



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA



TESIS DE GRADO

Previo a la Obtención del Título de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MODALIDAD TRABAJO INVESTIGATIVO

TEMA:

**EFFECTO DE LA HARINA DE CÁSCARA DE MANGO (*Mangifera indica* L)
SOBRE LA OBESIDAD ABDOMINAL, PERFIL LIPÍDICO Y MORFOMETRÍA
DEL EPITELIO INTESTINAL EN RATONES CD1**

AUTORES:

ACOSTA MEZA IRIS CECIBEL
VÉLEZ ECHEVERRÍA GEMA GENITH

Tutor

Dr. Sixto Leonardo Reyna Gallegos, PhD

SANTA ANA, ECUADOR

2019

TEMA:

Efecto de la Harina de Cáscara de Mango (*Mangifera indica L*) sobre la Obesidad abdominal, Perfil lipídico y Morfometría del epitelio intestinal en ratones CD1.

DEDICATORIA 1

Si bien he requerido de mucho esfuerzo y dedicación, no hubiese sido posible sin la colaboración de todas y cada una de las personas que me acompañaron en el recorrido de este trabajo.

A Dios, quien como guía ha estado presente en cada paso de mi vida, bendiciéndome y dándome fuerzas para continuar con mis metas trazadas sin desfallecer, por fortalecer mi corazón y dar luz a mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

El mejor regalo que una persona puede tener, a mis padres y a hermanos por su apoyo incondicional y por su gran ejemplo de vida.

A mis sobrinos que este esfuerzo sirva de ejemplo, el deseo de superación y constancia siempre invada sus corazones.

A Petunia, por acompañarme en noches de desvelo.

Gracias infinitas.

IRIS ACOSTA

DEDICATORIA 2

Mi tesis se lo dedico principalmente a Dios, por ser el inspirador y darme fuerzas para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados, a mis padres Eduardo y Geoconda por todo su amor y su apoyo brindado en este camino, a mis hermanos Emily, Carlos y Roberth, a los 2 grandes amores de mi vida mis sobrinos Dayli y Nayher, al amor de mi vida Luis David por siempre apoyarme, a mi compañera y amiga de tesis Iris Cecibel por siempre apoyarme en todo, y demás personas que formaron parte de este camino.

GEMA VÉLEZ

AGRADECIMIENTO 1

A:

Estaba segura de que por más que lo aplazara, este momento llegaría y disfrutaría sentarme a agradecer a todos, los que de una u otra forma tan especial contribuyeron con este documento, uno de los más preciados que alguna vez elaboré durante mi carrera universitaria.

La dimensión de esta investigación hubiese sido imposible, sin la colaboración de personas que facilitaron las cosas para que este trabajo llegue felizmente a su fin. Por ello, es un placer y un honor utilizar este espacio, expresándoles mis más sinceros agradecimientos.

A Dios por ser mi mayor guía, por brindarme fortaleza, en tiempos de tristeza, él fue el que trabajo para que al fin después de dos años yo pudiera estudiar una carrera, vivo eternamente agradecida con él.

A mis padres Ider y Betty, por permitirme llegar al mundo, los valores que me han inculcado, siguen siendo de provecho, infinitas gracias por la oportunidad de tener una buena educación, gracias a Dios lo he sabido aprovechar.

A mis hermanos Iraida Mariela, Mayra Mabel, Ligia Margarita e Ider Alberto por su apoyo incondicional, en todo el sentido de la palabra son parte importante en mi vida.

A la Facultad de Medicina Veterinaria, por abrirme las puertas, a los docentes que formaron parte de mis estudios universitarios, les agradezco inmensamente por su tiempo, afecto, conocimientos y apoyo hacia mí. Fueron los mejores

A Gema Genith Vélez Echeverría, mi gran amiga de tesis, gracias por la paciencia, es una tarea difícil aguantarme. Tú y yo sabemos lo que nos costó llegar hasta este hermoso peldaño.

Al Dr. Sixto Leonardo Reyna Gallegos, PhD por darme la oportunidad en formar parte de este trabajo, bajo su guía y confianza; no cabe duda que su intervención como tutor ha enriquecido el trabajo planteado. Gracias infinitas por su disponible y rápida respuesta a las diferentes inquietudes germinadas durante el progreso del trabajo, lo cual se ha visto también irradiado en los buenos resultados obtenidos. Le agradezco también el haberme

facilitado los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades correspondientes durante el periodo de tiempo de esta tesis.

Al Dr. Carlos Aníbal Bulnes Goicochea, por su disponibilidad y esplendidez para compartir su amplio conocimiento sobre la parte histológica de las muestras adquiridas en el material estudiado en esta tesis. Su colaboración fue de gran ayuda. ¡Muchas gracias, Dr. Bulnes!

Agradecimiento a la Ing. Katherine Moreira, colaboradora principal en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Veterinarias, por su apreciable ayuda, facilitando las instalaciones y los equipos adecuados para cada una de las tareas establecidas en dicho momento.

Al joven Gregorio Arteaga por su asistencia como coagente en algunas tareas requeridas y en especial en los análisis de laboratorio, vaya que con esos resultados no se hubiera podido finalizar esta investigación.

Quiero recordar también al niño Antonio Reyna, el colaborador más pequeño en el grupo, su ayuda ha sido significativa para que esta tesis alcanzara a buen fin, sigue trabajando con ese gran entusiasmo que te caracteriza.

A todos quienes, y cada uno quien, con sus palabras de aliento y su apoyo incondicional, formaron parte de este bonito trabajo.

Celebra tus propias victorias, porque nadie más entiende realmente, lo que te costó alcanzarlas.

IRIS ACOSTA

AGRADECIMIENTO 2

La vida se encuentra plagada de retos, y uno de ellos es la universidad. Tras verme dentro de ella, me he dado cuenta que más allá de ser un reto, es una base no solo para mi entendimiento del campo en la que me he visto inmerso sino para lo que me concierne a la vida y mi futuro.

Primeramente, le agradezco a Dios por haberme permitido tener tan buena experiencia dentro de la universidad, por permitirme haber llegado hasta acá y darme las fuerzas necesarias para poder salir adelante en esta hermosa carrera.

A mis padres Eduardo Silvino Vélez Cedeño y Geoconda Genith Echeverría Llor que fueron mis mayores promotores durante este proceso, gracias por haberme apoyado en este ciclo de mi vida y por ser ese motor principal en todo y cada uno de mis objetivos.

A mis hermanos ya que de manera directa o indirecta fueron partícipes de este proceso, los amo infinitamente.

A mi esposo Luis David por el amor recibido, la dedicación y la paciencia con la que cada día se preocupaba por mi avance y desarrollo de mi tesis, gracias por ser mi mayor apoyo en este gran proceso y no dejarme decaer.

Le agradezco a los doctores que hicieron parte de que este proceso se haya podido cumplir, a mi tutor al Dr. Sixto Leonardo Reyna Gallegos, PhD y al Dr. Carlos Aníbal Bulnes Goicochea, por ayudarme con sus conocimientos e investigaciones aportadas y por haberme permitido ser parte de este proceso.

A mi compañera y amiga de tesis Iris Cecibel Acosta Meza por la amistad y el apoyo que me ha brindado desde el primer día que iniciamos esta carrera, aun así, con altos y bajos supimos mantenernos siempre juntas, gracias amiga!

Gracias a la vida por este nuevo triunfo, gracias a demás personas que me apoyaron en este camino, gracias a todos por cada una de sus sabias palabras.

Y a todas esas personas que fueron parte de este proceso, muchas gracias.

GEMA VÉLEZ

DECLARACIÓN SOBRE LOS DERECHOS DEL AUTOR
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

Nosotras, **Acosta Meza Iris Cecibel y Vélez Echeverría Gema Genith**; nos declaramos totalmente responsables de los resultados obtenidos en el presente proyecto de tesis de graduación “**Efecto de la Harina de Cáscara de Mango (*Mangifera indica L*) sobre la Obesidad Abdominal, Perfil Lipídico y Morfometría del Epitelio Intestinal en Ratones CD1**”. Así como cada una de las ideas, conclusiones y recomendaciones, en el presente trabajo modalidad investigativo, son propiedad de los autores antes mencionados.

Acosta Meza Iris Cecibel

C.I: 1312698317

Vélez Echeverría Gema Genith

C.I. 1350493167

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR DE TESIS

Medicina Veterinaria

Dr. Sixto Leonardo Reyna Gallegos PhD

CERTIFICO

En calidad de director de tesis de grado, modalidad de trabajo investigativo. Titulado **“Efecto de la Harina de Cáscara de Mango (*Mangifera indica L*) sobre la Obesidad Abdominal, Perfil Lipídico y Morfometría del Epitelio Intestinal en Ratones CD1”**. Certifico que este trabajo es original de las egresadas Acosta Meza Iris Cecibel y Vélez Echeverría Gema Genith, y a su vez se realizaron todas las sugerencias y correcciones emitidas por el respectivo tribunal de Revisión y Evaluación, el cual fue realizado bajo mi dirección.

Dr. Sixto Leonardo Reyna Gallegos, PhD.

Tutor del trabajo de Titulación

**CERTIFICACIÓN DE LA COMISIÓN DE REVISIÓN Y
EVALUACIÓN**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

TEMA:

“Efecto de la Harina de Cáscara de Mango (*Mangifera indica L*) sobre la Obesidad Abdominal, Perfil Lipídico y Morfometría del Epitelio Intestinal en Ratones CD1”

TESIS DE GRADO

Sometida a consideración del tribunal de Revisión y Sustentación legalizada por el Honorable Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del título de **MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

APROBADO POR EL TRIBUNAL

Dr. Edis Macías Rodríguez, PhD.

DECANO FCV

Dr. Sixto Reyna Gallegos, PhD.

TUTOR DE TESIS

Dr. José Guerrero Casado, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Juan Cristóbal Pauta Lavanda, M. Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Rodolfo Pedroso Sosa, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

SIGLAS Y ABREVIATURAS

C= Control.

HG=Hipergrasa.

DM2= Diabetes mellitus tipo 2.

TAB: Tejido adiposo blanco.

DF= Fibra dietética.

CAOX= Capacidad antioxidante.

AAP= Anti proliferativa.

CF= Compuestos fenólicos.

HCM= Harina de cáscara de mango.

SM= Síndrome metabólico.

ECNT= Enfermedades crónicas no transmisibles.

SDF= Fibra dietética soluble.

IDF= Fibra dietética insoluble.

AV=Altura de las vellosidades.

PC=Profundidad de la cripta.

LV=Ancho de vellosidades.

C=Cripta.

TG= Triglicéridos.

AG= Ácidos grasos.

ACRONYMS AND ABBREVIATIONS

C = Control

HG = Hyper fat.

DM2 = Type 2 diabetes mellitus.

TAB: White adipose tissue.

DF = Dietary fiber.

CAOX = Antioxidant capacity.

AAP = Anti proliferative.

CF = Phenolic compounds.

HCM = Mango peel flour.

SM = Metabolic syndrome.

ECNT = Chronic non-communicable diseases.

SDF = soluble dietary fiber.

IDF = Insoluble dietary fiber.

AV = Villus height.

PC = Depth of the crypt.

LV = Villus width.

C = Crypt.

TG = Triglycerides.

AG = Fatty acids.

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	15
ABSTRACT	16
I. INTRODUCCIÓN.	17
II. ANTECEDENTES.	18
III. JUSTIFICACIÓN.	19
IV. OBJETIVOS.	20
IV.1. Objetivo General.	20
IV.2. Objetivos Específicos.	20
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	21
VI. HIPÓTESIS.	22
VII. MARCO REFERENCIAL	23
VII.1 Ratones albinos (<i>Mus musculus</i>)	23
VII.1.1 Características de los ratones	23
VII.2 El mango, <i>Mangifera indica</i> L.	23
VII.2.1 Harina de cáscara de mango	24
VII.2.2 Polifenoles y mangiferina.	24
VII.2.3 Fibra dietética	24
VII.3 Obesidad	25
VII.4. Histomorfometría	26
VII.5. Hígado graso	26
VII.5.1. Esteatosis	26
VII.5.1.1. Índice de actividad histológica de la esteatosis	27
VIII. METODOLOGIA	28
VIII.1. Métodos a utilizar	28
VIII.2. Tratamientos	31
VIII.3. Valoración post mortem	31
VIII.3.1. Análisis de laboratorio	32
VIII.4. Morfometría del intestino delgado e histología de hígado	32
VIII.5. Análisis estadístico	32
VIII.6. Materiales, Equipos, Insumos y Reactivos	34
IX. RESULTADOS	36
IX.1. Cuadro 2. Peso semanal por tratamientos (gramos)	37

IX.2. Cuadro 3. Consumo semanal de alimento (gramos).....	38
IX.3. Cuadro 4. Consumo energético (en Kcal).....	39
IX.4. Datos <i>post mortem</i>	40
IX.5. Perfil lipídico	41
IX.6. Análisis histopatológico.....	42
X. DISCUSION.....	44
XI. CONCLUSIONES.....	49
XII. RECOMENDACIONES	50
XIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	51
XIV. PRESUPUESTO	52
XV. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	53
XVI. ANEXOS.	62

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición del alimento para ratones.....	Pag.30
Cuadro 2. Peso semanal por tratamientos (gramos).....	Pag.37
Cuadro 3. Consumo semanal de alimento (gramos).....	Pag.38
Cuadro 4. Consumo energético (Kcal).....	Pag.39
Cuadro 5. Peso relativo de órganos y grasa abdominal.....	Pag.40
Cuadro 6. Bioquímica sanguínea.....	Pag.41
Cuadro 7. Morfometría del epitelio intestinal.....	Pag.42
Cuadro 8. Histología de hígado.....	Pag.42

