.70 ± 6.39	49.86 ± 4.08	54.15 ± 5.17
NDPcal %	7.37	6.47	7.10
P %	12.99	12.99	13.12

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p > 0.05$).

GRÁFICO N° 5

CONSUMO DE PROTEÍNA (g ± DE), PROTEÍNA RETENIDA (g ± DE) Y NPU (% ± DE) AL FINAL DE LOS 45 DÍAS DE EXPERIMENTACIÓN



Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p > 0.05$).

TABLA N° 11

ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS EN HÍGADO DE RATAS A LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN (U/g Tejido ± DE)

	DIETA A (*)	DIETA B (*)	DIETA C (*)
	Aceite de Cocina	Aceite de Cocina "Light"	Margarina "Light"
Glucosa 6-Fosfato deshidrogenasa	0.6 ± 0.08 (a.c1)	0.8 ± 0.1(b.a1)	0.8 ± 0.1 (c.a1)
6-Fosfoglicodeshidrogenasa	1.2 ± 0.2	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.4
Piruvato kinasa	0.6 ± 0.3 (a.c2)	0.8 ± 0.2 (b.a2)	0.8 ± 0.3 (c.a2)
Lactato deshidrogenasa	438.7 ± 79.5	428.7 ± 55.6	337.7 ± 115.1

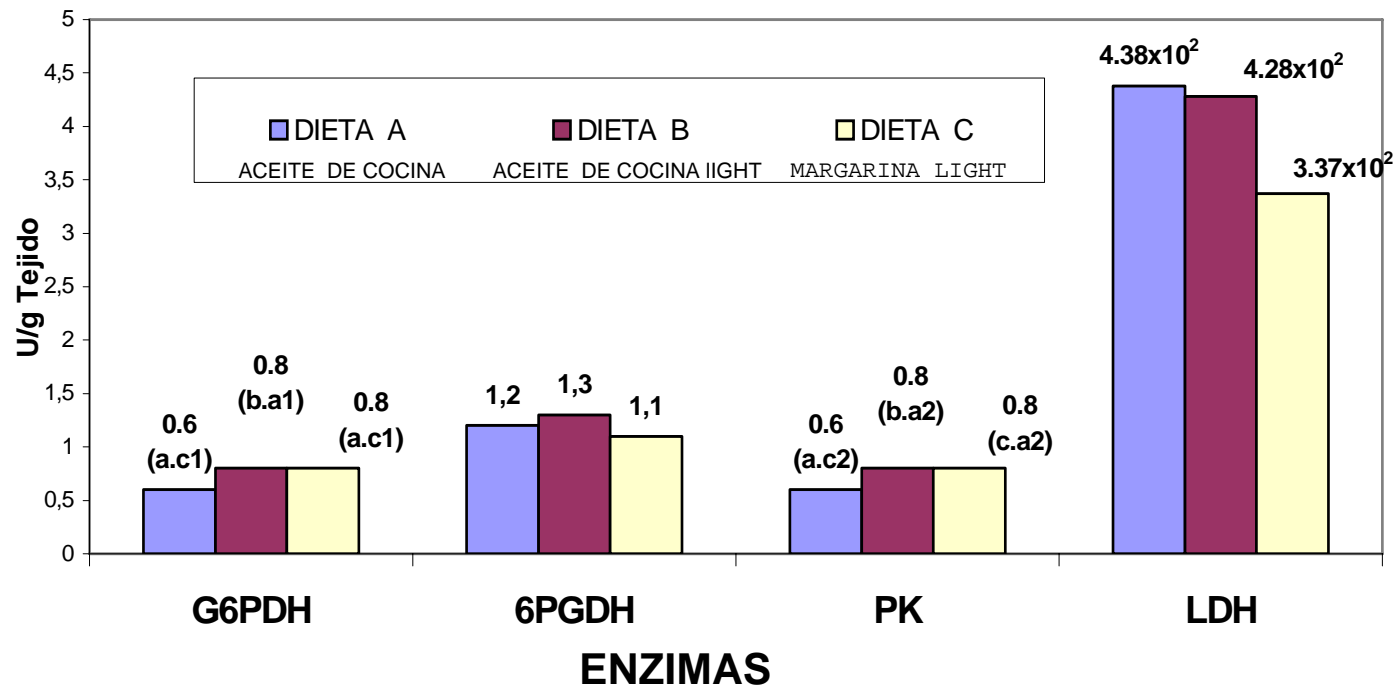
(a.c1 , b.a1 y c.a1) p=0.000

(a.c2 , b.a2 y c.a2) p<0.05

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los demás grupos (p>0.05).

GRÁFICO N° 6

ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS (U/g Tejido ± DE) EN HÍGADO DE RATAS A LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN



(a.c1 . b.a1 y c.a1 p=0.000)

(a.c2 b.a2 y c.a2 p<0.05)

G-6PDH: Glucosa 6-Fosfato deshidrogenasa

PK: Piruvato kinasa

6-PGDH: 6-Fosfoglicodeshidrogenasa

LDH: Lactato deshidrogenasa

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los demás grupos (p>0.05).

