



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



TRABAJO DE TITULACIÓN

Previo a la Obtención de Título de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MODALIDAD

INVESTIGATIVA EXPERIMENTAL

TEMA:

**Efecto de la suplementación con harina de cáscara de mango
(*Mangifera indica L.*) sobre el estado nutricional y hepático de
ratones CD-1 inducidos a obesidad**

AUTORES:

Delgado Arias Stalin Antony

Pita Valencia Jesús Israel

TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN:

Dr. Sixto Leonardo Reyna Gallegos, PhD

LODANA – MANABÍ – ECUADOR

2021

TEMA

Efecto de la suplementación con harina de cáscara de mango (*Mangifera indica L.*)
sobre el estado nutricional y hepático de ratones CD-1 inducidos a obesidad

DEDICATORIA

A mis padres por ser los pilares de la persona en la que me he convertido ahora, me inculcaron que siempre se debe de luchar por lo que se quiere de verdad no importan las circunstancias ni los obstáculos; su lucha y esfuerzo por verme triunfar en cada paso que doy y verme lograr cada uno de mis sueños me dieron las fuerzas de seguir adelante y demostrarles que sus sacrificios rindieron frutos ¡los amo!

Stalin Antony Delgado Arias

DEDICATORIA

Después de varios años de ardua labor, quiero dedicar mi trabajo de titulación, en primer lugar, a Dios, por darme la vida, darme las fuerzas necesarias para darle frente a cualquier obstáculo presentado a lo largo de mi vida y llevarme justo aquí, a este momento, en donde termina una parte de mis sueños tan anhelados y cesa la satisfacción del deber cumplido.

A mis padres Jesús Pita y Cecilia Valencia, por ser el pilar fundamental de mi vida, por inculcarme cada uno de los valores que hoy me permiten ser una persona de bien, por enseñarme a comprender que no hay cosas imposibles, por ser unos padres ejemplares, por creer y confiar en mí cuando nadie más lo hacía, por acompañarme en cada larga y agotadora noche de estudio, por su esfuerzo y dedicación constante, solo por esto, hoy les agradezco infinitamente y les dedico todos mis éxitos. A mis hermanas Ligia, Josselyn y Ana, quienes son el motor que me impulsan a seguir adelante y porque quiero ser para ellas un ejemplo de perseverancia y dedicación. Aún me falta mucho camino por recorrer para llegar a la meta propuesta y lo único que espero, es seguir llenándolos de orgullo, porque ustedes son lo más importante de mi vida.

A mi querida Alma Mater la Universidad Técnica de Manabí, que en conjunto con la Facultad de Ciencias Veterinarias, me abrieron las puertas para formarme en ella y cumplir mi sueño anhelado; a los docentes, a mis compañeros de clases, porque sin esperar nada a cambio, compartieron conmigo sus conocimientos, alegrías y tristezas; y, a todas las demás personas que participaron en este proceso, realizando aportes que el día de hoy se ven reflejados en la culminación de este gran paso por la universidad.

Jesús Israel Pita Valencia

AGRADECIMIENTO

Grande es la predisposición de su tiempo que una persona profesional brinda a sus estudiantes, por lo que se le agradece enormemente a nuestro tutor en tesis el Dr. Sixto Reyna por el apoyo en el transcurso de todo el desarrollo del proyecto; así como también al estudiante José Gregorio por la ayuda en el laboratorio y demás docentes que dotaron de mucha información clave en el ámbito investigativo.

Agradezco a Dios padre celestial creador del cielo y la tierra por darme vida, salud, familia y amigos que son lo más grande que pueden existir sin ellos no soy nada. A mi padre Stalin Delgado, a mi madre Letty Arias, a mis hermanos Adrián y Steven Delgado.

Al ser un trabajo de colaboración grupal agradezco infinitamente a mi compañero en tesis Jesús Pita quien tuvo la flexibilidad de ser comprensible por mi agenda laboral; mi sincero agradecimiento a la empresa "Llaguno" quien me brindó la confianza de realizar mi tesis y laborar al mismo tiempo además de proporcionar la movilización con su vehículo. Especial reconocimiento a la Universidad Técnica de Manabí, en especial a la Facultad de Ciencias Veterinarias y a sus dirigentes por todo lo brindado (libros, computadoras, instalaciones, etc.).

A sus docentes con quienes empatizamos mucho como, Dr. Gustavo Navarrete, Dr. Carlos Bulnes, Dr. Rodolfo Pedroso, Dra. Dania Feraud, Dr. Arnaldo del Toro, Dr. Emir Ponce, Dr. Jonathan Proaño, Dr. Juan Pauta, Dr. Edis Macías y Dra. Laura De la Cruz, de los cuales nos llevamos mucha sabiduría, así como también recuerdos gratos.

A todos los mencionados mis más sinceros agradecimientos

Stalin Antony Delgado Arias

AGRADECIMIENTO

El agradecer es la mejor forma de demostrar gratitud, respeto y consideración, es por ello, que me veo en la oportunidad de darles mis más sinceros agradecimientos:

A Dios, por permitirme llegar hasta este punto importante, que es lograr cumplir a cabalidad el trabajo de titulación.

A el Alma Máter, que, vinculada con la Facultad de Ciencias Veterinarias, me abrieron las puertas para formarme como un profesional de éxito.

A el Tutor del trabajo de titulación, Dr. Sixto Leonardo Reyna Gallegos, PhD, por el tiempo brindado, sus conocimientos y su desinteresado apoyo, para poder desarrollar el trabajo.

A el Revisor, Dr. Edis Macías Rodríguez, PhD, Decano de la Facultad de Ciencias Veterinarias y a los miembros del tribunal, por estar presentes para llevar a cabo la perfección del trabajo.