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Tratamiento 1.....	Pag.43
Fig. 2. Tratamiento 2.....	Pag.43
Fig. .3. Tratamiento 3.....	Pag.43
Fig. .4. Tratamiento 4.....	Pag.43

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto HCM (harina de cáscara de mango, *Mangifera indica* L) sobre la obesidad abdominal, perfil lipídico y morfometría del epitelio intestinal. El experimento se realizó en los Laboratorios Agropecuarios de la Universidad Técnica de Manabí en 28 ratones macho CD1, de 25 a 30 gr de peso. Los ratones fueron distribuidos aleatoriamente y recibieron la alimentación correspondiente a los siguientes tratamientos Dietas convencional (T1), convencional + 4% HCM (T2), hipergrasa (T3) y dieta hipergrasa + 4% HCM (T4) durante 16 semanas consecutivas. Culminado el periodo experimental los ratones se sacrificaron previo ayuno nocturno, con una inyección intraperitoneal (IP) de una mezcla de xilazine (25 mg/Kg) y ketamina (150 mg/Kg), las muestras de sangre se obtuvieron mediante exanguinación (1 a 1,5 ml), que se utilizó para el análisis del perfil lipídico y glucemia mediante espectrofotometría. Se extrajo la grasa abdominal, hígado y corazón de cada unidad experimental y se calculó el peso relativo de estos órganos. Adicionalmente, se tomaron muestras de yeyuno y duodeno, estas muestras se conservaron en formol al 10% tinción general de hematoxilina y eosina en cortes de parafina. Los resultados se analizaron mediante el Análisis de Varianza (ANOVA), Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 2x2 y la prueba de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$). Los resultados obtenidos fueron: mayor consumo de alimento en T1, mientras la mayor ingesta calórica, deposición de grasa abdominal y peso final se observó en los tratamientos que recibieron una dieta hipergrasa ($p < 0,05$). El peso relativo del hígado no fue diferente entre tratamientos ($p > 0,05$), mientras el peso relativo del corazón fue menor en T3 en relación a los tratamientos restantes ($p < 0,05$). Adicionalmente, la concentración sérica de glucosa, colesterol total, triacilglicerol, LDL y el índice HDL/LDL no fue diferente entre tratamientos ($p > 0,05$). Sin embargo, se reportó mayor concentración de HDL en T4 ($p < 0,05$); la relación CT/HDL (índice ateroesclerótico) tendió a ser menor (0,072) en las dietas suplementadas con HCM (T2 y T4). No se observó modificación en la morfometría intestinal (largo, ancho y profundidad de las criptas). En conclusión, estos resultados sugieren que la HCM podría incidir en el perfil lipídico de los ratones, sin modificar parámetros somáticos.

Palabras claves: Grasa abdominal, harina de cáscara de mango, obesidad, polifenoles, ratones CD1.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the HCM effect (mango peel flour, *Mangifera indica* L) on abdominal obesity, lipid profile and morphometry of the intestinal epithelium. The experiment was carried out in the Agricultural Laboratories of the Technical University of Manabí in 28 male CD1 mice, weighing 25 to 30 grams. The mice were randomly distributed and received the food corresponding to the following treatments Conventional (T1), conventional + 4% HCM (T2), hyper fat (T3) and hyper fat + 4% HCM (T4) diets for 16 consecutive weeks. After the experimental period, the mice were previously sacrificed overnight fasting, with an intraperitoneal (IP) injection of a mixture of xylazine (25 mg / Kg) and ketamine (150 mg / Kg), blood samples were obtained by exanguination (1 to 1.5 ml), which are used for the analysis of the lipid profile and blood glucose by spectrophotometry. Abdominal fat, liver and heart were extracted from each experimental unit and the relative weight of these organs was calculated. In addition, jejunum and duodenal samples will be taken, these samples were preserved in 10% formalin of general staining of hematoxylin and eosin in paraffin sections. The results were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA), Completely Random Design (DCA) with 2x2 factorial arrangement and the Tukey mean comparison test ($p < 0.05$). The results obtained were: higher food consumption in T1, while the highest caloric intake, abdominal fat deposition and final weight were detected in the treatments that received a hyper fat diet ($p < 0.05$). The relative weight of the liver is not different between treatments ($p > 0.05$), while the relative weight of the heart is lower in T3 in relation to the remaining treatments ($p < 0.05$). In addition, the serum concentration of glucose, total cholesterol, triacylglycerol, LDL and the HDL / LDL index was not different between treatments ($p > 0.05$). Additionally, the serum concentration of glucose, total cholesterol, triacylglycerol, LDL and the HDL / LDL index was not different between treatments ($p > 0.05$). However, a higher concentration of HDL in T4 ($p < 0.05$) was reported; the CT / HDL ratio (atherosclerotic index) tended to be lower (0.072) in diets supplemented with HCM (T2 and T4). Modification in intestinal morphometry (length, width and depth of crypts) is not modified. In conclusion, these results suggest that HCM could influence the lipid profile of mice, without modifying somatic parameters.

Keywords: Abdominal fat, mango peel flour, obesity, polyphenols, CD1 mice.

I. INTRODUCCIÓN.

La obesidad, definida como una acumulación anormal o excesiva de grasa en los tejidos adiposos, se ha convertido en un problema de salud pública en países desarrollados y en desarrollo (Asyifah *et al.*, 2014), al asociarse con enfermedades metabólicas como dislipidemias: altos niveles de triacilgliceroles, y de lipoproteínas de baja densidad (LDLc), bajos niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDLc), resistencia a la insulina, hipertensión y obesidad abdominal (Kaur, 2014). Estas enfermedades conforman el Síndrome Metabólico (SM), incrementando el riesgo de padecer diabetes y enfermedades cardiovasculares (AMPERC, 2007), que junto a otras enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) causan aproximadamente el 71% de las muertes a nivel global, el 85% de ellas, prematuras (entre los 30 y 69 años) en países de ingresos medios o bajos (WHO, 2018).

La inclusión dietaria de frutas y verduras se relaciona con reducción del riesgo de las ECNT (Serna *et al.*, 2014). En este contexto, los subproductos del mango presentan efectos, antiinflamatorios, antiobesidad, hipoglucemiantes, antidiabetes, antibacteriano y antihipercolesterolémicos (Wall *et al.*, 2014). Así, la cáscara del mango es fuente de bioactivos como carotenoides, vitaminas C y E, fibra dietética enzimas y polifenoles (Gutierrez, 2017) como mangiferina, y quercetina, (Burton *et al.*, 2017), que al interactuar con el metabolismo de carbohidratos y lípidos contribuyen a la prevención de desórdenes metabólicos y procesos inflamatorios relacionados con la obesidad (Burton *et al.*, 2017).

Por otra parte, la absorción de nutrientes en el organismo que ocurre principalmente en el intestino delgado (García , 2007), se correlaciona con su superficie de área, determinada por las vellosidades intestinales (Megias, 2019). Se ha observado resultados inconsistentes respecto a la acción de los polifenoles sobre la morfología de vellosidad intestinal en aves y cerdos, variando en función de la sección de tracto intestinal evaluada y del alimento suministrado como fuente de polifenoles: orujo de manzana, orujo de uva o concentrados del orujo de uva y residuos de lúpulo (Vivero *et al.*, 2011). Ya que existe escasa información al respecto, el presente estudio pretende evaluar el efecto de la harina de cáscara de mango (*Mangifera Indica L*) sobre la obesidad abdominal, parámetros bioquímicos y morfometría de vellosidades intestinales en ratones CD1.

II. ANTECEDENTES.

Los principales bioactivos de la cáscara de mango son polifenoles como mangiferina, quercetina y kaempferol, la concentración de polifenoles es 5 y 10 veces superior a la reportada en la pulpa y semillas, respectivamente. La cáscara de mango también es rica en isoprenoides, α -tocoferol, luteína, mangiferina, antocianinas y vitaminas E y C. Mientras el contenido de fibras fluctúa entre 40,6% a 72,5% (Ruales *et al*, 2018) las cáscaras de diferentes variedades de mango contienen pectina de alta calidad (Sumaya *et al.*, 2012), contribuyendo a la prevención y el tratamiento de trastornos metabólicos (Devalaraja *et al*, 2010)

Se ha informado que la suplementación con jugo de mango redujo la ganancia de peso, el índice de masa corporal, grasa visceral, colesterol total, LDLc y niveles de glicemia en ratones alimentados con una dieta rica en grasas, en comparación de aquellas inducidas a obesidad y que no recibieron dicha suplementación (Natal, 2016). Se ha evidenciado que la mangiferina (MGF) mejora las anomalías y trastornos metabólicos en modelos animales y humanos (Vladimora, 2016) y que los polifenoles de mango (árbol, hojas y diversas partes de la fruta tienen efecto anti adipogénico (Ramirez *et al*, 2017), reducen la inflamación intestinal (Talcott *et al*, 2018). También se ha informado de la acción antidiabética y antihiperlipidémica de mangiferina en ratas diabéticas (Muruganandan *et al*, 2005).

Por otra parte, se ha obtenido que productos derivados de uva, rico en polifenoles incrementan la relación altura de vellosidades: profundidad de criptas en el yeyuno de pollos parrilleros (Viveros *et al*, 2011). En contraste, se ha informado que el orujo de uvas tiene un efecto inhibitor sobre el crecimiento de las vellosidades intestinales en cerdos destetados (Sehm *et al*, 2007), mientras Fiesel *et al* (2014) no halló influencia del extracto de uvas sobre la relación altura de vellosidades: profundidad de criptas en el duodeno o yeyuno de cerdos. Así mismo Bernuy *et al* (2018) reportan similitud en la histomorfometría de las vellosidades intestinales de ratas suplementadas con quinua, como fuente de polifenoles, y el tratamiento control.

III. JUSTIFICACIÓN.

La presente investigación procura valorar la inclusión dietaria de harina de cáscara de mango (*Mangifera indica L*) sobre la deposición de grasa abdominal, perfil lipídico y glicemia en ratones, puesto que la alteración de estos indicadores se asocia con elevadas tasas de morbilidad y mortalidad en la población.

La búsqueda de encontrar un medio alternativo que genere productos que puedan utilizarse para combatir problemas metabólicos, usando fuentes naturales es trascendental, uno de ellos es la cáscara de mango, con alta bioactividad y posiblemente con menor tendencia a inducir efectos secundarios perjudiciales, con la finalidad de reducir costos y mejorar la salud animal.

Adicionalmente, un probable efecto de los bioactivos presente en el mango sobre la histomorfometría de las vellosidades intestinales se relaciona con una restauración de este en menor tiempo y contribuiría a mejorar la digestibilidad de nutrientes.

Estos aspectos son importantes en países como Ecuador, cuya población aún atraviesa una etapa de transición nutricional, observándose cuadros de desnutrición asociada con una pobre absorción de nutrientes. Simultáneamente la población manifiesta al menos parcialmente como resultado de los hábitos dietarios, enfermedades como obesidad, diabetes y eventos cardiovasculares, que tradicionalmente se atribuyeron a sociedades de altos ingresos económicos.

Ya que la información respecto a los efectos de harina de cáscara de mango sobre el metabolismo lipídico, glucídico y la histomorfometría intestinal es muy escasa, los resultados en este estudio podrían al menos parcialmente, contribuir a la salud de la población.

IV. OBJETIVOS.

IV.1. Objetivo General.

Evaluar el efecto de la harina de cáscara de mango (*Mangifera Indica L*) sobre la obesidad abdominal, parámetros bioquímicos e histomorfometría del epitelio intestinal en ratones CD1 alimentados con dietas hiperlipídicas.

IV.2. Objetivos Específicos.

- Determinar la influencia de la harina de cáscara de mango, sobre el índice de grasa abdominal en ratones alimentados con raciones hiperlipídicas.
- Valorar el perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total, LDLc, HDLc) y concentración de glucosa en ratones alimentados con raciones hiperlipídicas y suplementados con harina de cáscara de mango.
- Evaluar la histomorfometría de las vellosidades intestinales en ratones tras el suministro de raciones hiperlipídicas y la suplementación con harina de cáscara de mango.

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La cáscara de mango es un subproducto importante y poco aprovechado, constituye el 15 al 18% del peso total de la fruta; un porcentaje mínimo se utiliza para la fabricación de concentrados, mientras que la mayor parte termina siendo una fuente de contaminación ambiental, a pesar de sus múltiples efectos biológicos de importancia para la salud humana y animal. Una de las principales causas de muerte a nivel mundial es la obesidad, debido al aumento en la ingesta de alimentos con altos contenidos de grasas, lo que se asocia con enfermedades como dislipidemias, hígado graso, diabetes y enfermedades cardiovasculares; que determinan altas tasas de morbilidad y mortalidad en la población. Por ello el consumo de frutas y verduras como el mango, fuente de polifenoles, fibra dietética y otros compuestos bioactivos, contribuirían a un posible efecto sobre la morfometría del epitelio intestinal, prevención de desórdenes metabólicos y procesos inflamatorios relacionados con la obesidad. Con estos antecedentes, se ha planteado suplementar una dieta con cáscara de mango en ratones alimentados con una dieta hipergrasa, con la finalidad de evaluar el volumen de grasa abdominal, perfil lipídico, glicemia y morfometría de las vellosidades intestinales.

VI. HIPÓTESIS.

La suplementación con harina de cáscara de mango ejerce un efecto anti adipogénico y anti aterosclerótico en ratones alimentados con una dieta hipergrasa, y favorece el desarrollo de la vellosidad intestinal.