TABLA N° 12

CONCENTRACIONES DE PROTEINAS HEPATICAS A LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN (g/dL ± DE)

	Proteínas (g/dL ± DE)
DIETA A	
Aceite de Cocina	0.58 ± 0.17 (a.b1 y a.c2)
DIETA B	
Aceite de Cocina "Light"	0.86 ± 0.1 (b.a1)
DIETA C	
Margarina "Light"	0.8 ± 0.2 (c.a2)

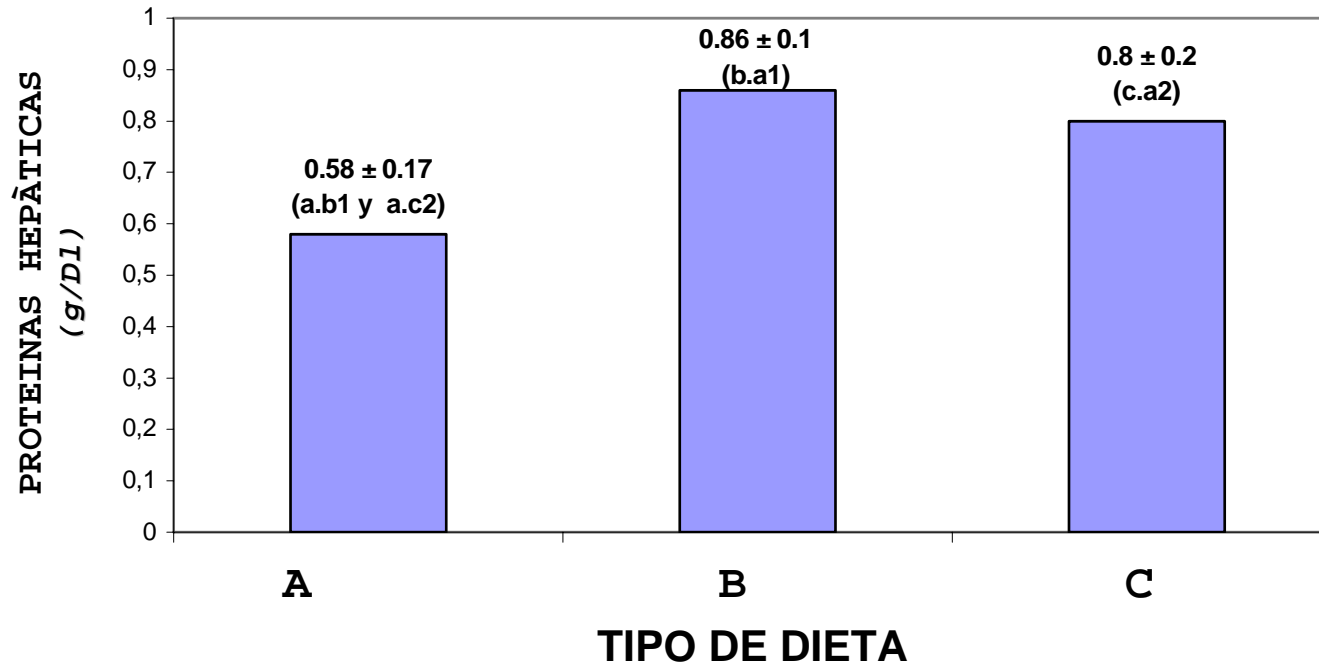
a.b1 y b.a1 $p < 0.005$

a.c2 y c.a2 $p < 0.05$

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los demás grupos ($p > 0.05$).

GRÁFICO N° 7

PROMEDIO DE CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS HEPATICAS A LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN (g/dL ± DE) CON DIFERENTES GRASAS EN LA DIETA



A: ACEITE DE COCINA

B: ACEITE DE COCINA "LIGHT"

C: MARGARINA "LIGHT"

a.b1 y b.a1 $p < 0.005$

a.c2 y c.a2 $p < 0.05$

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p > 0.05$).

TABLA N° 13

VALORES DE LIPEROXIDACION LIPIDICA A NIVEL HEPATICO A LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN (U/g tejido X 10⁻⁶ M ± DE)

	Lipoperoxidación Lipídica (U /g tejido x 10 ⁻⁶ M ± DE)
DIETA A Aceite de Cocina	5.40 ± 0.33 (a.c1)
DIETA B Aceite de Cocina "Light"	5.65 ± 0.66 (b.c2)
DIETA C Margarina "Light"	6.37 ± 0.20 (c.a1) y (c. b2)

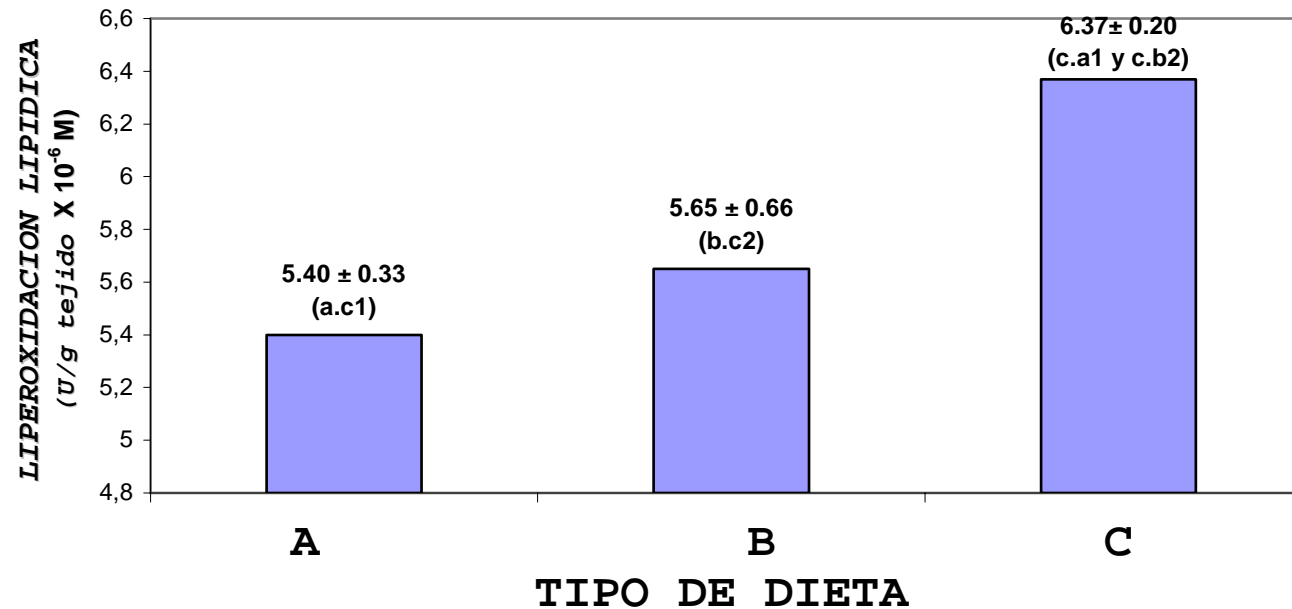
a.c1 y c.a1 p=0.000

b.c2 y c.b2 p<0.01

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los demás grupos (p>0.05).