A mi compañero de tesis Stalin Delgado, puesto que, durante un largo período de trabajo, de tiempo y adversidades logramos cumplir con la meta de finalizar el proyecto planteado y porque no, a todos los amigos que conocí durante el camino, que, aunque son pocos siempre podrán contar con mi amistad sincera.

A el Dr. Víctor Montes, Ing. Katherine Moreira y al estudiante Gregorio Arteaga que siempre estuvieron predispuestos a ayudarnos impartiendo sus conocimientos en todo el proceso que concernía el trabajo.

Y por qué no agradecer a la vida, que en muchas ocasiones es muy corta, por tanto, se debe pensar en dar gracias por el poder respirar, por el poder observar la belleza del mundo y por el hecho de tener a quienes amamos a nuestro lado.

Jesús Israel Pita Valencia

DECLARACIÓN SOBRE LOS DERECHOS DE AUTOR

Las ideas, conclusiones y recomendaciones, así como los resultados obtenidos en el presente trabajo investigativo, son propiedad exclusiva de los autores, queda prohibida la reproducción total o parcial de este trabajo.

Autores:

.....

Stalin Delgado Arias

.....

Jesús Pita Valencia

INDICE

TEMA	2
DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	5
DECLARACIÓN SOBRE LOS DERECHOS DE AUTOR	7
RESUMEN	13
ABSTRACT	14
ABREVIATURAS	15
GLOSARIO	16
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
III. JUSTIFICACIÓN	3
IV. OBJETIVOS	4
Objetivo General	4
Objetivos Específicos	4
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
VI. HIPÓTESIS	6
VII. MARCO REFERENCIAL	7
7.1. EL MANGO (<i>Mangifera indica</i> L.)	7
7.2. CÁSCARA DE MANGO	8
7.2.1. Preparación Harina de Cáscara de Mango	10
7.3. HARINA DE CÁSCARA DE MANGO	10
7.4. OBESIDAD	11
7.4.1. Obesidad Abdominal	11
7.4.2. Fisiopatología de la Obesidad	11
7.5. DISLIPIDEMIAS	12
7.5.1. Vía exógena	12
7.5.2. Vía endógena	12
7.5.3. Vía para el transporte del colesterol desde la periferia al hígado (vía de retorno)	13
7.6. EFECTOS DE FIBRAS SOBRE OBESIDAD	13
7.7. EFECTOS DE POLIFENOLES SOBRE OBESIDAD	14
7.8. ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT) Y ASPARTATO TRANSAMINASA (AST)	14
7.9. LOS RATONES	15
7.10. LOS RATONES COMO ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	16

7.11.	RATONES CD-1	17
7.11.1.	Visión General	17
7.11.2.	Características Físicas	17
7.11.3.	Características de Comportamiento y Manejo	17
7.11.4.	Características de Salud	17
VIII.	METODOLOGÍA	18
8.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN	18
8.2.	ELABORACIÓN DE LA HARINA DE CÁSCARA DE MANGO	18
8.3.	INSTALACIONES Y EQUIPOS	19
8.4.	ANIMALES EXPERIMENTALES	19
8.5.	DURACIÓN DEL TRABAJO	19
8.5.1.	ETAPA 1	19
8.5.2.	ETAPA 2	20
8.6.	DISEÑO ESTADÍSTICO	22
8.7.	CONSIDERACIONES ÉTICAS	22
8.8.	MATERIALES	23
8.8.1.	Materiales de Campo	23
8.8.2.	Materiales y Equipos de Laboratorio	23
8.8.3.	Materiales De Oficina	24
8.8.4.	Reactivos e Insumos	24
8.8.5.	Recursos Humanos	24
8.8.6.	Recursos Económicos	24
IX.	RESULTADOS	25
X.	DISCUSIÓN	30
10.1.	Consumo de alimento	30
10.2.	Parámetros zoométricos	30
10.3.	Bioquímica sanguínea	32
XI.	CONCLUSIONES	35
XII.	RECOMENDACIONES	36
	REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación Taxonómica	7
Cuadro 2. Composición de harina de cáscara de mango	10
Cuadro 3. Clasificación Taxonómica	16
Cuadro 4. Valor nutricional alimento para ratones CD-1	21
Cuadro 5. Parámetros Zoométricos	28
Cuadro 7. Presupuesto	37
Cuadro 8. Cronograma	38

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Consumo de alimento y peso de la primera fase.....	25
Gráfico 2. Consumo de alimento y peso de la segunda fase.....	26
Gráfico 3. Análisis bioquímico	29

ÍNDICE DE IMÁGENES

Figura 1. Vista aérea de los Laboratorios Veterinarios - UTM	18
Figura 2. Limpieza y mejoramiento de jaulas	45
Figura 3. Retiro de los 36 biomodelos del Bioterio del Instituto Nacional de Salud Pública (INSPI)	45
Figura 4. Pesaje de los ratones.....	45
Figura 5. Cáscaras de mango	46
Figura 6. Secado de cáscaras de mango	46
Figura 7. Molienda de las cáscaras de mango para elaboración de la harina	46
Figura 8. Sacrificio de los ratones previo ayuno nocturno de 12 horas.....	47
Figura 9. Medición de la longitud naso anal, utilizando un escalímetro de Vernier	47
Figura 10. Extracción sanguínea de los ratones.....	47
Figura 11. Extracción de los órganos y grasa abdominal	48
Figura 12. Órganos y grasa abdominal reposando en formol	48
Figura 13. Analizador químico PKL PPC 115 y Espectrofotómetro paramedicals.	48