VII. MARCO REFERENCIAL

VII.1 Ratones albinos (*Mus musculus*)

Son individuos manejado con frecuencia en diversas investigaciones, ya que se reproducen con facilidad, tiene un tiempo de fecundación corta, y dispone de razas puras (Navarro, 2005). Dentro de las ventajas de su uso como animales de laboratorio; se ha destacado su fácil cuidado y mantenimiento, eficiencia reproductiva y características específicas (Fuentes *et al*, 2008), que sirven como herramienta en el estudio del efecto de dietas hipergrasas y por ende el desarrollo de la obesidad (Wang *et al*, 2012). Por otra parte, la dificultad para recoger muestras sanguíneas abundantes y para la disección de los vasos de mediano y pequeño volumen han sido catalogadas como principales desventajas, en el uso como animales de laboratorio (Navarro, 2005).

VII.1.1 Características de los ratones

Los ratones se aturden por sonidos de muy alta frecuencia, por lo que es importante tener cuidado con el instrumental a utilizar (Cedeño, 2013). Por su tamaño son susceptibles a cambios ambientales, aspectos que son rigurosamente controlados para favorecer su manejo (Pallares, 2009), la alimentación está basada en una mezcla de nutrientes, determinados según el estado fisiológico del animal, principalmente durante el periodo de oscuridad. (Rivera, 2015). Su metabolismo lipoproteico se asemeja a la rata, (Navarro, 2005). Los valores de perfil lipídico y niveles de glucosa son primordiales para el desarrollo de numerosas líneas de investigación, especialmente estudios de obesidad, diabetes, dificultades nutricionales y otras enfermedades ligados a cambios metabólicos (Fuentes *et al*, 2008). Dentro de los valores referenciales del perfil bioquímico, del género antes mencionado, expresados en mg/dL se encuentran : Glucosa 146.55 mg/dl (± 34.12), triglicéridos (TG) 11.80 mg/dl (± 33.13), Colesterol Total 64.69 mg/dl (± 14.76), HDL 29.61mg/dl (± 9.47) y LDL 25.48 mg/dl (± 6.35) (Fuentes *et al*, 2008).

VII.2 El mango, *Mangifera indica* L.

Es una de las frutas tropicales que se destaca por su sabor y aroma (Ramirez *et al*, 2017), aporta sustancias con alta capacidad antioxidante (CAOX) y actividad antiproliferativa (AAP) (Wall *et al*, 2014).

Uno de los compuestos que pueden dar un valor adicional a este fruto son los antioxidantes naturales, considerablemente distribuidos en los alimentos vegetales frescos y subproductos como la cáscara de mango (Maldonado *et al*, 2016).

Dentro de los componentes que hacen del mango una fruta sabrosa se encuentran carbohidratos, ácidos orgánicos, fibra dietética, y vitaminas C, junto con otras vitaminas y minerales (Burton *et al*, 2017). El aprovechamiento industrial del mango se ha basado comúnmente en la obtención de la pulpa; su parte comestible representa un 33% a un 85% aproximadamente de la fruta fresca, mientras que la cáscara y la semilla figuran un 7% a 24% y de 9% a 40%, respectivamente (Barreto *et al*, 2017). La cáscara es una excelente fuente de fibra dietética y de compuestos fenólicos (Devalaraja *et al*, 2010).

VII.2.1 Harina de cáscara de mango

Desde el punto de vista nutricional, la harina de cáscara de mango es rico en fibra dietética suscitando un equilibrio entre fibra dietética soluble (FDS) 14,3% y fibra dietética insoluble (IDF) 13,8%. El contenido de polifenoles solubles en la harina de mango, es de 1mg /dL y pareciera estar absorbidos en el tracto digestivo, produciendo efectos sistémicos (Bello *et al*, 2011).

VII.2.2 Polifenoles y mangiferina

En función a su contenido los polifenoles pertenecen al grupo más grande de fitoquímicos de los vegetales (Young *et al*, 2011), son compuestos naturales derivados del metabolismo secundario de las plantas, siendo específicos a determinados productos. La mangiferina es un polifenol natural, que se puede encontrar en muchas especies de plantas, incluidas en el árbol de mango (*Mangifera indica*) (Matkowski *et al*, 2013), entre sus efectos se menciona el incremento a la utilización de glucosa por parte de células 3T3-L1 (Asyifah *et al*, 2014), mejora las anomalías y trastornos metabólicos en modelos animales y humanos (Vladimora, 2016). En tanto que un conjunto de polifenoles asistentes en las hojas, inhibe la biosíntesis de triglicéridos in vitro (Asyifah *et al*, 2014), tiene efecto anti adipogénico (Ramirez *et al*, 2017) y reducen la inflamación intestinal (Talcott *et al*, 2018).

VII.2.3 Fibra dietética

El contenido de fibras del mango fluctúa entre 40,6% a 72,5% (Ruales *et al*, 2018). Se clasifica en dos fracciones; la soluble y la insoluble, la primera es fermentada en el colon, puede formar geles viscosos en el tracto intestinal promoviendo la disminución del colesterol y glucosa en sangre (Cruz *et al*, 2015), mientras que la segunda aumenta el volumen de las heces., promoviendo efectos fisiológicos benéficos para la salud hipoglucemiante, hipocolesterolemia e hipotrigliceridemia. Del total de fibra ingerida en

la dieta, aproximadamente el 20 % es soluble mientras que el porcentaje restante pertenece a la fibra insoluble (Fernandez , 2010)

VII.3 Obesidad

Está asociada a dislipidemias, estrés oxidativo, inflamación y alteración en la expresión de los genes (Ambulay, 2015). Es el desequilibrio prolongado entre el consumo y el gasto de energía. Roedores de algunas especies, manifiestan un elevado aporte de grasa corporal como respuesta a dietas hipergrasas (Speakman *et al*, 2008). Básicamente, el excesivo acúmulo de grasa en hígado puede ser consecuencia del aumento de la síntesis grasa o reducción de su salida en forma de VLDL (lipoproteína de muy baja densidad) (Ayala *et al*, 2008).

Animales alimentados con dietas que difieren en el tipo de grasa, manifiestan diversos efectos sobre el perfil lipídico (Poveda *et al*, 2005). Entre ellos el aumento en la concentración de los niveles de triglicéridos, disminución en los niveles de las lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) y valores levemente elevados de las lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) (Moliné *et al*, 2014)

La glucosa es uno de los principales parámetros del estado metabólico en los mamíferos (Figueroa *et al*, 2016). Las HDL-c en cambio, constituyen una de las importantes familias de lipoproteínas asistentes en el plasma sanguíneo. (Ribas, 2015), así altos niveles de HDL-c, (High Density Lipoprotein), lipoproteínas de alta densidad, han sido considerado como factor ateroprotector y de mejor pronóstico frente a la presencia de enfermedades arterioesclerótica y cardiovascular (Mendoza *et al*, 2016), mientras que bajos niveles de c-HDL representan un elemento de riesgo (Ribas, 2015).

Por otra parte, el colesterol desempeña funciones estructurales y metabólicas. Presente en el organismo, se obtiene especialmente de dos fuentes (Maldonado *et al*, 2012); de la dieta (colesterol exógeno), los lípidos son trasladados desde el intestino hasta el hígado y hacia otros tejidos, en el cual aproximadamente del 95% al 98% son triglicéridos y el porcentaje restante son fosfolípidos y colesterol; mientras que en la síntesis endógena (colesterol endógeno) los lípidos que son sintetizados en el hígado, son transportados hasta los tejidos. (Solorzano, 2018).

Desde el punto de vista fisiológico se ha considerado al hígado y al intestino, como órganos trascendentales en la homeostasis del colesterol, siendo el hígado el principal. Estudios han evidenciado que la secreción directa de colesterol desde la sangre al

intestino, juegan un papel importante en la eliminación a través de las heces (Cofan, 2014) ejerce efectos reguladores importantes, como inhibición de la síntesis de colesterol y expresión de receptores para las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Ros, 2006).

En estudios experimentales con animales de forma convencional, se utiliza a los de sexo macho, ya que la conducta a ciertos parámetros a lo largo del tiempo, tiene menos fluctuaciones debido a que estos no presentan estados fisiológicos como el ciclo estral, gestación y la lactancia, en los que diversos cambios hormonales provocarían ajustes en el metabolismo (Figuerola *et al*, 2016).

VII.4. Histomorfometría

La función principal del intestino es lograr una adecuada incorporación de nutrientes al organismo, llevándose a cabo a través de procesos de digestión y absorción (García *et al*, 2007). Los enterocitos son las células responsables de este proceso, gracias a la especialización de las vellosidades intestinales (Megias *et al*, 2019). El estudio morfométrico de cada segmento comprende la altura de las vellosidades, la profundidad de las criptas, y el grosor del epitelio (Martínez *et al*, 2012)

VII.5. Hígado graso

Los ácidos grasos libres circulantes, proceden principalmente de la lipólisis del tejido adiposo y son el primordial sustrato de combustible para todos los tejidos, a excepción del cerebro. Sin embargo, en humanos representa la principal fuente de grasa hepática y están implicados en la patogenia de diferentes trastornos metabólicos asociados con la resistencia a la insulina (Petta *et al*, 2016).

VII.5.1. Esteatosis

Es la acumulación anormal de grasa, en el citoplasma de células parenquimatosas como en los hepatocitos (Fernández, 2015), en forma de vacuolas lipídicas de tipo microvesicular o macrovesicular (Buqué *et al*, 2008). Se asocia con un estado de resistencia a la insulina y obesidad y por ello ligado, como factor de riesgo, al síndrome metabólico (Gil *et al*, 2017). Los lípidos almacenados en el TAB que fluyen al hígado como AGL, los sintetizados en el hígado mediante la lipogénesis *de novo* y los AG procedentes de la dieta, son las fuentes lipídicas que, en condiciones fisiológicas, contribuyen a formar la grasa hepática en un individuo sano (López *et al*, 2013). En los hepatocitos, estas grasas se esterifican a triglicéridos, liberados a la sangre como partículas VLDL. Por lo tanto, el aumento de ácidos grasos que alcanza el hígado por la

vena porta, el incremento de la lipogénesis *de novo* o la secreción de triglicéridos en forma de VLDL son la base de la aparición de esteatosis hepática (Gil *et al*, 2017).

VII.5.1.1. Índice de actividad histológica de la esteatosis

La extensión de la esteatosis se evalúa semicuantitativamente, diferenciándolo del siguiente modo:

- Grado 0 o sin esteatosis, < 5% con ausencia de inflamación.
- Grado 1 o esteatosis leve cuando el porcentaje de macrovesículas de grasa es < 33% y presentan inflamación portal leve.
- Grado 2 o esteatosis moderada, del 33 al 66%, se ostentan inflamación portal leve a moderada
- Grado 3 o esteatosis intensa cuando ocupa > 66%. del lobulillo hepático, se muestra inflamación lobular y portal mayor al grado 2 (Carrillo *et al*, 2011)

VIII. METODOLOGIA

VIII.1. Métodos a utilizar

Tipo de estudio

En el estudio experimental, se evaluó la inclusión de harina de cáscara de mango con dosis del 4% de HCM sobre parámetro lipídicos (perfil lipídico sanguíneo), grasa abdominal) y morfometría del epitelio intestinal en ratones CD1.

Ubicación.

Se desarrolló en las instalaciones de los Laboratorios Agropecuarios de la Universidad Técnica de Manabí, dependencias ubicadas en el Km 14, Vía Santa Ana, parroquia Lodana, Manabí.

El experimento constó de las siguientes etapas:

1. Adaptación de los animales experimentales y evaluación semanal de peso y residuos del alimento.
2. Sacrificio y manejo de muestras de tejido adiposo abdominal, y porciones del intestino delgado (duodeno, yeyuno).
3. Análisis de laboratorio (perfil lipídico y análisis histopatológico)

Duración del trabajo.

La investigación tuvo una duración de 28 semanas distribuidos de la siguiente forma:

Etapas del proyecto	Semanas
Adquisición de materiales, equipos e insumos	2
Adaptación de los animales experimentales	1
Trabajo experimental	16
Estudio de laboratorio	2
Tabulación de datos	2
Redacción del informe final	4
Sustentación de Tesis	1
Total semanas	28

Condiciones Ambientales

Los parámetros ambientales fueron monitoreados utilizando un termohigrómetro (marca ACURITE, modelo 020875B). La temperatura del laboratorio se mantuvo entre los 23 a 26 ° C y la humedad relativa entre 72 -90 %.

Equipamientos Utilizados.

Los ratones se alojaron en jaulas metálicas, con una dimensión de 21 x 17 x 30 centímetros. Así mismo se utilizaron dos balanzas digitales de 5kg±1.0g, marca CAMRY modelo EK5055 en la elaboración de las dietas experimentales según cada tratamiento, en tanto que el pesaje de los ratones, grasa abdominal, gonadal y peri renal; corazón, riñones e hígado se la realizó con una balanza analítica, al igual que para la obtención de datos post mortem se requirió contar con equipos de disección y una balanza digital de 100g x 0.01g, marca DigiWEIGH, modelo DW100AS.

Animales Experimentales.

Veintiocho (28) ratones machos de la línea CD-1, de 10 semanas de edad, con un peso de 25 gramos, adquiridos del Bioterio del Instituto Nacional de Salud Pública (INSPI).