GRÁFICO N° 8

**PROMEDIO DE VALORES DE LIPEROXIDACION LIPIDICA A NIVEL HEPATICO
A LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN (U/g tejido X 10⁻⁶ M ± DE) CON
DIFERENTES GRASAS EN LA DIETA**



A: ACEITE DE COCINA

B: ACEITE DE COCINA "LIGHT"

C: MARGARINA "LIGHT"

a.c1 y a.c1 p=0.000

c.a1 y c.b2 p<0.01

Nota: No se registró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p>0.05).

TABLA N° 14

**PROMEDIO DE DIÁMETRO DE ADIPOCITOS EN
CORTE TRANSVERSAL DEL TEJIDO ADIPOSO A
LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN
(mm ± DE)**

	Diámetro de Adipocito (mm ± DE)
DIETA A Aceite de Cocina	0.08 ± 0.01
DIETA B Aceite de Cocina "Light"	0.11 ± 0.02 ^(b..c)
DIETA C Margarina "Light"	0.19 ± 0.06 ^(c..a y c..b)

(b.c) = p<0.01 (c.a y c.b) = p<0.01

TABLA N° 15

**PROMEDIO DE DIÁMETRO DE HEPATOCITOS EN
CORTE TRANSVERSAL DEL TEJIDO HEPATICO A
LOS 45 DIAS DE EXPERIMENTACIÓN
(mm ± DE)**

	<u>Diámetro de Hepatocito (mm ± DE)</u>
DIETA A Aceite de Cocina	0.13 ± 0.01
DIETA B Aceite de Cocina "Light"	0.10 ± 0.01 ^(b.a)
DIETA C Margarina "Light"	0.09 ± 0.07 ^(c.a)

(b.a) = p<0.01 (c.a) = p<0.01

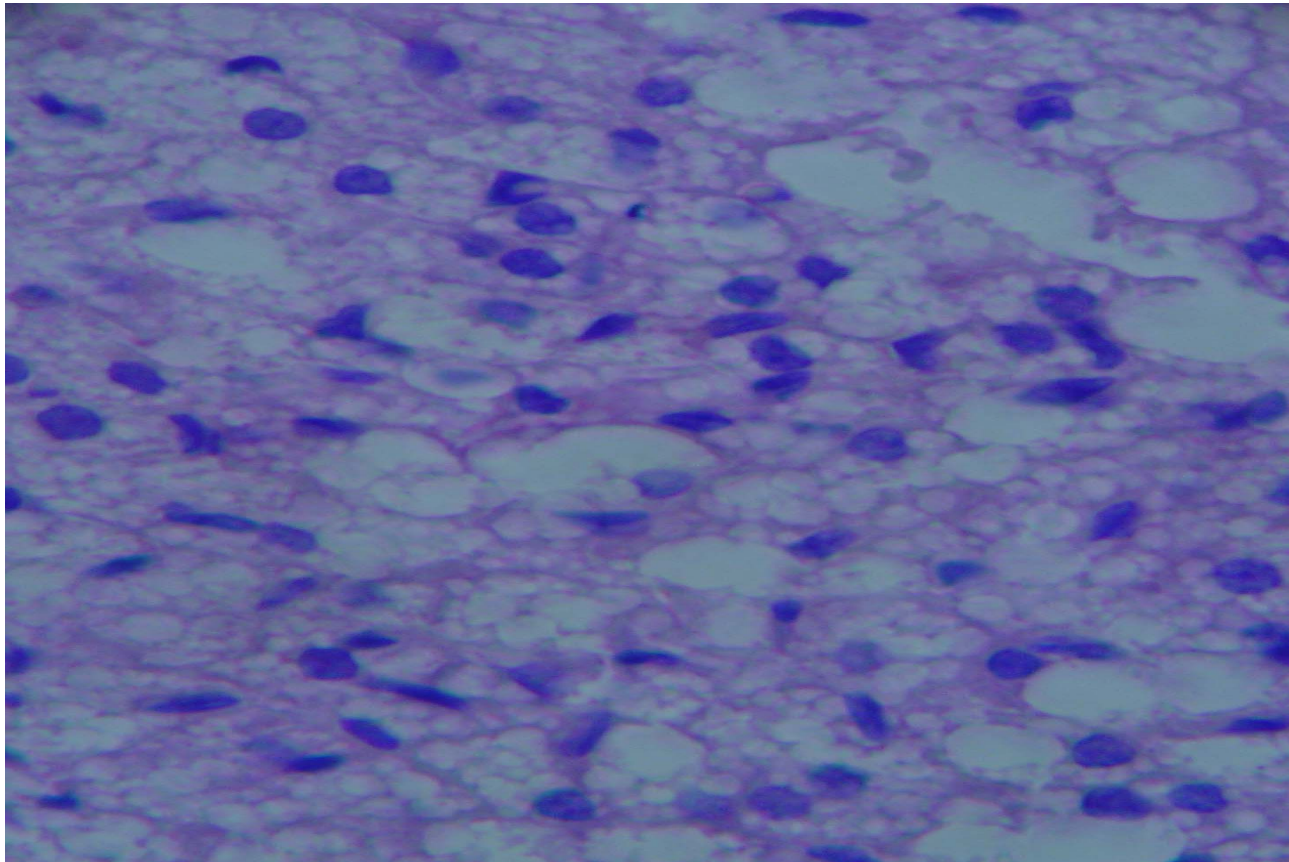


Foto N° 1: *Corte Transversal de Tejido Adiposo de Rata (400x).*
Tejido Adiposo de Rata alimentada con Aceite de Cocina (Dieta A).