RESUMEN

La presente investigación evaluó el efecto de la suplementación con harina de cáscara de mango (HCM) sobre el estado nutricional y hepático de ratones CD-1 inducidos a obesidad. Para ello, durante 8 semanas 36 biomodelos fueron distribuidos aleatoriamente en dos tratamientos: dieta control (C) y dieta hiperlipídica (HL). Posteriormente, los ratones se distribuyeron al azar, en función de la suplementación de las dietas C e HL con diferentes dosis de HCM (0%, 4% y 8%), en los siguientes tratamientos T1: dieta control (C), T2: C +4% de HCM, T3: C + 8% HCM; T4: HL, T5: HL + 4% HCM y T6: HL + 8% de HCM, durante cuatro semanas. Posteriormente, los ratones fueron sacrificados tras un ayuno de 12 horas. Se evaluó el peso, la longitud naso-anal de los ratones, el consumo de alimento el peso relativo del hígado, páncreas, riñones, corazón y grasa abdominal, la concentración sérica de colesterol, primero el nombre de las enzimas (AST, ALT). Los resultados de la primera etapa se analizaron mediante la prueba t de Student, en la segunda etapa se utilizó un Análisis de Varianza (ANOVA), diseño completamente al azar con arreglo factorial (3x2) o la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, en caso de no cumplirse los requerimientos del ANOVA. El consumo del alimento fue significativamente mayor en los tratamientos que incluían a la dieta C que en los tratamientos que incluyeron la dieta HL. Así mismo, se observó que los ratones que consumieron la dieta HL, presentaron un peso mayor que los tratamientos que recibieron la dieta C ($p < 0,001$). En los restantes parámetros zomométricos no se presentaron diferencias entre tratamientos como resultado de la suplementación con HCM. El aumento del peso en los ratones se ve relacionada a la cantidad de grasa presente en las dietas; encontrando diferencias significativas en la longitud relacionada al factor dieta así mismo se muestra esta diferencia significativa en el peso relativo de los riñones y de grasa abdominal, sin embargo, no se observa a que factor corresponde. La dieta hiperlipídica incrementó los valores plasmáticos de colesterol total $p = 0.014$ (prueba no paramétrica de Kuskal-Wallis), la concentración sérica de ALT, AST y el cociente AST/ALT no fue diferente entre tratamientos. Así, la HCM, no generó efectos negativos en los ratones.

Palabras claves: Harina de cáscara de mango, hígado, obesidad, grasa abdominal, polifenoles.

ABSTRACT

The present investigation evaluated the effect of supplementation with mango peel flour (HCM) on the nutritional and liver status of CD-1 mice induced to obesity. For this, during 8 weeks 36 biomodels were randomly distributed in two treatments: control diet (C) and hyperlipidic diet (HL). Subsequently, the mice were randomly distributed, depending on the supplementation of diets C and HL with different doses of HCM (0%, 4% and 8%), in the following treatments: T1: control diet (C), T2: C+4% HCM, T3: C+8% HCM, T4: HL, T5: HL+4% HCM, T6: HL+8% HCM, for four weeks. The mice were subsequently sacrificed after a 12-hour fast. The weight, the naso-anal length of the mice, the food consumption, the relative weight of the liver, pancreas, kidneys, heart and abdominal fat, the serum concentration of cholesterol, and the enzymatic levels of alanine transaminase (ALT) and aspartate transaminase (AST). The results of the first stage were analyzed using the student T test, in the second stage an ANOVA analysis of variance was used, a completely randomized design with factorial arrangement (3x2) or the non-parametric Kruskal-Wallis test, in the case of ANOVA requirements not being met. Food consumption was significantly higher in the treatments that included the C diet than in the treatments that included the HL diet. Likewise, it was observed that the mice that received the C diet ($p < 0.001$). In the remaining zoometric parameters, there were no differences between treatments as a result of HCM supplementation. The weight difference was not a product of HCM intake, on the other hand; if there is a difference for the length, relative weight of kidneys and abdominal fat. The hyperlipidic diet increased the plasma values of total cholesterol $p: 0.014$ (non-parametric Kruskal-Wallis test), the serum concentration of ALT and AST and the AST/ALT ratio didn't differ between treatments. Thus, HCM didn't generate negative effects in mice.

Key words: Mango peel flour, liver, obesity, abdominal fat, polyphenols.

ABREVIATURAS

AAP: Anti proliferativa.

ALT: Alanina transaminasa.

AST: Aspartato transaminasa.

CAOX: Alta capacidad antioxidante.

CF: Compuestos fenólicos.

DHL: Dieta hiperlipídica.

ECNT: Enfermedades Crónicas No Transmisibles.

ECV: Enfermedades Cardiovasculares.

EHGNA (NAFLD, siglas en inglés): Enfermedad hepática grasa no alcohólica.

g: Gramo.

HCM: Harina de cáscara de mango.

HDL: Lipoproteínas de alta densidad.

IC: Intervalos de confianza.

IGS: Estandarización Genética Internacional.

INSPI: Instituto Nacional de Salud Pública

IP: Inyección intraperitoneal.

kHz: Kilohercios.

KW: prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

LDL: Lipoproteína de baja densidad.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PF: Polifenoles.

TG: Triacilglicerol.

GLOSARIO

Ácido gálico: Es un ácido orgánico también conocido como ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico, que se encuentra en las agallas, en las hojas de té, en la corteza de roble y otras plantas.

Ácidos fenólicos: Son un tipo de compuestos orgánicos, puede encontrarse en muchas especies de plantas. Su presencia en frutos secos puede ser alta.

Adiposidad: Acumulación o exceso de grasa en el cuerpo.

Catequina: Es un antioxidante polifenólico que procede de las plantas en las cuales aparece como un metabolito secundario.

Celulosa: La celulosa es un biopolímero compuesto exclusivamente de moléculas. La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre.

Dislipidemia: Es la elevación anormal de concentración de grasas en la sangre (colesterol, triglicéridos, colesterol, HDL y LDL) que aumentan el riesgo de aterosclerosis cardiopatía, ictus e hipertensión.