Manejo general del Alimento

El mango se obtuvo en el comercio local se seleccionaron frutos en estado de madurez comercial, se procedió a retirar la cáscara de la pulpa, para luego lavarla, deshidratarlas a 41 a 43°C, y finalmente realizar el proceso de molienda, con un molino marca IKA, modelo MF 10 Basic.

Se suministró agua y alimento durante los periodos de adaptación y experimental.

Raciones

En la etapa experimental se utilizó el alimento balanceado, al cual se le incluyó 4 % de HCM. Para la formulación de las raciones se consideraron los valores nutricionales de los insumos y los requerimientos nutricionales de los ratones.

Composición de la dieta, se expresa en el cuadro # 1 (Ver valor nutricional de tratamientos anexo # 6,7, 8 y 9)

Cuadro 1. Composición del alimento para ratones.

Composición del alimento (%)	T1	T2	T3	T4
Maíz	68,00%	62,95%	36,25%	31,25%
Torta de soya	26,00%	26,8%	31,3%	32,00%
Manteca de cerdo	3,55%	3,8%	30,00%	30,3%
Carbonato de calcio	0,7%	0,7%	0,7%	0,7%
Cloruro de sodio	0,1%	0,1%	0,2	0,2
DL-Metionina	0,2%	0,2%	0,4	0,4
Pre mezcla	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
Fosfato bicalcico	1,35%	1,35%	1,35%	1,35%
HCM	0	4%	0	4%
Total (%)	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%

Fuente: Elaboración propia

VIII.2. Tratamientos

Posterior al periodo de adaptación, los ratones (unidades experimentales) se distribuyeron aleatoriamente en cada una de las jaulas de acuerdo al tratamiento asignado, en dependencia de la función de cada dieta. Cada tratamiento constó de siete repeticiones, considerando cada unidad experimental como una repetición.

Los Tratamientos utilizados fueron:

1. Tratamiento 1: Dieta convencional, 0% HCM
 2. Tratamiento 2: Dieta convencional, 4% HCM
 3. Tratamiento 3: Dieta hipergrasa 0% HCM
 4. Tratamiento 4: Dieta hipergrasa 4% HCM
- **Peso de los ratones.** Se registró al momento de iniciar el experimento y semanalmente.
 - **Consumo de alimento.** Se monitoreó diariamente, pesando el alimento a ofrecer a los ratones. De la misma forma, se recolectó y pesó los residuos y desperdicios de alimentos brindados el día anterior

- **Manejo y sacrificio**

A las 16 semanas y posterior ayuno nocturno de 12 horas, se procedió con la eutanasia de las unidades experimentales, con una inyección intraperitoneal (IP) de una mezcla de xilazine (25 mg/Kg) y ketamina (150 mg/Kg). Mediante exanguinación se extrajo una muestra de sangre (entre 1 y 1.5 ml), que se colocó en tubos de ensayo sin anticoagulante, con la finalidad de realizar los análisis bioquímico correspondientes. Los protocolos utilizados en esta investigación fueron aprobados por el Comité de Bioética Institucional de la Universidad Técnica de Manabí N° UTM II 2018-011-OF (Ver resolución anexo 10).

VIII.3. Valoración post mortem

- **Toma de muestras y peso de órganos.** Se registró el peso de los ratones antes del sacrificio y posterior al mismo, se retiró y se pesó la grasa abdominal, corazón e hígado.

VIII.3.1. Análisis de laboratorio

Bioquímica sanguínea

Las concentraciones séricas de colesterol total (CT), lipoproteínas de alta densidad (HDLc), lipoproteínas de baja densidad (LDLc) y triacilgliceroles se determinó a acorde a lo señalado por (Navidshad *et al*, 2010). El suero se obtuvo utilizando una centrífuga marca CLAY ADAMS, modelo 420225 a 3000 rpm por 10 minutos para posteriormente ser procesada en un espectrofotómetro: Analizador semi automático de Bioquímica PKL PPC 115, empleando micropipetas accumax FA (5- 10-20-50 UL), micropipetas accumax VA (300-600 UL), reactivos HDL colesterol directo y LDL colesterol directo 40 ML (LINEAR), colesterol total, triglicéridos y glucosa (Biotécnica).

VIII.4. Morfometría del intestino delgado e histología de hígado

Para las muestras de intestinos se tomó una porción del duodeno y de yeyuno del intestino de siete ratones por tratamientos. De igual forma se obtuvo muestras de tejido hepático, que se conservaron en formol neutro al 10%. Para el análisis histológico las muestras fueron procesadas por la técnica clásica de inclusión y cortes en bloques de parafina y se colorearon con hematoxilina y eosina.

En el estudio morfométrico se analizaron 10 vellosidades intactas de cada segmento.

Considerando los siguientes parámetros:

- **Altura de las vellosidades.** Desde la base de las vellosidades hasta el vértice de la misma.
- **Grosor de las vellosidades.** Desde el punto medio de las vellosidades a partir de la medida de la longitud de la vellosidad.
- **Profundidad de la cripta.** A partir de la base de la cripta hasta la altura de la vellosidad.

VIII.5. Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como promedios $\pm$ Desviación Estándar e intervalos de confianza (I.C) de 95% y fueron analizados mediante Análisis de Varianza (ANOVA), utilizando el Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 2x2. La homogeneidad de varianza de los tratamientos se determinó mediante la prueba de Levene y normalidad de los datos mediante la prueba de Anderson-Darling. Se consideró diferencias significativas cuando el valor de p fue inferior al 5% ($p < 0,05$). Adicionalmente se realizó

la comparación entre medias de tratamientos utilizando la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Los resultados se procesaron con el paquete estadístico Minitab versión 16,0.

VIII.6. Materiales, Equipos, Insumos y Reactivos

- **Materiales**

Comederos

Bebederos

Hoja de bisturí caja x 100 (1 caja)

Alambres

Cernidero

Papel (cama y recolectar residuos)

Cuaderno de registros

Playo

Bandejas de plásticos

2 lavavajillas

Tarrinas

Cucharas de aluminio

4 recipientes de plástico

Fundas de ziploc

Punta P7Pipeta Amarilla

Jeringas de insulina

Frascos recolectores de orina

3 bidones con agua

Tacho basura

Vitrina

Fundas de basura

Escoba

Trapeador

Pizarrón

Escritorio

Recolector de basura

Desinfectante

Mandil

Esfero

Marcadores

Guantes de examinación médium (8 cajas)

Tubos de ensayo 80mm

- **Equipos**

Higrotermómetro

Gradillas plásticas

Analizador semi automático de Bioquímica PKL PPC 115

Molino marca IKA, modelo MF 10 Basic.

Jaulas metálicas

Balanzas digitales de 5kg±1.0g, marca CAMRY modelo EK5055

1Balanza digital TSCALE Gramera (Modelo LB-1000 de 1000 g ±0.1g

Micropipetas accumax FA-5VOL 5UL

Micropipetas accumax FA-10 VOL 10 UL

Micropipetas accumax FA-20 VOL 20UL

Micropipetas accumax FA-50 VOL 50 UL

Micropipetas accumax VA-300 VOL UL

Micropipetas accumax VA-600 VOL UL

Aire acondicionado

Extractor de aire

- **Insumos**

Harina de cáscara de mango

Harina de Maíz

Torta de Soya

Manteca de cerdo

Fosfato bicálcico

Carbonato calcio

Cloruro de sodio

Pre mezcla (vitaminas y minerales)

Metionina

- **Reactivos**

Formol

Colesterol HDL-LDL

Glucosa

Triglicéridos

IX. RESULTADOS

Los valores del peso semanal, consumo de alimento e ingesta calórica de los grupos experimentales, se aprecian en los Cuadro 2 ,3 y 4.

Peso semanal de los ratones

El peso inicial de los ratones no fue diferente entre tratamientos ($p= 0.875$), sin embargo al día 115 el peso promedio de los tratamientos T3, T4 fue superior a T2, mientras que el peso de este tratamiento fue similar al de T1. El efecto del peso se atribuye a la mayor proporción de grasa en el alimento.

Consumo de alimento semanal (en gramos).

El consumo de alimento fue menor en los tratamientos con alto contenido de grasa, lo que significó mayor ingesta calórica en relación a los tratamientos que recibieron una dieta convencional; la suplementación con HCM redujo la ingesta de alimentos en las dietas convencionales, en contraste, en la dietas HG, la adición de HCM incrementó el consumo de alimento, estableciéndose una interacción entre el contenido de grasa y el suministro de HCM.

Consumo energético (en Kcal).

El consumo energético fue mayor al suministrar una dieta hipergrasa (T3 y T4). En las dietas convencionales se observa que el consumo energético es inferior al suministrar HCM. Estos efectos son atribuidos a la dosis de grasa e interacción dosis de grasa x dosis de HCM

IX.1. Cuadro 2. Peso semanal por tratamientos (gramos)

Tratamientos					P-VALOR		
Experimento (días)	T1	T2	T3	T4	Dieta	HCM	Dieta*HCM
0	27.29± 2.50 (a)	27.96± 1.43 (a)	27.03± 2.19(a)	27.94± 2.72 (a)	0.875	0.364	0.888
7	26.59± 2.76 (b)	27.24± 2.20 (b)	30.16± 2.9 (ab)	32.77± 2.62(a)	0.000	0.113	0.335
14	30.83± 6.21 (a)	27.59± 3.28 (a)	32.27± 2.91 (a)	32.77± 2.62 (a)	0.039	0.376	0.230
21	34.06±4.18 (bc)	30.93± 2.83 (c)	40.30± 4.23 (ab)	44.67± 5.97 (a)	0.000	0.715	0.035
28	34.06± 3.88 (bc)	31.61± 3.19 (c)	40.51± 3.35 (ab)	42.30± 6.97 (a)	0.000	0.852	0.238
35	35.37± 4.14 (b)	34.89± 3.32 (b)	43.54± 4.67 (a)	45.73± 8.00 (a)	0.000	0.667	0.514
42	39.39± 5.39 (bc)	37.09± 4.73 (c)	47.14± 4.20 (ab)	48.93± 8.91 (a)	0.000	0.912	0.384
49	40.26± 5.73 (ab)	37.80± 5.48 (b)	48.22± 6.05 (ab)	48.91± 10.99 (a)	0.003	0.763	0.590
56	39.82± 6.67 (b)	39.98± 5.27 (b)	49.66± 5.96 (a)	46.00± 5.98 (a)	0.006	0.505	0.466
63	40.39± 6.59 (ab)	37.77± 6.12 (b)	49.30± 7.06 (a)	49.75± 5.67 (a)	0.000	0.671	0.548
70	40.70± 6.33 (bc)	38.29± 5.96 (c)	50.87± 9.72 (ab)	51.92± 4.93 (a)	0.000	0.804	0.530
77	42.10± 6.86 (bc)	39.19± 4.97 (c)	50.82± 9.79 (ab)	52.86± 6.56 (a)	0.000	0.875	0.377
84	42.86± 6.27 (bc)	37.16± 6.14 (c)	51.30± 9.08 (ab)	53.84± 6.7 (a)	0.000	0.567	0.143
91	43.27± 6.00 (bc)	37.61± 5.72 (c)	52.55± 9.2 (ab)	54.80± 8.63 (a)	0.000	0.560	0.183
98	42.73± 5.69 (bc)	37.56± 6.66 (c)	53.92± 9.47 (ab)	56.91± 8.42 (a)	0.000	0.690	0.188
105	43.21± 6.7 (bc)	37.89± 7.43 (c)	54.97±10.45 (ab)	57.59± 7.75 (a)	0.000	0.668	0.216
112	45.40± 6.66 (bc)	39.24± 7.8 (c)	57.15± 10.7 (ab)	59.20± 6.88 (a)	0.000	0.515	0.199
Promedio	49.8±6.73 (ab)	43.36±8.22 (b)	59.93±10.21 (a)	60.8±6.55 (a)	0.000	0.373	0.246

T1 (grupo control), T2 (grupo control + 4% de harina de mango), T3 (grupo hipergrasa), T4 (grupo hipergrasa + 4% de harina de mango), D (dieta). Los valores representan el promedio ± y la desviación estándar. El valor P representan las diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$). Letras diferentes en las filas indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos.