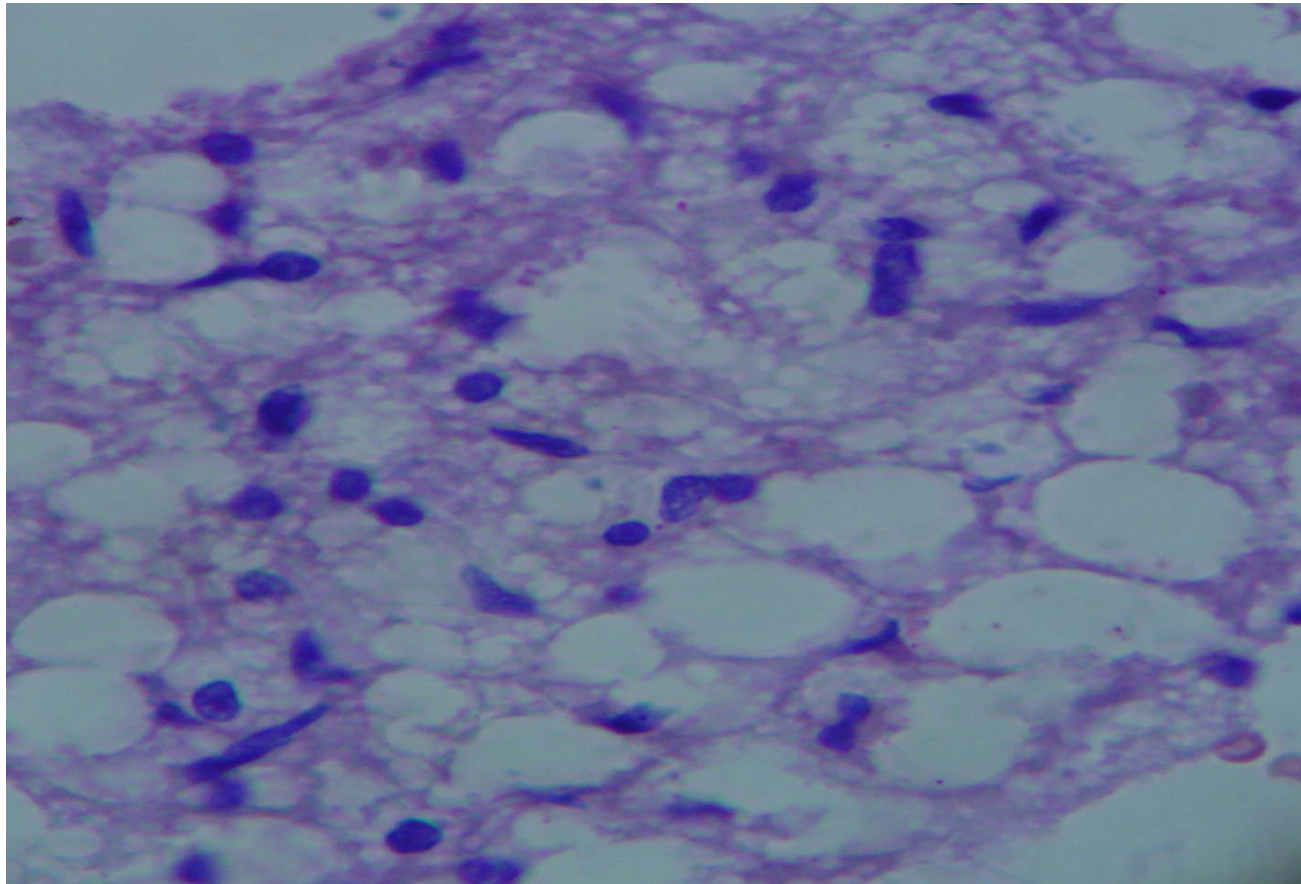


Foto N° 2: Corte Transversal de Tejido Adiposo de Rata (400x).

Tejido Adiposo de Rata alimentada con Aceite de Cocina "Light" (Dieta B).