HDL: Lipoproteínas de alta densidad o colesterol "bueno".

LDL: lipoproteínas de baja densidad.

Esteatohepatitis: Es una inflamación grasa del hígado que no es debida a hábito alcohólico. Es una de las causas fundamentales de cirrosis hepática.

Fitoquímicos: Son compuestos químicos producidos por las plantas, estos generalmente juegan un papel en el crecimiento de la planta o en su defensa contra patógenos o depredadores.

Flavonoides: Es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas.

Hemicelulosa: Forma parte de las paredes de las células vegetales, recubriendo la superficie de las fibras de celulosa y permitiendo el enlace de pectina.

Mangiferina: Ampliamente usado en la medicina natural y tradicional por todas las propiedades analgésico, antiinflamatorio, inmunoestimulante, antioxidante, espasmolítico, antidiarreico, dislipidémico, antidiabético, antihelmíntico y antialérgico.

Pectina: Fibra presente de manera natural en las frutas.

Polifenoles: Son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula.

Shiquimato: Es el precursor clave y común en la biosíntesis de todos los aminoácidos aromáticos y del triptófano que resulta de la ciclación de un ácido heptónico.

I. INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica L.*) es una fruta tropical con aceptación mundial, amplia comercialización, gran producción, amplia distribución y beneficios para la salud. Los desechos de mango, como el grano de la semilla y la cáscara, tienen un alto potencial funcional y nutricional (Torres, *et al.*, 2016). Estudios recientes han demostrado que las partes de desechos de la fruta, como la cáscara de mango, contienen una cantidad notable de componente de valor terapéutico. Estos componentes biológicamente activos incluyen mangiferina, flavonoides, catequina, ácidos fenólicos, ácido gálico y derivados del ácido gálico (Farrooq, *et al.*, 2016).

Por otra parte, la cifra global de obesidad equivale a 708 millones de personas, 108 millones son niños y 600 millones adultos (Fernández, 2017). La obesidad se considera un importante factor de riesgo para enfermedades no transmisibles (Moreno, 2012), entre ellas la dislipidemia, que al elevar la concentración de colesterol, triglicéridos, colesterol total, y lipoproteínas de baja densidad, LDL y reducir la concentración de HDLc, aumentan el riesgo de Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT), como Enfermedades Cardiovasculares (ECV) y Diabetes tipo II, que disminuyen la calidad de vida y ocasionan alrededor de 60% de las muertes en el mundo (Alavos, 2015; Rubinstein, *et al.*, 2010). Por otra parte, dietas con elevado contenido graso predisponen al a esteatosis hepática (De la Fuente, *et al.*, 2019). Ya que la harina de cáscara de mango es una fuente de polifenoles y estos bioactivos ejercen efectos antiadipogénicos (Burton, *et al.*, 2018) y protectores de los tejidos hepático y cardiaco (Gómez & Guzmán, 2019), el presente estudio evaluó el efecto de la suplementación con harina de cáscara de mango sobre el estado zoométrico y salud del tejido hepático en ratones CD-1 inducidos a obesidad.

II. ANTECEDENTES

En 1980 inicia el cultivo de mango en el Ecuador, considerado por su sabor exótico como una de las frutas más finas del mundo, y conocida por estadounidenses, europeos y japoneses como la “manzana del trópico” (Rubio, 2015). Las cáscaras de mango han atraído considerable atención debido a su alto contenido de fitoquímicos, polifenoles, carotenoides, enzimas, vitamina E y vitamina C, que tienen propiedades funcionales y antioxidantes predominantes, es una fuente de fibra dietética, celulosa, hemicelulosa, lípidos, proteínas, enzimas y pectina (Guatemala, *et al.*, 2014).

Los polifenoles se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Quiñones, *et al.*, 2012).

Existe evidencia de que los polifenoles poseen actividad antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria y hepatoprotectora, además el consumo de estos compuestos ha sido vinculado con la reducción de la obesidad y con la mejora del perfil lipídico en individuos que presentaban dislipidemia, (Vaquero, *et al.*, 2014). Así, se ha reportado que en ratones CD-1 alimentados con una dieta rica en colesterol, la concentración plasmática de este disminuyó significativamente tras 14 días de suplementación con polifenoles (antocianinas) de *Vitis coignetiae* (uva silvestre) (Igarashi & Inagaki, 1991).

La fibra se encuentra principalmente en frutas, verduras, granos enteros y legumbres, es conocida por su capacidad de prevenir o aliviar el estreñimiento. Existen 2 tipos de fibras, entre ellas, la fibra soluble que ayuda a reducir los niveles de colesterol y glucosa en la sangre; y la fibra insoluble que promueve el movimiento del material a través del aparato digestivo y aumenta el volumen de las heces (Wax, 2018).

La cáscara de piña contiene 70,6% de fibra dietética debido a un elevado contenido de miricetina, principal polifenol identificado, siendo responsable de la actividad antioxidante encontrada en este subproducto; mientras que las cáscaras de mango contienen pectina de alta calidad, por su importante concentración en ácido galacturónico y su grado de esterificación, así como fibra dietaria con un excelente equilibrio entre fibra soluble con 29% e insoluble con 27% (Vargas, *et al.*, 2018) y una mayor capacidad antioxidante e índice de retardo en la absorción de la glucosa (Cedeño & Zambrano, 2014).

III. JUSTIFICACIÓN

Este tema surge con la finalidad de aprovechar todos los componentes nutricionales del mango, basándose de forma principal en la cáscara, formando una harina, la cual se utilizará en la alimentación de los ratones CD-1, recalcando la abundante disponibilidad de esta fruta, y que no es aprovechada eficientemente.