IX.2. Cuadro 3. Consumo semanal de alimento (gramos)

Experimento (días)	Tratamientos				P-VALOR		
	T1	T2	T3	T4	Dieta	HCM	Dieta*HCM
7	4.51± 0.29 (a)	4.54 ± 0.35 (a)	3.97 ± 0.32(b)	4.24 ± 4.241 (ab)	0.006	0.276	0.390
14	4.37± 0.27 (b)	4.22 ± 0.17 (a)	3.54 ± 0.31 (b)	4.07 ± 0.32(a)	0.000	0.077	0.003
21	5.36± 0.23 (a)	5.13 ± 0.33 (a)	3.87± 0.35 (b)	4.00± 2.62 (b)	0.000	0.657	0.127
28	4.42 ±0.43 (ab)	4.673 ± 0.48 (a)	4.15 ± 0.200 (ab)	3.91 ± 0.33 (b)	0.001	0.954	0.090
35	4.50 ± 0.51 (a)	4.05± 0.45 (ab)	3.45 ± 0.37 (b)	3.60 ± 0.33 (b)	0.000	0.352	0.064
42	5.04± 0.34 (a)	4.79 ± 0.53 (ab)	4.21 ± 0.46 (b)	4.34± 0.44 (b)	0.001	0.716	0.276
49	4.92 ± 0.50 (a)	4.60± 0.64 (ab)	4.13± 0.40 (b)	4.23± 0.51 (ab)	0.007	0.588	0.296
56	4.77± 0.37 (a)	4.36± 0.85 (ab)	3.83 ± 0.47 (b)	4.32 ± 0.64 (ab)	0.044	0.878	0.062
63	5.01 ± 0.37 (a)	4.89 ± 0.60 (a)	4.36 ± 0.37 (b)	4.68 ± 0.45 (ab)	0.020	0.562	0.210
70	5.28 ± 0.32 (a)	4.93 ± 0.53 (ab)	4.16± 0.70 (b)	4.50 ± 0.55 (ab)	0.001	0.976	0.106
77	5.18 ± 0.38 (a)	4.81 ± 0.56 (a)	4.51± 0.78 (a)	4.62 ± 0.72 (a)	0.085	0.603	0.324
84	5.22 ± 0.36 (a)	4.96 ± 0.57 (a)	4.69 ± 0.61 (a)	4.68 ± 0.54 (a)	0.052	0.513	0.519
91	5.05 ± 42 (a)	4.59 ± 0.89 (ab)	3.96 ± 0.91 (b)	4.46 ± 0.62 (ab)	0.040	0.942	0.0993
98	4.99 ± 0.44 (a)	4.64 ± 0.81 (a)	4.21 ± 0.60 (a)	4.50 ± 0.34 (a)	0.064	0.987	0.196
105	5.18 ± 0.31 (a)	4.79 ± 0.85 (ab)	4.15 ± 0.62 (b)	4.22 ± 0.46 (b)	0.002	0.495	0.318
112	5.01 ± 0.33 (a)	4.66 ± 0.78 (ab)	4.13 ± 0.48 (b)	4.17 ± 0.39 (b)	0.003	0.452	0.346
Promedio	4.92 ± 0.47 (a)	4.66 ± 0.64 (b)	4.08 ± 0.58 (d)	4.29 ± 0.53 (c)	0.000	0.622	0.000

T1 (grupo control), T2 (grupo control + 4% de harina de mango), T3 (grupo hipergrasa), T4 (grupo hipergrasa + 4% de harina de mango). Los valores representan el promedio $\pm$ y la desviación estándar. El valor P representan las diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

IX.3. Cuadro 4. Consumo energético (en Kcal).

Tratamientos					P-VALOR		
Experimento (días)	T1	T2	T3	T4	Dieta	HCM	Dieta*HCM
7	15.85 ± 1.02 (b)	15.39 ± 1.12 (b)	1.91 ± 1.56(a)	19.89 ± 2.19 (a)	0.000	0.757	0.284
14	15.36± 0.94 (bc)	14.29 ± 0.58 (c)	16.98 ± 1.51 (b)	19.10 ± 1.50 (a)	0.000	0.262	0.002
21	18.86± 0.81 (a)	17.98 ± 1.12 (a)	18.59 ± 1.68 (a)	18.75 ± 1.30 (a)	0.269	0.187	0.104
28	15.53 ± 1.50 (a)	15.41 ± 16.19 (a)	19.95 ± 0.95 (a)	18.35 ± 1.55 (a)	0.000	0.243	0.089
35	15.84 ± 1.81 (ab)	13.71 ± 1.51 (b)	16.51 ± 1.78 (a)	16.90 ± 1.53 (a)	0.005	0.169	0.061
42	17.73 ± 1.19 (ab)	16.24 ± 18.09 (b)	20.23 ± 2.20 (a)	20.34± 2.07 (a)	0.000	0.335	0.265
49	17.30 ± 1.74 (ab)	15.60± 2.18 (b)	19.83 ± 1.91 (a)	19.83 ± 2.43 (a)	0.000	0.291	0.288
56	16.78 ± 1.30 (ab)	14.76± 2.89 (b)	18.40 ± 2.25 (a)	20.24 ± 3.01 (a)	0.001	0.929	0.048
63	17.61 ± 1.30 (b)	16.57 ± 2.02 (b)	20.94 ± 1.78 (a)	21.96 ± 2.09 (a)	0.000	0.983	0.149
70	18.58 ± 1.12 (ab)	16.72 ± 1.81 (b)	19.99 ± 3.37 (ab)	2111 ± 2.57 (a)	0.004	0.680	0.110
77	18.20 ± 1.32 (ab)	16.31 ± 1.89 (b)	21.66 ± 3.76 (a)	21.68 ± 3.39 (a)	0.000	0.382	0.372
84	18.37 ± 1.28 (b)	16.82 ± 1.94 (b)	22.5 ± 2.92 (a)	21.97 ± 2.51 (a)	0.000	0.229	0.559
91	17.74 ± 1.46 (ab)	15.54 ± 3.03 (b)	19.02 ± 4.38 (ab)	20.91 ± 2.92 (a)	0.010	0.898	0.096
98	17.35 ± 1.56 (bc)	15.73 ± 2.76 (c)	20.20 ± 2.88 (ab)	21.12 ± 1.57 (a)	0.000	0.693	0.157
105	18.22 ± 1.07 (ab)	16.24 ± 2.88 (b)	19.93 ± 2.99 (a)	19.22 ± 0.46 (b)	0.002	0.495	0.318
112	17.01 ± 0.33 (ab)	15.81 ± 0.78 (b)	19.86 ± 0.48 (a)	19.57 ± 0.39 (a)	0.001	0.195	0.341
Promedio	17.31 ± 1.64 (b)	15.81 ± 2.17 (c)	19.60 ± 2.8 (a)	20.09 ± 2.48 (a)	0.000	0.023	0.000

T1 (grupo control), T2 (grupo control + 4% de harina de mango), T3 (grupo hipergrasa), T4 (grupo hipergrasa + 4% de harina de mango). Los valores representan el promedio ± y la desviación estándar. El valor P representan las diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

IX.4. Datos *post mortem*

Los valores del peso final, longitud, el peso de grasa abdominal, el peso del hígado, peso del corazón, se muestran detallados en el cuadro 5.

Cuadro 5. Peso relativo de órganos y grasa abdominal.

Tratamientos					P-VALOR		
	T1	T2	T3	T4	D	HCM	D*HCM
PR grasa abdominal (%)	4.20± 1.87 (b)	3.53 ± 1.99 (b)	9.05±4.02 (a)	10.364± 1.33 (a)	0.000	0.736	0.301
PR hígado (%)	4.89± 1.2 (a)	4.62 ± 0.35 (a)	3.94 ± 1.75 (a)	3.87±1.87 (a)	0.078	0.717	0.824
PR corazón (%)	0.39± 0.04 (ab)	0.41±0.05 (a)	0.33±0.06 (b)	0.35±0.02 (ab)	0.04	0.225	0.950

PR (peso relativo), T1 (grupo control), T2 (grupo control + 4% de harina de mango), T3 (grupo hipergrasa), T4 (grupo hipergrasa+ 4% de harina de mango), D (dieta). Los valores representan el promedio ± y la desviación estándar. El valor P representan las diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$). Letras diferentes en las filas indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos.

Respecto al porcentaje de grasa abdominal fue mayor en los tratamientos que recibieron una dieta hipergrasa en comparación a los que recibieron una dieta convencional T1 y T2. Estos efectos se atribuyen a la dosis de grasa en la dieta.

El peso del hígado tendió a ser mayor en T1 y T2. De modo similar el peso relativo del corazón fue mayor en T2 y menor en T3, este efecto también se atribuye a la dosis de grasa en la dieta que incide en la deposición de grasa en el organismo y en el peso corporal, reduciendo el peso relativo de los órganos.

IX.5. Perfil lipídico

Los resultados correspondientes al perfil lipídico se aprecian en el cuadro 6

Cuadro 6. Bioquímica sanguínea

Perfil lipídico por tratamientos					P-VALOR		
En mg/dL	T1	T2	T3	T4	Dieta	HCM	Dieta*HCM
Glucosa	81.63 ± 23.62 (a)	89.41 ± 7.63 (a)	85.35 ± 10.23 (a)	91.92 ± 5.72 (a)	0.59	0.222	0.916
Colesterol (C)	162.36 ± 24.68 (a)	128.94 ± 42.91 (a)	168.82 ± 43.43 (a)	167.0 ± 34.74 (a)	0.13	0.231	0.276
Triglicéridos (TAG)	70.05 ± 37.35 (a)	59.83 ± 13.48 (a)	81.41 ± 45.78 (a)	73.18 ± 22.21 (a)	0.319	0.454	0.936
HDL	27.77 ± 1.13 (b)	29.22 ± 1.61 (b)	27.07 ± 2.98 (b)	33.84 ± 3.66 (a)	0.076	0.001	0.02
LDL *	69.39 ± 21.96 (a)	24.15 ± 17.95 (a)	40.69 ± 42.96 (a)	26.54 ± 28.69 (a)	0.282		
TAG/HDL	2.67 ± 1.56 (a)	2.17 ± 0.34 (a)	3.07 ± 1.98 (a)	2.153 ± 0.56 (a)	0.710	0.183	0.682
HDL/LDL	0.394 ± 0.35(a)	1.306± 0.892 (a)	0.728 ± 1.01(a)	1.407 ± 0.625 (a)	0.180		
CT/HDL *	5.98 ± 0.93 (a)	4.70 ± 1.24 (a)	6.28 ± 1.71 (a)	5.01 ± 1.34 (a)	0.842	0.072	0.616

T1 (grupo control), T2 (grupo control + 4% de harina de mango), T3 (grupo hipergrasa), T4 (grupo hipergrasa + 4% de harina de mango), Los valores representan el promedio ± y la desviación estándar. El valor P representan las diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

No se evidenció diferencias significativas entre tratamientos en la concentración de glucosa, colesterol total, triglicéridos, LDL y en el índice HDL/LDL. La concentración de HDLc fue mayor en T4 en comparación a los tratamientos restantes, se la atribuye a la dosis de harina de cáscara de mango (p : 0.001). La relación CT/HDL (índice aterosclerótico) tendió a ser menor en T2 y T4 (p : 0.072)

IX.6. Análisis histopatológico

En el cuadro 8 se expresa la morfometría intestinal por tratamientos

Cuadro 7. Morfometría del epitelio intestinal (Duodeno)

Morfometría del epitelio intestinal					P-VALOR		
	T1	T2	T3	T4	Grasa	HCM	Grasa*HCM
							M
Altura de la vellosidad (AV)	1.086 ± 0.39 (a)	0.818 ± 0.10(a)	0.784 ± 0.14 (a)	0.852 ± 0.09 (a)	0.188	0.319	0.104
Ancho de vellosidad (LV)	0.224 ± 0.03 (a)	0.206 ± 0.02 (a)	0.216 ± 0.07 (a)	0.394 ± 0.46 (a)	0.403	0.456	0.364
Profundidad de la cripta (PC)	0.424 ± 0.04 (a)	0.466 ± 0.06 (a)	0.406 ± 0.03 (a)	0.432 ± 0.09 (a)	0.330	0.208	0.761

T1 (grupo control), T2 (grupo control + 4% de harina de mango), T3 (grupo hipergrasa), T4 (grupo hipergrasa + 4% de harina de mango), AV (altura de la vellosidades), LV (ancho vellosidades), PC (profundidad de la cripta). Los valores representan el promedio ± y la desviación estándar. El valor P representan las diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

La histomorfometría de las vellosidades intestinales, muestran que no hubo diferencia significativa entre tratamientos.

En el cuadro 9 se expresan las alteraciones observadas por tratamientos en el hígado.

Cuadro 8. Histología de hígado

Tratamientos	Total de muestras	Proporción	P-VALOR
T1	4	0,5	0,4
T2	6	0,33	
T3	4	1,00	
T4	5	1,00	

T1 (grupo control), T2 (grupo control + 4% de harina de mango), T3 (grupo hipergrasa), T4 (grupo hipergrasa + 4% de harina de mango). Los valores representan el promedio $\pm$ y la desviación estándar. El valor P representan las diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

La esteatosis hepática, muestra que no hubo diferencia significativa entre tratamientos.

Aspecto histológico del hígado en ratones CD1.