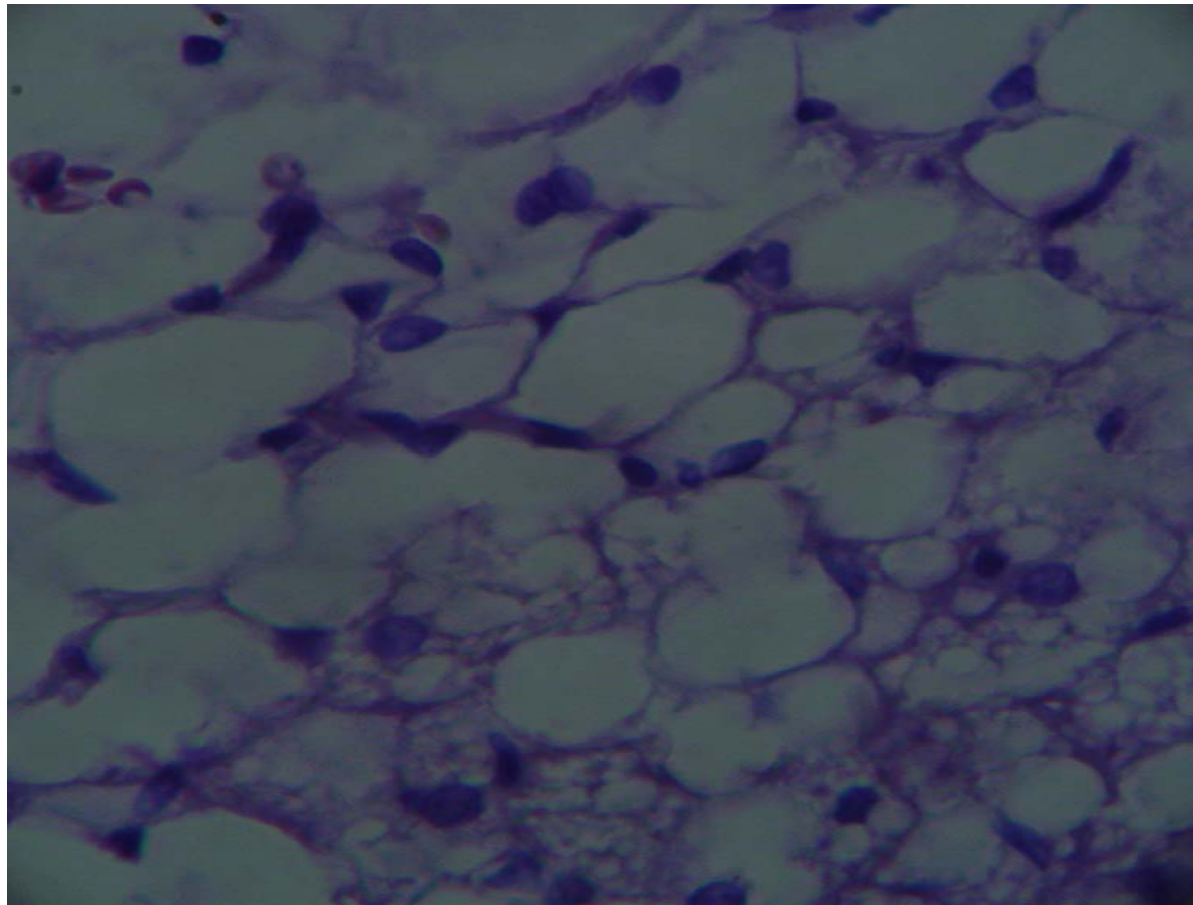


Foto N° 3: *Corte Transversal de Tejido Adiposo de Rata (400x).*
Tejido Adiposo de Rata alimentada con Margarina "Light" (Dieta C

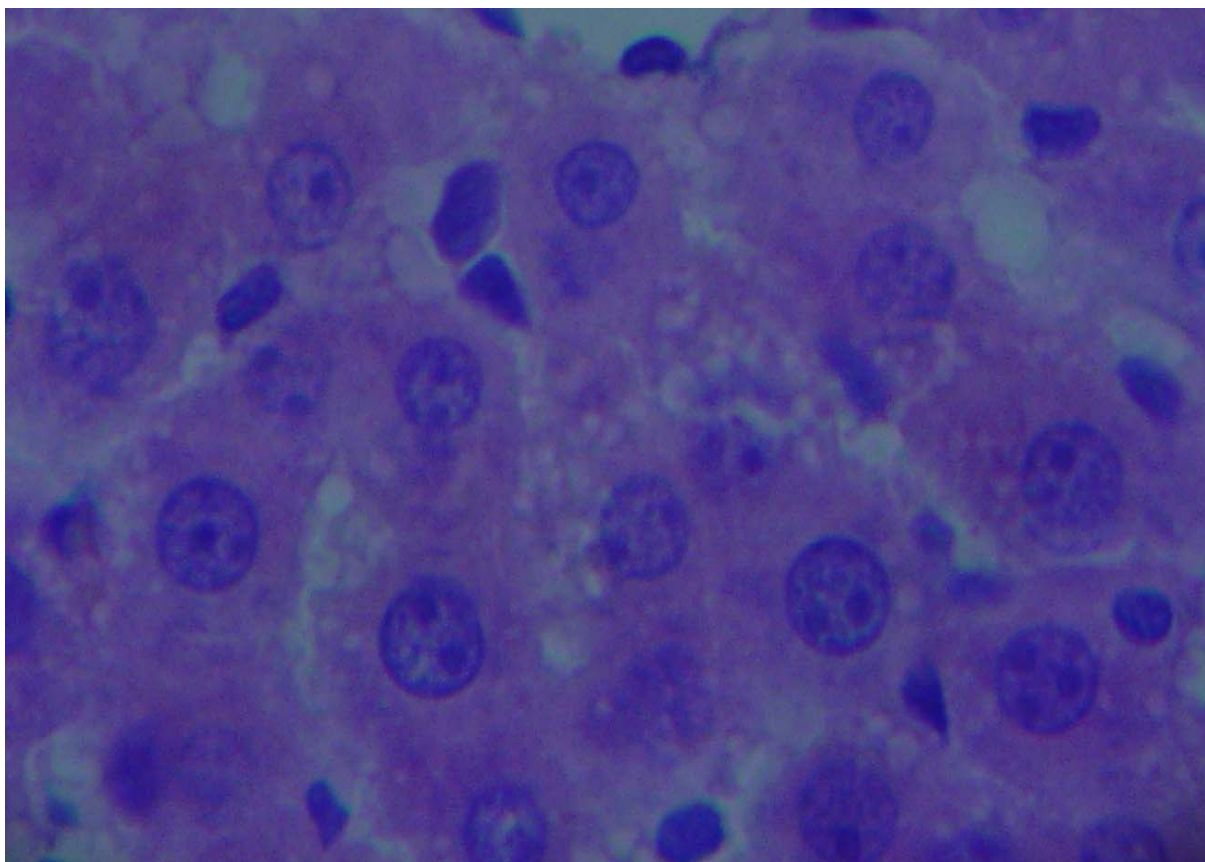


Foto N° 4: *Corte Transversal de Tejido Hepático de Rata (400x).*
Tejido Hepático de Rata alimentada con Aceite de Cocina (Dieta A).