El presente trabajo pretende evaluar qué efectos tiene la suplementación con harina de cáscara de mango sobre los parámetros zoométricos, perfil lipídico y en el estado hepático de ratones inducidos a obesidad, puesto que se conoce que los polifenoles pueden ejercer un efecto protector frente a dislipidemias y alteraciones hepáticas. También se les ha atribuido la capacidad de mejorar la condición corporal en humanos y modelos animales, reflejado en indicadores zoométricos.

Lo mencionado anteriormente justifica la presente investigación, puesto que se busca ofrecer una alternativa dietaria frente a problemas nutricionales por exceso, como el sobrepeso y obesidad, causantes de enfermedades asociadas con los principales factores de riesgo de mortalidad y morbilidad en humanos, como la esteatosis hepática, asociada con el incremento de la concentración sérica de las transaminasas aspartato aminotransferasa (AST) y alanino aminotransferasa (ALT).

IV. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la suplementación dietaria de harina de cáscara de mango sobre el estado nutricional y hepático de ratones CD-1 obesas.

Objetivos Específicos

- Medir el perfil lipídico (colesterol total) de los ratones CD-1 inducidos a obesidad y suplementadas con harina de cáscara de mango.
- Valorar los parámetros zomométricos, como longitud nasoanal y grasa abdominal en ratones CD-1 de los tratamientos en estudio.
- Evaluar el estado del tejido hepático mediante la concentración sanguínea de enzimas transaminasas: alanina transaminasa (ALT) y aspartato transaminasa (AST).
- Describir el peso relativo de varios órganos (corazón, riñón, hígado y páncreas).

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es el efecto de la suplementación con harina de cáscara de mango sobre el estado nutricional y hepático de ratones CD-1 inducidos a obesidad?

VI. HIPÓTESIS

La suplementación con harina de cáscara de mango mejora el estado nutricional y hepático de ratones CD-1 inducidos a obesidad

VII. MARCO REFERENCIAL

7.1. EL MANGO (*Mangifera indica* L.)

El mango tiene algunos parientes bien conocidos, tales como el marañón (*Anacardium occidentale* L.), el pistachero (*Pistacia vera* L.). El género *Mangifera* está formado por árboles de hojas simples, de flores pequeñas en panícula, con cáliz y corola pentámeros y cinco estambres. El mango es un árbol de sombra densa, foliación perenne y crecimiento medio. Su tronco recto, cuyo diámetro puede llegar a 75 - 100 cm, alcanza alturas que van de los 10 a 30 m de altura (Larios, *et al.*, 2016).

Es una fruta de una sola semilla con un mesocarpio (pulpa) carnosa y fibrosa que rodea al endocarpio (semilla), los mangos poseen un mesocarpio comestible de diferente grosor según los cultivares y las condiciones de cultivo. Su peso varía desde 150 g hasta 2 Kg, su forma también es variable, pero generalmente es ovoide-oblonga, notoriamente aplanada, redondeada u obtusa a ambos extremos, de 4-25 cm de largo y 1.5-10 cm de grosor (De la Cruz, 2019).

El color puede estar entre verde, amarillo y diferentes tonalidades de rosa, rojo y violeta. La cáscara es gruesa, frecuentemente con lenticelas blancas prominentes; la carne es de color amarillo o anaranjado. El mango es un fruto apreciado y de elevado consumo en todo el mundo se encuentra entre las 3 frutas más consumidas, después del plátano y la manzana (Verdugo, 2015).

Cuadro 1. Clasificación Taxonómica

Reino	<i>Plantae</i>
Filo	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Sapindales</i>
Familia	<i>Anacardiaceae</i>
Tribu	<i>Anacardieae</i>
Género	<i>Mangifera</i>
Especie	<i>Mangifera indica</i>

Fuente: Elaborado por (Mero, 2018)

El mango (*Mangifera indica* L.) aporta sustancias con alta capacidad antioxidante (CAOX) y anti proliferativa (AAP), esto se debe a la presencia de diversos compuestos fenólicos (CF) y provitaminas cuyo tipo y cantidad difiere por la variedad de mango y parte de la planta, su estado de madurez, su manejo pre y post cosecha (Morocho, 2017).

La pulpa (parte comestible) del mango constituye alrededor del 40-65% del peso total del fruto, dependiendo de la variedad, mientras que la porción restante es cáscara y semilla, que se descarta como desecho. Los mangos son una fruta climatérica, lo que significa que madurarán en el árbol, el período de maduración se caracteriza por una serie de cambios bioquímicos endógenos, que incluyen una mayor producción de etileno y una mayor tasa de respiración (Burton, *et al.*, 2018).

El mango contiene compuestos con una gran actividad antioxidante entre ellos vitamina C, vitamina E, polifenoles, carotenos, entre otros, además de presenta una importante concentración de minerales como K y Mg, también aporta pequeñas cantidades de Fe, P y Ca, fibra soluble (pectinas), ácidos orgánicos (cítrico y málico) y taninos (Huampa, 2016), contiene altas concentraciones de compuestos fenólicos, como mangiferina, quercetina y kaempferol, que son las principales clases de antioxidantes que se encuentran de manera similar en las verduras, con mayores contenidos en las cáscaras y menor en las pulpas (Caballero & Gonzalés, 2016).

Los principales componentes del mango son agua y carbohidratos, con pequeñas cantidades de fibra dietética (DF), proteínas, lípidos y vitaminas; en estado inmaduro, el carbohidrato principal del mango es el almidón, que en la fruta madura se reemplaza por monosacáridos y disacáridos como la glucosa, la fructosa y la sacarosa (Huampa, 2016).