Fig.1: T1 con esteatosis leve H y E 400 x; **Fig.2:** T2 con esteatosis leve y muy discreta vacuolización, H y E 400 x; **Fig.3:** T3 con Esteatosis severa, H y E 400 x; **Fig.4:** T4 con esteatosis severa, el acumulo de grasa es predominantemente macrovesicular H y E 400 x

Fig.1: T1R4

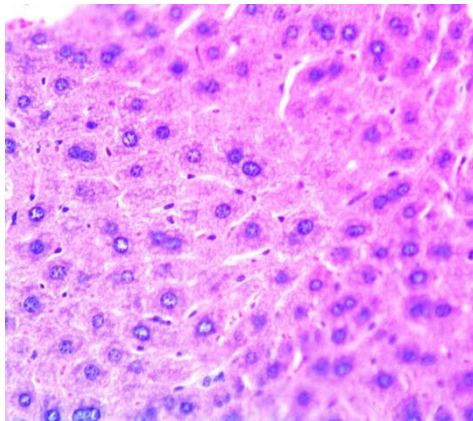


Fig.2: T2R1

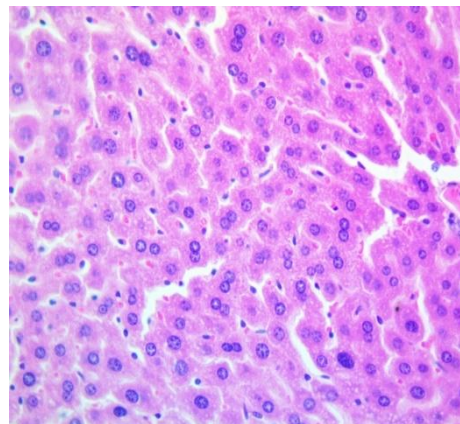


Fig.3: T3R3

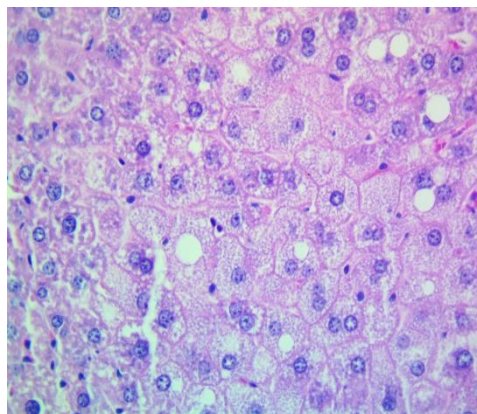
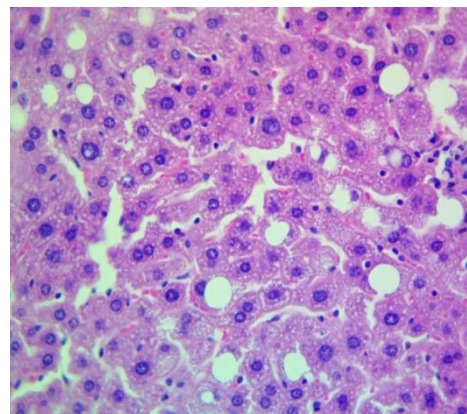


Fig.4: T4R3



X. DISCUSSION

El consumo excesivo de grasas y energía conlleva a efectos perjudiciales como: diabetes mellitus tipo 2 (DM-2), aterosclerosis, lipotoxicidad, cáncer, hígado graso (Miguel *et al*, 2009), dislipidemia y disfunción respiratoria, resistencia a la insulina, (González *et al*, 2011), aumento de LDL, disminución de HDL (Lozano, 2005), aumento del estrés oxidativo y disfunción endotelial (Rodríguez *et al*, 2009), convirtiéndose en un problema de salud pública. En este sentido, los roedores y entre ellos los ratones, son ampliamente utilizados en el estudio de estos problemas metabólicos (Wang *et al*, 2012).

Consumo de alimento

En la presente investigación, el menor consumo de alimento de T2 en relación a T1, probablemente se deba a que la inclusión de HCM disminuya la palatabilidad del alimento. Por otra parte, las altas dosis de manteca de cerdo posiblemente enmascaren el sabor de la HCM; así en T4 el consumo de alimento fue mayor a T3. Estos resultados coinciden con lo reportado por Gutiérrez *et al* (1995), que informa disminución del consumo de alimento en ratas Sprague-Dawley alimentadas con una ración hipergrasa. En contraste, otro estudio no encontró modificaciones en la ingesta de alimento en ratas macho Wistar, al suministrar raciones hipercalóricas (Rios, 2011).

Ingesta calórica

La ingesta de energía fue mayor en los tratamientos T3 y T4, con un menor consumo de alimento, lo que concuerda con Flowers *et al* (2010), informa mayor consumo de energía en ratones C57BL / 6 alimentados con una dieta alta en grasas, sin embargo contrasta con lo informado por Barrientos *et al* (2014), quienes reportaron similar consumo energético en ratas Wistar al recibir una dieta control con inclusión de glucosamina oral. La ingesta calórica incrementó en los tratamientos hipergrasas, a pesar de que el consumo de alimento fue menor, la ingesta calórica fue mayor.

Peso

Se observó similitud de peso entre los tratamientos T1, T3 y T4, no obstante, el consumo de una dieta hipergrasa en los dos últimos tratamientos. Al respecto Akiyama *et al* (1996) en ratas Wistar macho observaron mayor aumento de peso corporal en la dietas hipergrasa en relación a las dietas convencionales. Del mismo modo Poveda *et al* (2008), señalaron un mayor aumento de peso en ratas Wistar alimentados con dieta alta en grasa en comparación con el grupo que recibió una dieta convencional. Así mismo, Flowers *et al* (2010) reportan que dietas en las que el 60% de su aporte energético provenían de manteca de cerdo, incrementan el peso corporal en ratones C57BL/6. Probablemente la similitud en cuanto la media de peso entre T1 los tratamientos suministrados con una dieta hipergrasa, se deba al mayor consumo de alimento y por tanto de energía por parte de T1. Así, el patrón del consumo de energía es similar al del peso promedio de los tratamientos en estudio. Del mismo modo, el menor consumo de alimento de T2 significó un menor aporte energético que se tradujo en menor peso corporal.

Datos post mortem

En este estudio se utilizó harina de cáscara de mango fuente rica en compuestos activos como los polifenoles, estos tienen el potencial de reducir el exceso de peso (Ghosh *et al*, 2012) y obesidad abdominal (Ibars *et al*, 2016), regular la concentración de lípidos de la sangre (Quiñones *et al*, 2012) y niveles de glucemia en diversos modelos animales (Hanhineva *et al*, 2010), estos efectos son fundamentalmente resultado de propiedades antioxidantes, en base a la facilidad de reducir la producción de radicales libres e inhibición de enzimas.

Sin embargo en el presente estudio, la proporción de grasa abdominal fue mayor al suministrar una dieta con alto contenido energético, observándose un comportamiento similar al peso corporal y la ingesta calórica, lo que se puede atribuir que la ingesta de una dieta hipergrasa incrementa la cantidad de tejido adiposo e hipertrofia de los adipocitos (Eisinger *et al*, 2014). Al respecto Díaz *et al* (2018) reportan que ratas Wistar con acceso a dietas altas en grasas acumulan significativamente más tejido adiposo, coincidiendo con (Fengler *et al*, 2016), reporta obesidad en ratones CD-1 y (Paredes *et al*, 2009) en ratas Wistar. Del mismo modo Barrientos *et al* (2014) informaron que los depósitos de grasa abdominal en relación al peso corporal fueron mayores en los grupos con consumo de dieta hipercalórico al 24% de manteca de cerdo, con respecto al grupo control en ratas Wistar. El mismo autor reporta que en el grupo que consumió una dieta

hipercalórica la grasa se relaciona positivamente con el aumento de peso y por ende con el aumento de la cantidad de grasa abdominal (Barrientos *et al*, 2014).

En contraste, Medina *et al* (2017) informan que la suplementación con té de hoja de mango redujo la acumulación de grasa abdominal en ratas Wistar alimentadas con una dieta alta en grasas, a través de mecanismos en la regulación de la expresión de factores transcripcionales y enzimas asociadas con la adipogénesis. Del mismo modo Lucas *et al* (2011), reportan la reducción de la adiposidad relacionada con una dieta hipergrasa tras la suplementación de la dieta de ratones C57BL/6J con dos dosis (1% y 10%) de mango liofilizado, resultado asociado con la reducción en la concentración de leptina presente en el plasma

Análisis bioquímico

Un alto contenido de Colesterol total sérico y especialmente LDL-c son considerados factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares, mientras que un alto nivel de HDL-c, ejerce un efecto protector frente a estas dolencias (Ruiz *et al*, 2006). LDLc infiltrado en el endotelio, tiende a oxidarse y formar LDLc oxidado (oxLDL), llevando a la formación de células espumosas (Ferreira *et al*, 2016), los macrófagos participan en la génesis, progresión, regresión y complicación de la placas de ateroma (Carvajal, 2015) que una vez activados producen y liberan especies reactivas de oxígeno (ROS), que aumentara la oxidación de las LDL (Echeverri *et al*, 2004), en tanto que el efecto protector de HDL frente a la aterosclerosis radica en el transporte reverso del colesterol, removiendo el exceso de colesterol de los macrófagos en la pared arterial, previniendo la formación de las células espumosas y el desarrollo de aterosclerosis (Gormaz *et al*, 2016). En este estudio la concentración de HDLc fue mayor en al suministrar una dieta con alto contenido energético (T4), lo que se puede atribuir que la suplementación con HCM mejora significativamente los niveles de HDL. El aumento de HDL en plasma se ha considerado como factor protector para enfermedades cardiovasculares (Ikewuchi, 2009), ayuda a eliminar el colesterol de la sangre, lo que evita la acumulación de grasa y la formación de placa en los vasos sanguíneos (Quesada, 2018). Al respecto Figueiredo *et al* (2016), señalaron un efecto significativo aumentando los niveles de HDL-c, en ratas Wistar alimentada con una dieta a base de aceite de coco. Del mismo modo Gutiérrez *et al* (2013), señalaron un aumento significativo en los niveles de colesterol HDL en humanos alimentados con dietas cetogénicas. En contraste, otro estudio Bernuy *et al* (2018) reporta que los niveles de HDL no fue afectada significativamente por las dietas alta en grasa, en ratas obesas. Así la relación del índice CT/HDL muestra si los niveles

de HDL o colesterol bueno son suficientes para "manejar" la carga total de colesterol (Quesada, 2018).

En la relación TAG/HDL (p : 0.183), HDL/LDL (p : 0.180) no mostró diferencias significativas, sin embargo la relación CT/HDL (índice ateroesclerótico) tendió a ser menor en T2 y T4 a pesar de que no se observó diferencias significativas entre tratamientos, al suplementar harina de cáscara de mango en la relación CT/HDL existe una tendencia a reducir este valor (p : 0.072), en aproximadamente 20 y 21%, independientemente si la dieta es convencional o hipergrasa, lo que probablemente pudiera tener significancia clínica. Al respecto, los polifenoles presentes en la verbena azul (*Stachytarpheta jamaicensis* L.), redujo el índice CT/HDL (ratio de riesgo cardiaco) y la relación entre la concentración sérica de triglicéridos y nivel HDLc (índice aterogénico) en conejos, efectos atribuidos a los flavonoides presentes en la infusión de verbena azul (Ikewuchi, 2009).

La similitud en la concentración de glucosa, colesterol y triglicéridos total fueron similares entre los tratamientos de este estudio. Fengler *et al* (2016) no observaron diferencias en el almacenamiento de TG en tejido adiposo subcutáneo de ratones CD-1 alimentados con dieta grasas, en contraste con Ayala *et al* (2008), que reportan un incremento en la masa grasa total, niveles circulantes de leptina, insulina y niveles de triglicéridos del consumo de alimento en ratones C57BL/6J alimentados con una ración hipergrasa, probablemente se deba a que la cepa utilizada (CD-1) este protegida frente a complicaciones metabólicas inducidas por dietas altas en grasas (Fengler *et al*, 2016).

Un alto nivel de ingesta de grasas en la dieta de estilo occidental se considera un factor importante en el desarrollo de la resistencia a la insulina (Akiyama *et al*, 1996). Se ha evidenciado que el mango favorece el control glicémico, mediante la sensibilidad a la insulina (Burton *et al*, 2017). Se ha informado que en ratones CD-1, raciones hipergrasas no modifican la respuesta de marcadores inflamatorios, como interleukina IL-6, Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y proteína quimiotáctica de monocitos (Fengler *et al*, 2016), lo que probablemente contribuya a la ausencia de alteración en el metabolismo de carbohidratos. Akiyama *et al* (1996) reporta que una dieta hipercalórico alta en grasa induce a diabetes y resistencia a la insulina en ratas Wistar, incluso en ausencia de factores genéticos. Es conocida la relación que concurre entre la obesidad y un estado pro inflamatorio crónico, que a su vez trasciende en el metabolismo de los carbohidratos, asociándose con resistencia a la insulina (Bastard *et al*, 2016).

Morfometría de los intestinos

La inclusión de HCM en las dietas no modificó la morfometría del intestino delgado, entre tratamientos. Estos resultados coinciden con lo reportado con (Bernuy *et al*, 2018) que informan que la histomorfometría del ID no fue afectada significativamente por las dietas experimentales, en ratas obesas alimentadas con dieta a base de quinua. En contraste, otro estudio no encontró modificaciones significativas en yeyuno y duodeno en ratones BALB/c (Coura *et al* , 2013).

Esteatosis hepática

La presencia de alteraciones macroscópicas e histopatológicas indican que, a pesar del consumo de una dieta rica en grasas, no afectó la funcionalidad de este órgano. La inclusión de HCM en las dietas no modificó, la presencia de esteatosis hepática entre tratamientos (p: 0,4). Lo que coincide con Debón, (2011), que informan que la suplementación con té de Jamaica (*H. sabdariffa*) no modificó significativamente la esteatosis hepática en ratones C57BL/6J, alimentadas con una dieta alta en grasas.

XI. CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos llegamos a las siguientes conclusiones:

- El consumo de raciones con altos contenidos de grasa, incrementó la deposición de grasa abdominal en T3 y T4.
- La suplementación harina de cáscara de mango aumentó los niveles de HDL en T4. No se observaron modificaciones adicionales en el perfil lipídico y glicemia.
- El consumo de harina de cáscara de mango no modificó la histomorfometría del intestino delgado en ratones CD1.

XII. RECOMENDACIONES

Según los resultados obtenidos llegamos a las siguientes recomendaciones:

- Efectuar investigaciones con mayor período de tiempo y mayores dosis a las empleadas en este estudio para evaluar y comparar perfiles lipídicos en dos biomodelos diferentes, con la suplementación de harina de cáscara de mango.
- Medir otros analitos como transaminasas y hemoglobina en busca de probables efectos secundarios de estos productos.
- Probar la inclusión de otros extractos vegetales en ratones u otros biomodelos a fin de evaluar su influencia en el metabolismo lipídico y probables efectos secundarios
- Probar el efecto de otros productos de origen vegetal, en diferentes dosis, sobre la morfometría intestinal.
- Incrementar el número de unidades experimentales por tratamiento.

XIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDADES	Oct/Nov 2018	Dic2018				Enero 2019				Febrero 2019				Marzo/junio 2019				Julio 2019				Agosto 2019			
Presentación y aprobación de proyecto de tesis	X																								
Adquisición de Materiales y Equipos		X	X																						
Formulación de Harina de Cáscara de Mango				X																					
Adquisición de alimento					X	X	X	X																	
Revisión final del Bioterio									X																
Llegada de los ratones										X															
Formulación de alimento										X															
Trabajo practico											X	X	X	X	X	X	X								
Sacrificio de ratones																	X								
Análisis de laboratorio																	X	X							
Tabulación de datos																	X								
Redacción de informe																		X							
Corrección de informe de tesis																		X							
Publicación de resultados																			X						
Tramites previo a la sustentación																			X	X	X	X			
Sustentación de tesis																							X		

XIV. PRESUPUESTO

	Concepto	Unidades	V. Unitario	V. Total
Sala crianza	Ratones	30 unidades	5	150
	Transporte ratones	Viaje Guayaquil	120	120
	Alimento	30 Kg	2	60
	Pre mezcla, metionina y minerales		15	15
	Pintura de jaulas		50	50
	Agua	10 bidones	1,5	15
	Cortes de varillas de vidrio		20	20
Materiales	Mango	4 cajas	5	20
	Guantes	15 paquetes x 50 pares	8	120
	Formol	2 L	4	8
	Recipientes orina	30	0,5	15
Análisis de laboratorio	Perfil lipídico plasma	TAG, LDLc, HDLc, Colesterol total	500	500
	Elaboración placas histológicas	90	3	270
TOTAL				1363

XV. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Akiyama, T., Tachibana, I., Shirohara, H., Watanabe, N., & Otsuki, M. (1996). High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 31, 27-35.
1. Ambulay, B. J. (2015). Efecto de la emulsión lmh-e1410 sobre el perfil lipídico, el estrés oxidativo, la inflamación y la expresión de los genes PPARα, ACO, FAS, ACC Y NF-κB en ratas obesas. *Universidad Peruana Cayetano Heredia*. Obtenido de <http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/221>
2. AMPERC. (2007). Alteraciones metabólicas en pacientes con enfermedad renal. 1.
3. Asyifah, M., Kaihui, L., Hui, L. T., & Zhang, D. (2014). Hidden Potential of Tropical Fruit Waste Components as a Useful Source of Remedy for Obesity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(16), 3505-3516. doi:10.1021
4. Ayala, I., Cámara, P., Fernández, P. J., Flores, I., Cascales, A., Gutiérrez, P., . . . García, P. . (2008). Modelos animales experimentales de enfermedad de hígado graso y síndrome metabólico. *AN. VET*, 24, 5-16.
5. Barreto, G., Púa, A., D. A., & Pión, M. (2017). Extracción y caracterización de pectina de mango de azúcar (*Mangifera indica* L.). *unicordoba*, 22(1), 1.
6. Barrientos, A., Sánchez, V., Cárdenas, O. A., Garrido, A., & Anguiano, R. (2014). Efecto de la administración subcrónica de glucosamina oral en la regulación del peso corporal, glucemia y dislipidemias provocada por una dieta hipercalórica en rata Wistar. *Rev. Nutr, Campinas*, 27(6), 691-701. doi:doi.org/10.1590/1415-52732014000600004
7. Bastard, J., Maachi, M., Lagathu, C. J., Caron, M., Vidal, H., & Feve, B. (2016). Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*, 4-12.
8. Bello, P., Agama, A., Osorio, D., & Garcia, S. . (2011). Banana and Mango Flours. *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention*, 235-24.

9. Bernuy, O. N., Riveros, L. R., Villanueva, E. M., Suárez, C. S., & Vílchez, P. C. (2018). Influencia del consumo de quinua sobre parámetros bioquímicos e histomorfometría intestinal en ratas obesas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(2), 228-233. doi:10.17843/rpmesp.2018.352.3174
10. Buqué, X., Aspichueta, P., & Ochoa, B. (2008). Fundamento molecular de la esteatosis hepática asociada a la obesidad. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 100(9), 565-578. Recuperado el 25 de Julio de 2019, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082008000900007&lng=es&tlng=es.
11. Burton, F. B., Amandeep, K., & Sandhu, I. (2017). Mangos and their bioactive components: Adding variety to the fruit plate of health. *Food Function*, 6.
12. Carrillo, E., & Muciño, B. (2011). Hígado graso y esteatohepatitis no alcohólica. 54(3).
13. Carvajal, Carvajal, C. (2015). LDL oxidada y la aterosclerosis. *Medicina Legal de Costa Rica*, 32(1), 161-169. Recuperado el 01 de Agosto de 2019, de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140900152015000100020&lng=en&tlng=es
14. Cedeño, E. (2013). Formulacion ,elaboracion y control de calidad en un alimento balanceado para ratones de experimentacion (Mus musculus) del bioterio de la escuela de bioquímica y farmacia del SPOCH. *Escuela Superior Politecnica de Chimborazo*.
15. Cofan, P. (2014). *Mecanismos básicos. Absorción y excreción de colesterol y otros esteroides* (Vol. 26). España: Elsevier. doi:10.1016
16. Coura, O. T., Gouveia, P. M., Pinto da Matta, S. L., Silveira, M. J., & Bressan, J. (2011). Análisis morfométrico de intestino delgado de ratones BALB/c en modelos desarrollados para el estudio de alergia alimentaria. *Nutrición Hospitalaria*, 28(3), 839-848. doi:10.3305/nh.2013.28.3.6058
17. Cruz, A., Guaman, M., Catillo, M., Glorio, P., & Martinez, R. (2015). Fibra dietaria en subproductos de mango , maracuya , guayaba y palmito. *Revista Politecnica*, 1-7.

18. Devalaraja, S., Jain, S., & Yadav, H. (2010). Exotic fruit as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. *ELSEVIER*.
19. Díaz, U., Escartín, P. R., López, A. J., & Mancilla, D. J. (2018). Efectos de una dieta con alto contenido de grasas sobre patrones conductuales alimentarios. *Acta Colombiana de Psicología*, 21(1), 96-105. doi:95-105.
20. Echeverri, D., Fontanilla, M., & Buitrago, L. (2004). El macrofago en enfermedad vascular¿El enemigo oculto? *Rev. Col. Cardiol*, 11(3), 164-173.
21. Eisinger, K., Liebisch, G., Schmitz, G., Aslanidis, C., & Krautbauer, S. (2014). Lipidomic Analysis of Serum from High Fat Diet Induced Obese Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 2991-3002.
22. Fengler, V. H., Macheiner, T., Kessler, S. M., Czepukojc, B., Gemperlein, K., Müller, R., . . . Sargsyan, K. (2016). Susceptibility of Different Mouse Wild Type Strains to Develop Diet-Induced NAFLD/ AFLD-Associated Liver Disease. (P. Strnad, Ed.) *PLoS ONE*, 11(5), 1-21. doi:10.1371/journal.pone.0155163
23. Fernández, G. (2015). Modelos experimentales de esteatosis hepática no alcohólica. *Universidad Zaragoza*.
24. Fernandez, M. (2010). La fibra dietetica en la prevencion del riesgo cardiovascular. *Nutricion clinica y Dietetica hospitalaria* , 4-12.
25. Ferreira, J., Silva, V., Souza, R., Moraes, M., Vilhena, G., Cardoso, C., & Chagas, M. (2016). Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: a systematic review of animal and human studies. *Journal of Translational Medicine*. doi:doi.org/10.1186/s12967-016-1076-5
26. Fiesel, A., Gessner, D., Most, E., Eder, K., 2014. Effects of dietary polyphenol-rich plant products from grape or hop on pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. *Veterinary Research*, 10(196).
27. Figueiredo, S., Wolff, C., Pires, S., & DeCássia, F. (2016). Coconut oil increases HDL-c and decreases triglycerides in wistar rat. *Acta Scientiarum*, 32(2), 185-190. doi: 10.4025

28. Figueroa, G. M., Rivera, V. M., Sosa, D. E., Saavedra Molina, F. A., & Mejía Zepeda, R. (2016). Perfil glicémico durante el ayuno en ratas macho-Wistar con diabetes tipo 2. *Rev Hosp Jua Mex*, 1,2(83), 23,30.
29. Flowers, J., & Mickelson, B. (2010). C57BL/6NHsd Male mice started on high-fat diets at three, six, or nine weeks of age attain similar obesity phenotypes. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*.
30. Fuentes, M., Acosta, L., & Rodríguez, P. (2008). Perfil lipídico, protéico y glicemia en ratones NMRI, C57BL/6 y Balb/c producidos en la UCLA. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*, 13(3), 92-103.
31. García, L., & López, G. (2007). Evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. *Nutrición Hospitalaria*.
32. Ghosh, D., & Skinner, M. . (2012). Polifenoles en el manejo del peso y control de la obesidad. *Obesity*. Obtenido de <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/21571-polifenoles-el-manejo-del-peso-y-control-la-obesidad>
33. Gil, C. M., & Bosch, M. (2017). MicroRNAs y esteatosis hepática no alcohólica. *Facultad de Farmacia, Universidad Complutense*, 22.
34. González, C., Hernández, S. S., Pozo, R. P., & García, L. D. (2011). Asociación entre tejido graso abdominal y riesgo de morbilidad: efectos positivos del ejercicio físico en la reducción de esta tendencia 685-691. *Nutricion Hospitalaria*, 26(4), 685-691. Obtenido de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112011000400004&lng=es&tlng=es.
35. Gormaz, J., Valls, N., Sotomayor, C., Turner, T., & Rodrigo, R. (2016). Potential Role of Polyphenols in the Prevention of Cardiovascular Diseases: Molecular Bases. *Molecular Bases Current Medicinal Chemistry*, 23(2), 115-28.
36. Gutiérrez, C., Galván, A., & Orozco, S. (2013). Dietas cetogénicas en el tratamiento del sobrepeso y la obesidad. *Nutricion clinica y dietetica hospitalaria*, 33(2), 98-111. doi:10.12873/332

37. Gutiérrez, M., Rincón, G., & Bermúdez, A. (1995). Valoración de una dieta hipercalórica en el desarrollo de osteoporosis en ratas Sprague-Dawley gonadectomizadas. *Biomédica*, 165-171.
38. Gutierrez, T. (2017). Extracción de aceite de la semilla del mango tomy atkins. *Universidad De Ciencias Y Artes De Chiapas*, 9.
39. Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia, P. I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4), 1365–1402. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms11041365>
40. Ibars, M., & Ardid, A. (2016). Los polifenoles de la uva ayudan a controlar el peso en casos de obesidad. *Sinc: La cienica es noticia*.
41. Ikewuchi, C, Ikewuchi, C. (2009). Alteration of Plasma Lipid Profiles and Atherogenic Indices by *Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl).
42. Kaur. (2014). A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. Cardiology Research and Practice,. *Cardiology Research and Practice*, 21.
43. López, E., Muñoz, O., & Muñoz, M. (2013). SREBP-1c, ChREBP y LXR: Su influencia en el desarrollo del hígado graso no alcohólico. *Real Academia Nacional de Farmacia*, 80(1), 14-48.
44. Lucas, E., Li, W., Peterson, S., Brown, A., Kuvibidila, S., Perkins, V. P., . . . Smith, B. (2011). Mango modulates body fat and plasma glucose and lipids in mice fed a high-fat diet. *Br J Nutr.*, 106(10), 1495-1505. doi:10.1017/S0007114511002066
45. Maldonado, A. Y., Navarrete, G. H., Ortiz, M. Ó., Jiménez, H. J., Salazar, L. R., Tejacal, I., & Álvarez, F. (2016). Propiedades físicas, químicas y antioxidantes de variedades de mango crecidas en la costa de guerrero. *Fitotec*, 39(3), 207-214.
46. Maldonado, S., Ramírez, S., García, S. ., Ceballos, R. ., & Méndez, B. (2012). Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(2), 2.
47. Martínez, M., Gámez, F., González, S. ., Rodríguez, S., Hidalgo, C., & Herrera, Á. . (2012). Morfología y función del intestino delgado de ratas criadas según un modelo de crecimiento intrauterino retardado. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 7-27.