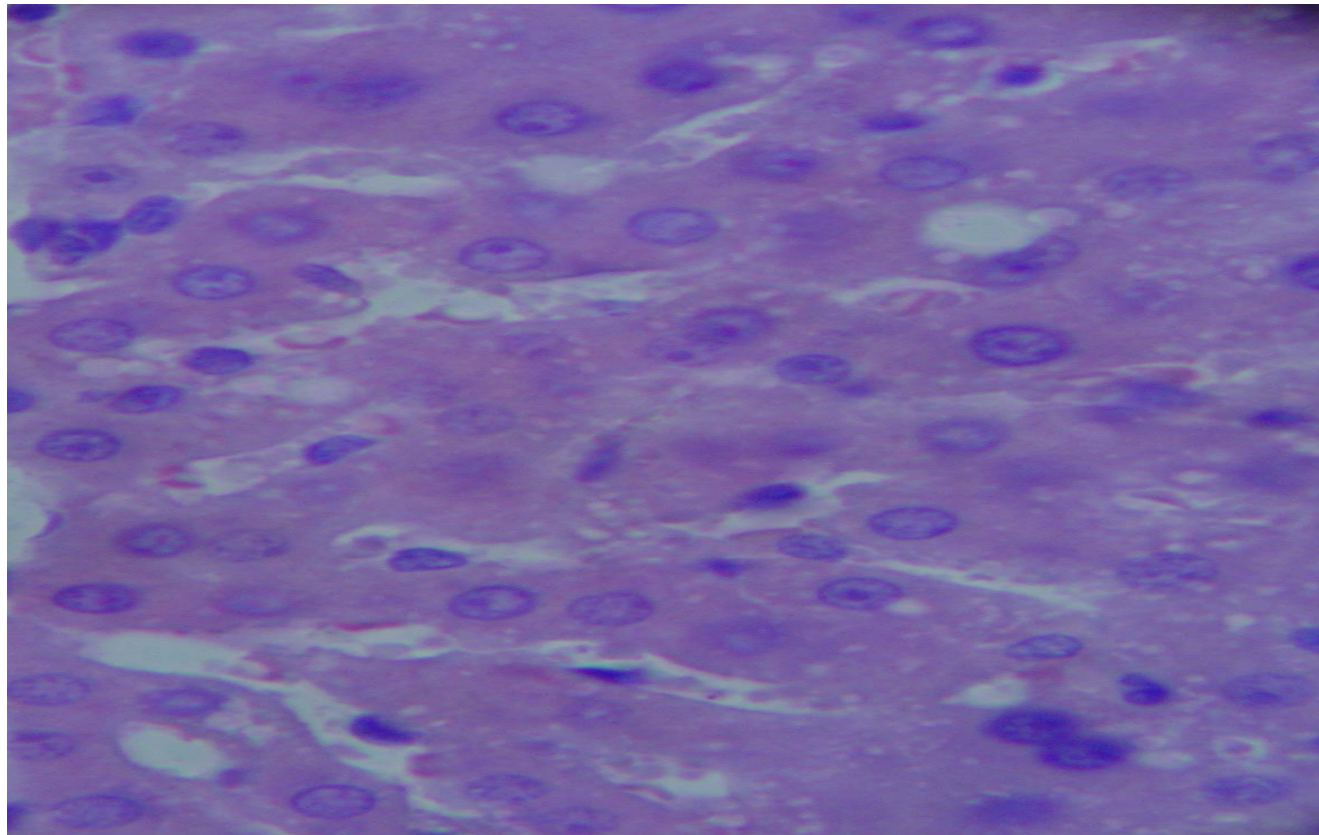


Foto N° 5: *Corte Transversal de Tejido Hepático de Rata (400x).*

Tejido Hepático de Rata alimentada con Aceite de Cocina "Light" (Dieta B).