7.2. CÁSCARA DE MANGO

Las cáscaras son una buena fuente de polifenoles, carotenoides, vitaminas, enzimas, fibras dietéticas y otros compuestos bioactivos (Proaño, 2018). Son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con una completa o parcial fermentación en el intestino grueso (Vargas, 2018), estos compuestos regulan moléculas receptoras en las células del cuerpo que pueden controlar la cantidad de colesterol en la sangre; también ayuda a estabilizar los niveles de glucosa y la cantidad de ciertos tipos de sustancias grasas en la sangre (Saalfeld, 2019).

Es una fuente importante de nutrientes como azúcares, pectina, proteínas y fibra. La cáscara de mango constituye alrededor del 15 al 20% de la fruta, el peso seco de la cáscara de mango cerca del 13% es pectina, contiene una fuente potencial de fitoquímicos como polifenoles, carotenoides, enzimas, vitamina E y vitamina C, además de propiedades antioxidantes (Julca & Linares, 2019).

Los polifenoles proporcionan colores intensos a la cáscara; en especial, rojo, azul, violeta, amarillo y naranja. Pero además son responsables de otorgar protección ante amenazas ambientales a través de sus propiedades antimicrobianas, de protección solar y antioxidantes. Esta última propiedad es considerada como una de las más importantes, pues previene del daño oxidativo que pueden ocasionar los radicales libres producidos durante la fotosíntesis (Frías, 2016).

La cáscara de mango de la variedad Ataulfo contiene 68.13 mg de polifenoles/g de peso seco; mientras que la variedad Tommy Atkins y la Haden contienen 42.40 y 70 mg de polifenoles/g peso seco, respectivamente (Martínez, *et al*, 2019). Los principales polifenoles encontrados en la cáscara de mango son los ácidos gálicos, protocatéquico, ferúlico, siríngico y 2-hidroxicinámico, los cuales poseen alta actividad antioxidante *in vitro* (Lizárraga & Hernández, 2018).

La fibra puede clasificarse como fibra dietética soluble (FDS) y fibra dietética insolubles (FDI), la fibra soluble forma una dispersión en agua, la considerada insoluble no lo hace, como consecuencia de esa diferencia de hidratación ambos tipos de fibras exhiben efectos fisiológicos distintos. La fibra soluble puede formar geles viscosos en el tracto intestinal mientras que la insoluble aumenta el volumen de las heces (Cedeño & Zambrano, 2014).

Las fibras solubles (pectinas, gomas, oligosacáridos) al entrar en contacto con el agua forman unos geles (efecto gelificante) o unas soluciones más o menos viscosas (efecto espesante). Por su viscosidad estas fibras tienden a ralentizar el tránsito gastrointestinal, simplemente porque aumentan la resistencia a que el alimento fluya (Baciero, 2016).

Las fibras insolubles (celulosa, hemicelulosa, lignina) se hinchan al absorber el agua, multiplicando su peso hasta 25 veces. Estas fibras regulan el tránsito acelerándolo en caso de estreñimiento y ralentizándolo en caso de diarrea (Baciero, 2016).

Tanto la fibra soluble como la insoluble pueden ser utilizadas por la microflora del colon como sustratos para su fermentación, denominado fermentación colónica,

permitiendo el mantenimiento y desarrollo de la flora bacteriana y células epiteliales; además produce gases y ácidos de cadena corta (acético, propiónico y butírico) que son absorbidas en su mayor parte (95-99%), disminuyendo la síntesis de colesterol en el hígado (Baciero, 2016).

Los mecanismos de la fibra estarían en relación con la capacidad de limitar la absorción del colesterol intestinal y con la acción quelante sobre las sales biliares. Asimismo, se ha visto que el propionato, tras ser absorbido desde el colon a la circulación portal, puede actuar inhibiendo la HMG-CoA reductasa, disminuyendo así la síntesis endógena de colesterol (Báez & Borja, 2013).

7.2.1. Preparación Harina de Cáscara de Mango

Para su elaboración se utilizan frutos sanos y maduros, con su color característico (amarillo). Las frutas son lavadas y peladas. La cáscara de mango es seleccionada eliminando los frutos deteriorados y con material extraño, luego se realiza un lavado, la concentración del desinfectante en el agua no debe exceder las 2000 ppm de hipoclorito para eliminar impurezas. Luego de un escurrido se procede al secado en una estufa de convección de aire a 60 °C por 20 h. Posteriormente se realiza una molienda manual y tamizado con una malla (López, 2018).

7.3. HARINA DE CÁSCARA DE MANGO

Es fina homogénea de color amarillo crema que es elaborada mediante los procesos de selección, lavado, pelado, secado, molienda, envasado y pesado. La HCM contiene compuestos valiosos como polifenoles, carotenoides, enzimas y fibra dietética (Betancur, *et al.*, 2019).

Cuadro 2. Composición de harina de cáscara de mango

COMPONENTE	CONTENIDO %
Humedad	6.24
Grasa	2.24
Proteína	2.82
Fibra Cruda	10.35
Cenizas	4.23
Ácido cítrico	2.84
Azúcares	0.25
Almidón	12.8

Fuente: Elaborado por (Julca & Linares, 2019)

7.4. OBESIDAD

La obesidad se define como la acumulación anormal de grasa que puede ser perjudicial para la salud (OMS, 2018). Siendo el desequilibrio prolongado entre el consumo y el gasto de energía por ende una enfermedad crónica de origen multifactorial, asociada a complicaciones de salud potencialmente grave y con una elevada prevalencia a nivel mundial (Suárez, *et al.*, 2017). Se encuentra asociada a dislipidemias, estrés oxidativo, inflamación y alteración en la expresión de los genes (Briceño & Percy, 2015).

Roedores de algunas especies, manifiestan un elevado aporte de grasa corporal como respuesta a dietas hiperlipídicas (Bravo, 2016). 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. 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) (Cachofeiro, 2015).