48. Matkowski, A., Kuś, P., Góralska, E., & Woźniak, D. (2013). Mangiferin - a bioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant. *PubMed*, 13(3), 439-55.
49. Medina, N., Lopes, R., Castro, M., Duarte, H., Anjos, L., Queiroz, J., & Rocha, S. (2017). Anti-obesity effects of tea from *Mangifera indica* L. leaves of the Ubá variety in high-fat diet-induced obese rats. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 938-945.
50. Megias, M., Molist, P., & Pombal, M. . (2019). Organos aniamles digestivos. *Atlas de histologia animal y vegetal*, 1-27.
51. Mendoza, C., Quiñones, V., Amigo, L., & Busso, D. (2016). Efecto del ciprofibrato sobre el metabolismo del colesterol HDL. *Rev Chil Cardiol*, 35(2), 133-143. doi:10.4067
52. Miguel, S. P., & Niño, P. A. (2009). Consecuencias de la obesidad. *ACIMED*, 20(4), 84-92. Recuperado el 08 de Julio de 2019, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-94352009001000006&lng=es&tlng=es.
53. Moliné, L. M., Angulo, A., Cedeño, K., González, R., Salazar, J., Añez, R., . . . Bermúdez, V. (2014). Prevalencia de dislipidemias en pacientes con sobrepeso y obesidad atendidos en ambulatorios tipo II del municipio Sucre, estado Miranda. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*, 9(4), 9-17. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/1702/170240767002.pdf>
54. Muruganandan, S., Srinivasan, K., Gupta, S. G., & Lal, J. (2005). Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *Journal ofEthnopharmacology*, 497-501.
55. Natal, G. (2016). Ubá mango juices intake decreases adiposity and inflammation in high-fat diet-induced obese Wistar rats. *Elsevier Ltd*, 32(9).
56. Navarro, M. A. (2005). Animales de experimentación utilizados como modelos en la investigación de la arteriosclerosis. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*.
57. Navidshad, B., Deldar, H., Pourrahimi, G., & Ava, P. (2010). Correlation between serum lipoproteins and abdominal fat pad in broiler chickens. *African Journal of*

- Biotechnology*, 9(35), 5779–5783.
58. Pallares, G. (2009). Valoración no invasiva de la gestión y la embriogénesis en ratón mediante técnicas de imagen ultrasonográfica. *Universidad Complutense de Madrid*, 233.
 59. Paredes, J. L., Moreno, E. A., Premoli, G., Alarcón, M., Lugo de Yarbuh, A., Villarreal, J., . . . Borges, R. (2009). The Effects of Ingesting a High-fat Diet on Wistar Rats Chronically Infected with *Trypanosoma cruzi*. *Scielo*, 37(1).
 60. Petta, S., Gastaldelli, A., Rebelos, E., Bugianesi, E., Messa, P., Miele, L., . . . Bonino, F. (2016). Pathophysiology of Non Alcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12). doi:10.3390/ijms17122082
 61. Poveda, E., Ayala, P., Rodríguez, M., Ordóñez, E., Baracaldo, C., Delgado, W., & Guerra, M. (2005). Efecto del suplemento de aceites vegetales sobre el perfil lipídico en ratas Wistar. *scielo*, 101,9.
 62. Poveda, E., Trujillo, P., Ruiz, F., & López, E. (2008). Glucemia y concentraciones de insulina en sangre de ratas Wistar sometidas a dieta alta en grasa y a tratamiento con péptidos miméticos de leptina. *Biomedica*, 50-63.
 63. Quesada, A. (2018). Obtenido https://www.geosalud.com/nutricion/colesterol_pg3.html
 64. Quiñones, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89. Recuperado el 09 de Julio de 2019, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&tlng=es.
 65. Ramirez, N., Lopes, T. R., Maria, C., Duarte, M. H., Benjamín, L., Queiroz, J., & Rochard, S. (2017). ScienceDirect Anti-obesity effects of tea from *Mangifera indica* L. leaves of the Ubá variety in high-fat diet-induced obese rats. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 91.
 66. Ribas, S. (2015). Estudio de las propiedades antiaterogénicas de las HDL de ratones transgénicos de apoA-II humana. *Universidad Autónoma de Barcelona*, 13.

67. Rios. (2011). Posible papel de la melatonina en la inducción de obesidad por dieta hipercalórico : Efectos metabólicos en ratas macho. *Universidad Complutense de Madrid*, 1-179.
68. Rivera, Q. (2015). Características generales de bioterio de experimentación y su aplicación en control de calidad de vacuna antirrábica. *Universidad de la Salle*, 19.
69. Rodríguez, R., Perea, J. M., López, S. M., & Ortega, R. M. (2009). Obesidad, resistencia a la insulina y aumento de los niveles de adipocinas: importancia de la dieta y el ejercicio físico. *Nutrición Hospitalaria*, 24(4), 415-421. Recuperado el 08 de Julio de 2019, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112009000400004&lng=es&tlng=es.
70. Ros, E. (2006). Doble inhibición del colesterol: papel de la regulación intestinal y hepática. *Rev Española de Cardiología*, 6, 52-62. Obtenido de <http://www.revespcardiol.org/es/doble-inhibicion-del-colesterol-papel/articulo/13113743/>
71. Ruales, J., Baenas, N. M., Stinco, C., Meléndez, M. A., & García, R. A. (2018). Biological Active Ecuadorian Mango ‘Tommy Atkins’ Ingredients—An Opportunity to Reduce Agrowaste. *Nutrients*, 10, 1138.
72. Ruiz, N. ., Dijck, B. D., & Muskiet, F. (2006). La relación de los ácidos grasos saturados con la inflamación de bajo grado y la enfermedad cardiovascular. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 36(1), 1-20. doi:10.1016 / j.jnutbio.2015.12.007
73. Serna, C., & Torres, L. , (2014). Potencial agroindustrial de cascara de mango(Manguiфера indica) variedades Keitt y Tommi Atkinis. *Scielo*, 64(2).
74. Sehm, J., Lindermayer, H., Dummer, C., Treutter, D., & Pfaffl, M. W. (2007). The influence of polyphenol rich apple pomace or red-wine pomace diet on the gut morphology in weaning piglets. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 91, 289-296.
75. Solorzano, S. S. (2018). Estudio de dislipidemias en pacientes adultos en el hospital de Machala. *EAE*, 11.

76. Speakman, J., Hambly, C., Mitchell, S., & Król, E. (2008). Contribución de los modelos animales al estudio de la obesidad. *Laboratory Animals*, 42, 413-432.
77. Sumaya, M., Sánchez, H., Torres, G., & García, P. (2012). Red de valor del mango y sus desechos con base en las propiedades nutricionales y funcionales. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 30, 826-833.
78. Talcott, S., & Talcott, S. (2018). Efectos anti-inflamatorios de los polifenoles de mango en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Texas A&M University, Department of Nutrition and Food Science*, 4. Obtenido de Obtenido de https://www.mango.org/wpcontent/uploads/2018/04/Enfermedad_Inflamatoria_Intestinal_Final_Report_Spn.pdf
79. Viveros, A., Chamorro, S., Pizarro, M., Centeno, C., & Brenes, .. (2011). Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. *PublMed*, 90(3), 566-578. doi:10.3382/ps.2010-00889.
80. Vladimora, F. (2016). Mangiferin Modulation of Metabolism and Metabolic Syndrome. *HHS Public Access*, 1.
81. Wall, M. A., J, O. F., Velderrain, R. G., Aguilar, De la Rosa, L. A., & López, D. J. (2014). El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutricion Hospitalaria*, 68. doi:10.3305/nh.2015.31.1.7701
82. Wang, C., & Liao, J. (2012). A Mouse Model of Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. *Methods Mol Biol*, 821, 421-433.
83. WHO. (2018). Increasing fruit and vegetable consumption to reduce the risk of noncommunicable diseases. *World Health Organization*, 1. Obtenido de Obtenido de http://www.who.int/elena/titles/fruit_vegetables_ncds/en/
84. Young, D., Tsao, R., & Mine, Y. (2011). Nutraceuticals and Antioxidant function In . *Functional Foods*

XVI. ANEXOS.

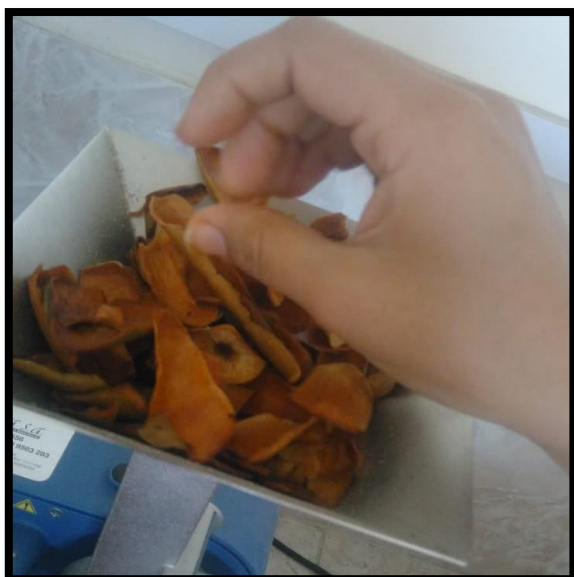
Anexo 1. Materiales utilizados en la investigación.



Jaulas para el inicio del experimento

Adaptación de los ratones con sus comederos y bebederos

Anexo 2. Procedimiento de la harina de cáscara de mango.



Cáscaras de mango deshidratadas.

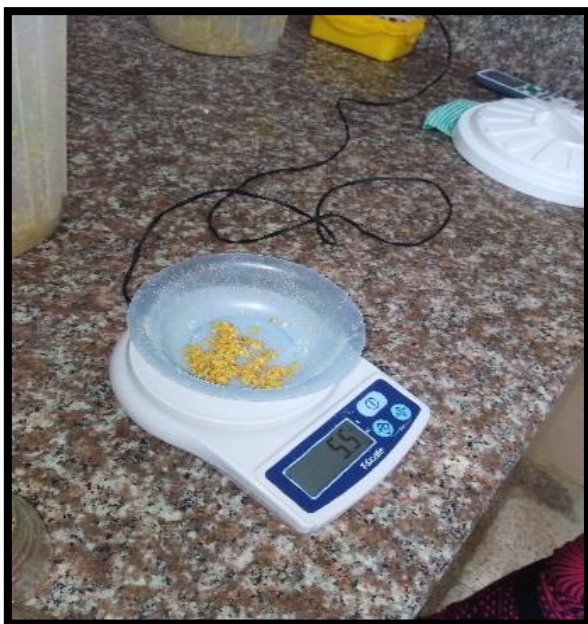
Harina de cáscara de mango utilizado para el experimento.



Alimento preparado colocado en su respectivo tratamiento.



Pesado de alimento para los tratamientos.



Peso del alimento de cada tratamiento con su repetición.



Comederos con sus respectivos tratamientos y repeticiones.

Anexo 3. Sacrificio de los ratones



Sacrificio de los ratones.	Exanguinación de ratones .
----------------------------	----------------------------



Ratones sacrificados con sus respectivos tratamientos y repeticiones.	Extracción de órganos por cada tratamiento.
---	---





Medida del intestino de cada uno de los ratones.

Órganos obtenidos de cada ratón.



Infiltración de grasa en el hígado.

Ratón del Tratamiento 4 repetición 3.



Ratón Tratamiento 2 repetición 5.

Ratón Tratamiento 3 repetición 6.

Anexo 4. Equipos para obtención de valores lipídicos



Analizador químico PKL
PPC 115

Pipetas utilizadas para el
análisis

Centrifuga utilizada para
análisis.

Anexo 5. Estudio histopatológico



Muestras para estudio histopatológico.



Cortes de las muestras de hígado para estudio histopatológico.



Tallado de muestras para estudio histopatológico

Anexo 6. Valor nutricional del T1.

Energía metabolizable	3516,35Mcal/kg
Humedad	87,53%
Proteína	17,59%
Fibra	2,76%
Grasa	6,06%
Fósforo disponible	0,33%
Calcio	0,69%

Anexo 7. Valor nutricional del T2.

Energía metabolizable	3389,59Mcal/kg
Humedad	11,86%
Proteína	17,66%
Fibra	2,88%
Grasa	6,41%
Fósforo disponible	0,33%
Calcio	0,69%

Anexo 8. Valor nutricional del T3.

Energía metabolizable	4804,55Mcal/kg
Humedad	8,84%
Proteína	17,57%
Fibra	2,27%
Grasa	31,64%
Fósforo disponible	0,33%
Calcio	0,70%

Anexo 9. Valor nutricional del T4.

Energía metabolizable	4689,93Mcal/kg
Humedad	8,24%
Proteína	17,60%
Fibra	2,39%
Grasa	31,86%
Fósforo disponible	0,33%
Calcio	0,70%

Anexo 10. Oficio del dictamen del Comité De Bioética Institucional- UTM

 **COMITÉ DE BIOÉTICA INSTITUCIONAL**
UTM 

DOCUMENTO II

DICTAMEN DEL COMITÉ DE BIOÉTICA INSTITUCIONAL-UTM

DE: Comité de Bioética Institucional de la Universidad Técnica de Manabí.

A: Instituto de Investigación UTM / Investigador Principal.

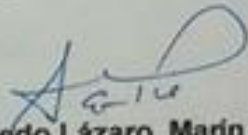
El Presidente, en nombre del Comité de Bioética Institucional utilizando las atribuciones conferidas por el Honorable Consejo Universitario en Oficio No: UTM II 2018-011-OF de enero 25/2018 y cumpliendo con los Artículos No: 14 y 36 del Reglamento de éste Comité, emite el siguiente Dictamen.

El Trabajo Investigativo Efecto de la harina de la cáscara del mango (*Mangifera indica* L.) sobre la obesidad abdominal, perfil lipídico y morfométrico del Epitelio intestinal en ratones CO₁. Facultad Ciencias Veterinarias

Código _____ Versión 1 a cargo de Sieto Reyno Gallegos como Investigador Principal, sometido a Revisión y Votación por _____ vez, durante la sesión celebrada el día 28 mes Feb de 2019 fue declarado:

☒ APROBADO ☐ PENDIENTE ☐ NO APROBADO

*En caso de no ser APROBADO, revise el Reporte Explicativo emitido por el CBI-UTM que se adjunta a este reporte. Aún en el caso de ser APROBADO el CBI-UTM pudiera hacer alguna sugerencia menor a los autores.
**En caso de ser APROBADA la investigación en cuestión, esta debe ser revaluada por el CBI-UTM _____ % de ejecución y siempre que sea inminente la introducción de un cambio significativo en el proyecto.

Firma: 
Dr. Alfredo Lázaro Marín Pérez
Presidente CBI-UTM

Asentado en: Tomo 001 Folio 01 - 16 Fecha 28 Feb 2019