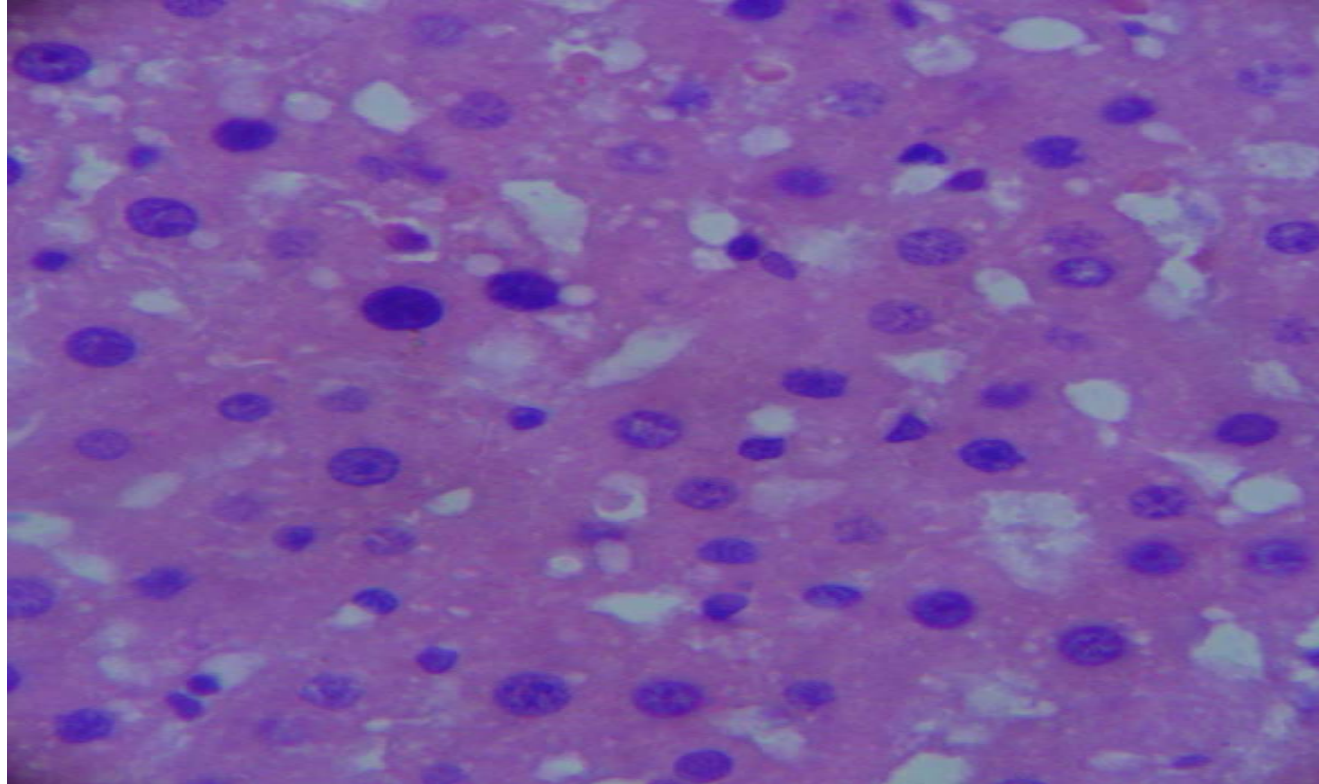


Foto N° 6: *Corte Transversal de Tejido Hepático de Rata (400x).*

Tejido Hepático de Rata alimentada con Margarina "Light" (Dieta C).

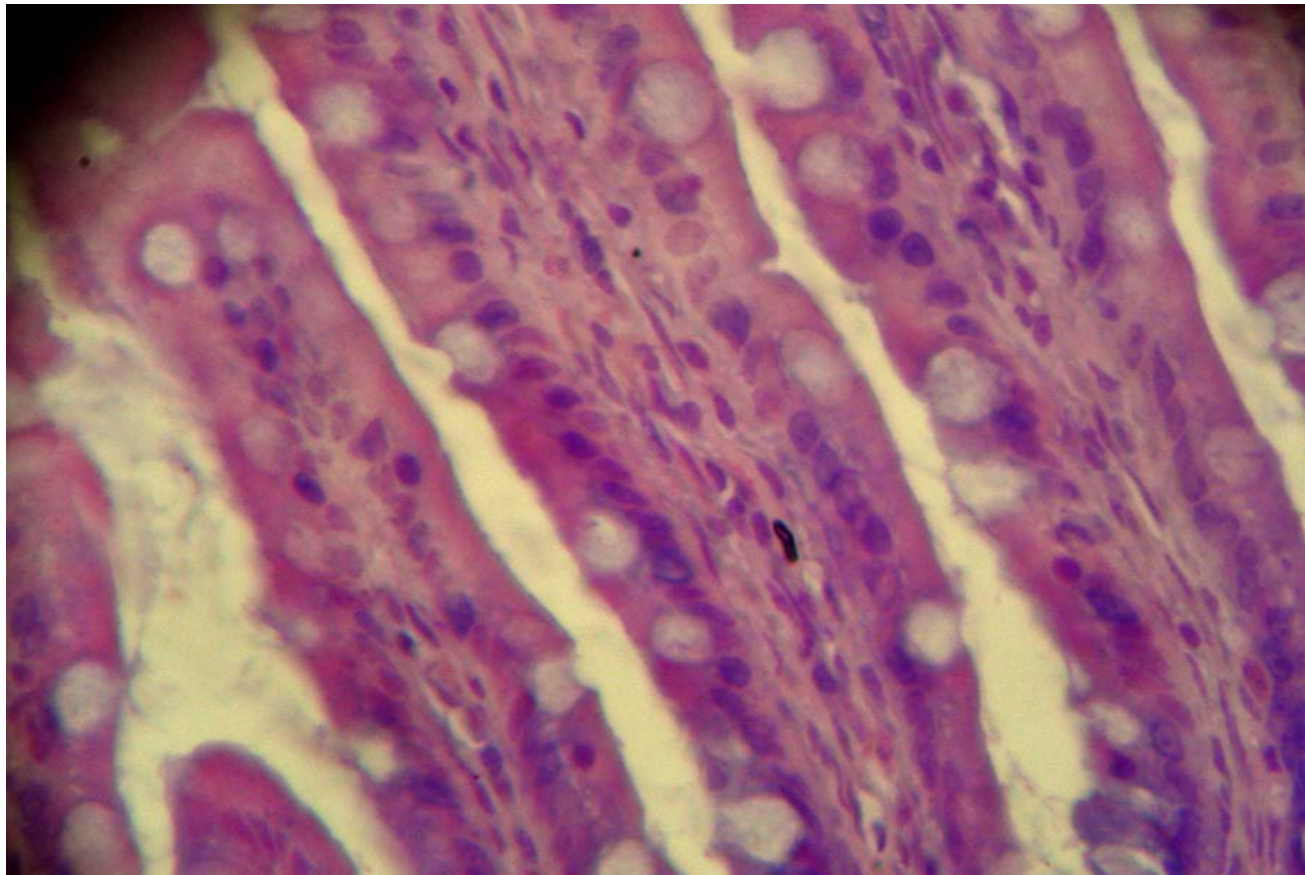


Foto N° 7: Corte Transversal de Tejido Intestinal de Rata (400x).

Tejido Intestinal de Rata alimentada con Aceite de Cocina (Dieta A).