7.4.1. Obesidad Abdominal

En la obesidad abdominal incrementa el flujo de los ácidos grasos libres al hígado, lo que provoca esteatosis hepática y liberación excesiva de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) a la sangre (Diéguez, *et al.*, 2017). El aumento de las VLDL, acompañado de una baja actividad de lipoproteína lipasa endotelial, produce hipertrigliceridemia que trastorna el perfil de lipoproteínas al favorecer la aparición de lipoproteínas de baja densidad (LDL) pequeñas y densas y reducir la concentración de lipoproteínas de alta densidad (HDL), una tríada de dislipidemia aterogénica, característica del síndrome metabólico y la resistencia a la insulina (Solórzano, 2018).

7.4.2. Fisiopatología de la Obesidad

El tejido adiposo es el órgano de almacenamiento de energía en forma de grasa, en obesos los adipocitos son de mayor tamaño y número, son insulinoresistentes, permitiendo el aumento de la lipólisis. Así, se acumulan formas reactivas de ácidos grasos en el músculo, hígado, corazón, células beta pancreáticas

produciendo resistencia a la insulina, hígado graso, cardiotoxicidad y disminución de la secreción de insulina respectivamente (Rincón, 2016).

7.5. DISLIPIDEMIAS

La dislipidemia (o dislipemia) es una elevada concentración plasmática de lípidos (colesterol, triglicéridos o ambos) o una concentración baja de colesterol rico en lipoproteínas (HDL), que contribuyen al desarrollo de aterosclerosis. Las causas pueden ser primarias (genéticas) o secundarias. El diagnóstico se basa en la medición de las concentraciones plasmáticas de colesterol total, triglicéridos y lipoproteínas individuales. El tratamiento comprende cambios dietéticos, ejercicio y fármacos hipolipemiantes (Goldberg, 2018).

Existen tres vías para el transporte de las lipoproteínas en el organismo:

7.5.1. Vía exógena

Transporta los lípidos de la dieta desde el intestino a sus diferentes destinos metabólicos en diversos tejidos. Los triglicéridos, colesterol y fosfolípidos que provienen del intestino son ensamblados en los quilomicrones (QM) que contienen la apo-B 48 sintetizada en el intestino, ésta es una apoproteína B más corta que la B100 de origen hepático (Peñañiel, 2018).

Los QM a medida que circulan van perdiendo TG y van haciéndose más pequeños y densos, enriqueciéndose más en colesterol, transformándose en remanentes de QM. Casi todos los TG que son transportados por los QM son utilizados en los tejidos extrahepáticos mientras que casi todo el colesterol es entregado nuevamente al hígado (Peñañiel, 2018).

7.5.2. Vía endógena

Es un sistema mediado por apo B100 de síntesis hepática que forma parte de la estructura de las VLDL; IDL y LDL. Esta vía se inicia en el hígado donde primero se ensamblan y luego se secretan las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Peñañiel, 2018).

Las LDL constituyen los principales transportadores del colesterol plasmático hacia los tejidos, sin embargo, el 75% de la captación de las LDL ocurre en el hígado, el resto en las suprarrenales y tejido adiposo. Para que el proceso se realice es

esencial la presencia de apo B 100 y de receptores para su reconocimiento (Peñafiel, 2018).

7.5.3. Vía para el transporte del colesterol desde la periferia al hígado (vía de retorno).

Es un sistema mediado por apo AI, contenido en las HDL, utilizado en el transporte del colesterol desde la periferia hacia el hígado. Este sistema está interconectado con la vía exógena y endógena del transporte de lípidos. Sirve de reservorio circulante para apoproteínas: apo C-I, apo C-II y apo E. Las partículas HDL derivan de precursores complejos aportados por el hígado e intestino (Peñafiel, 2018).

La presencia de apo E en las HDL facilita posteriormente la captación por los receptores hepáticos y su catabolismo. La función principal de las HDLs es el intercambio de colesterol libre y su esterificación. Las HDL al captar el colesterol de las membranas celulares, reducen el colesterol almacenado dentro de las células al momento que éste se desplaza para reemplazar el colesterol retirado de las membranas (Peñafiel, 2018).

7.6. EFECTOS DE FIBRAS SOBRE OBESIDAD

Las fibras alimentarias solubles y no solubles son algunos de los ingredientes elegidos en el caso del control de peso, existen numerosas razones para elegir a las fibras como complemento ideal (Calvo, 2019).

En primer lugar, su consumo contribuye a aumentar la sensación de saciedad, limitando la excesiva ingesta de calorías (poseen menos calorías en el mismo volumen de alimento). Como requieren de un mayor tiempo de masticación, también satisfacen las funciones mecánicas relacionadas con el comer. Ambas cuestiones son fundamentales para el control del apetito y la adhesión a una dieta que pueda llegar a ser exitosa (Reyna, 2015).

Las fibras solubles hacen más lento el vaciamiento gástrico y aumentan su distensión. Son capaces de disminuir la absorción de grasas y azúcares de los alimentos, por lo que contribuyen a regular los niveles de colesterol, glucosa en sangre y disminuyen el aporte final de energía. Por otro lado, su alta capacidad de absorber agua hace que las fibras aumenten el volumen de las heces y agilicen su evacuación (Almeida, *et al.*, 2014).

(Del Arco, 2016), define: "la fibra dietética es la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de la planta. Las fibras dietéticas promueven efectos beneficiosos fisiológicos como el laxante, y/o atenúa los niveles de colesterol en sangre y/o atenúa la glucosa en sangre".

7.7. EFECTOS DE POLIFENOLES SOBRE OBESIDAD

Los compuestos fenólicos pueden actuar como agentes antiobesogénico mediante distintos mecanismos. Los principales son:

- Supresión del apetito.
 - Estimulación del gasto energético.
 - Regulación del metabolismo de lípidos.
 - Disminución de la ingesta de energía proveniente de carbohidratos y lípidos.
- (Agüera, 2017).