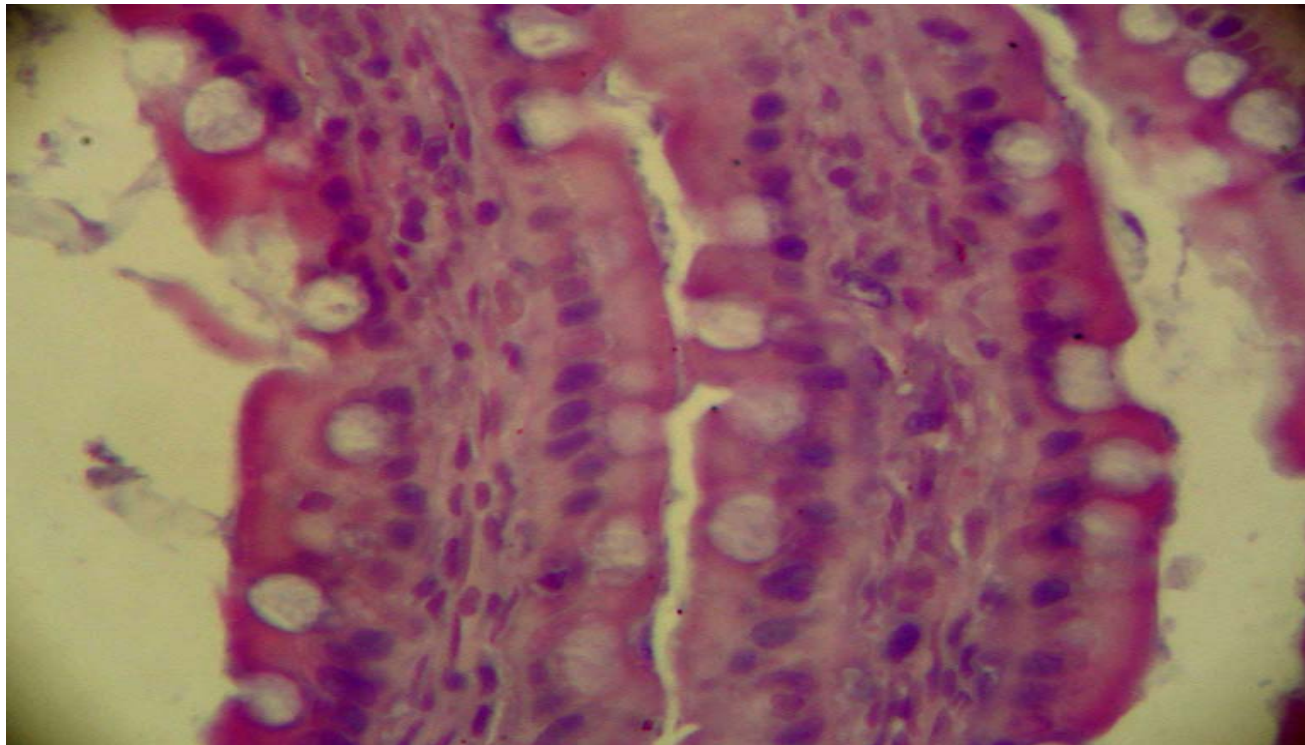


Foto N° 8: Corte Transversal de Tejido Intestinal de Rata (400x).

Tejido Intestinal de Rata alimentada con Aceite de Cocina "Light" (Dieta B).

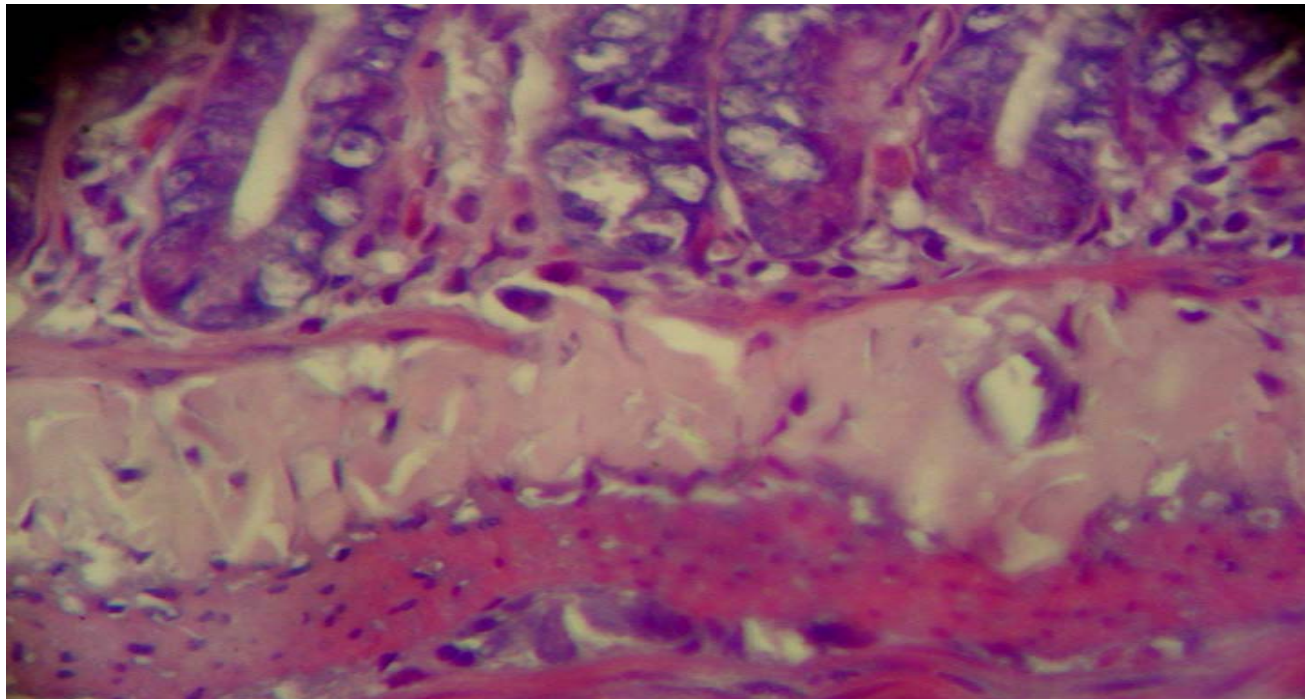


Foto N° 9: *Corte Transversal de Tejido Intestinal de Rata (400x).*

Tejido Intestinal de Rata alimentada con Margarina "Light" (Dieta C).