Sin embargo, se ha visto que el mecanismo de acción de los compuestos fenólicos depende de factores como el tipo y biodisponibilidad (Agüera, 2017).

Los efectos de los polifenoles son fundamentalmente consecuencia de sus propiedades antioxidantes. Estos compuestos presentan efectos vasodilatadores, son capaces además de mejorar el perfil lipídico y atenúan la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), la concentración de estas aumenta ligeramente a medida del envejecimiento (Goldberg, 2018). Presentan claros efectos antiinflamatorios y estos compuestos son a su vez capaces de modular los procesos de apoptosis en el endotelio vascular (Hernández, 2016). Los polifenoles mantienen el endotelio sano, regulan la respuesta inflamatoria y la disminuyen (Gutiérrez, 2018).

7.8. ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT) Y ASPARTATO TRANSAMINASA (AST)

La ALT es más específica de daño hepático que la AST, debido a que la primera se localiza casi exclusivamente en el citosol del hepatocito, mientras que la AST, además del citosol y mitocondria, se encuentra en el corazón, músculo esquelético, riñones, cerebro, páncreas, pulmón, eritrocitos y leucocitos (Durani, 2014).

La elevación sérica de transaminasas se correlaciona con el vertido a la sangre del contenido enzimático de los hepatocitos afectados, aunque la gradación de la elevación enzimática puede no relacionarse con la gravedad lesional. Así, pues, se puede considerar la enfermedad hepática como la causa más importante del aumento de la actividad de la ALT y frecuente del aumento de la actividad de la AST (García & Zurita, 2017).

7.9. LOS RATONES

El ratón es un mamífero de sangre caliente con hábitos nocturnos y comportamiento influenciado por feromonas. Tiene habilidades sensoriales como el olfato, que le permite distinguir su territorio, localizar parejas para la actividad sexual, así mismo distinguir entre individuos de su misma familia e intrusos. El sentido del tacto le permite los movimientos en la oscuridad y la orientación a seguir (Villa, 2019).

En el laboratorio los ratones CD-1 se alteran por sonidos de muy baja frecuencia, por lo que hay que tener cuidado con los equipos que se utilizan dentro del mismo, por su pequeño tamaño son muy susceptibles a cambios ambientales, puesto que una variación de la temperatura entre 2 a 3°C, puede afectar su temperatura corporal y modificar su fisiología (Ramos, 2015).

Los animales deben ser alimentados con dietas apetitosas, no-contaminadas y nutricionalmente adecuadas, diariamente o de acuerdo a sus requerimientos particulares, a menos que el protocolo en el que están siendo empleados lo demande de otra manera (Cedeño, 2013).

Se caracterizan por un agudo sentido del oído capaz de distinguir sonidos ultrasónicos (de 22 kHz a 90 kHz). Perciben la profundidad y detectan movimientos a 10 m. El desarrollado sentido del gusto le permite descubrir sustancias amargas, ácidas y tóxicas; son susceptibles a los cambios de temperatura, afectando su fisiología (Ambriz, *et al.*, 2018).

El patrón reproductivo se caracteriza por ser una especie poliéstrica, con un ciclo estral de duración de 4-5 días, con celo de 12 horas. El periodo de gestación es de 19 a 21 días con un promedio de 8 a 10 crías por camada (Geréz & Gullace, 2015), el tamaño del ratón adulto varía entre 12 a 15 cm desde la punta de la nariz a la punta de la cola, el largo de la cola es igual al largo del cuerpo y con un peso aproximado de 30 g (Ramos, 2015).

Tiene un sistema inmune y genoma similar al de los seres humanos. El ciclo de vida del ratón va 1 a 1.3 años, lo que le permite ser un modelo ideal en las investigaciones en muchas generaciones y en tiempos cortos (López, 2014).

Cuadro 3. Clasificación Taxonómica

TAXONOMÍA	
ESPECIE	<i>M. musculus</i>
GÉNERO	<i>Mus</i>
FAMILIA	<i>Muridae</i>
ORDEN	<i>Rodentia</i>
CLASE	<i>Mammalia</i>
FILO	<i>Chordata</i>
REINO	<i>Animalia</i>
DOMINIO	<i>Eukarya</i>

Fuente: Elaborado por (Sarmiento, 2018)

7.10. LOS RATONES COMO ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los ratones son los animales que más se usan en investigaciones biomédicas en el laboratorio, porque en ellos se puede estudiar la evolución y tratamiento de numerosas enfermedades que afectan a las personas (Flores, 2018).

Aunque no son los únicos animales que se emplean en los laboratorios para llevar a cabo investigaciones *in vivo*, los ratones son los más utilizados porque sirven como un valioso ejemplo para averiguar cómo reacciona el organismo de un mamífero frente a una agresión, una infección o una intoxicación experimental. Se utilizan sobre todo para realizar estudios de biotecnología y en la industria médico farmacéutica con el fin de desarrollar nuevos productos biológicos (vacunas, anticuerpos monoclonales), probando la eficacia y seguridad de todo tipo de medicamentos (Salabert, 2019).

Los ratones se consideran un modelo animal excelente porque son pequeños, manejables, fáciles de criar en cautividad y con un ciclo vital rápido, se ha comprobado que son muy útiles para reproducir y analizar con detalle procesos como el cáncer, enfermedades infecciosas y aquellas asociadas a mutaciones genéticas, así como para estudiar el funcionamiento del sistema inmune (Vera, 2018).

Actualmente, los ratones son el modelo animal preferido para estudiar patologías como diabetes, hipertensión, obesidad, enfermedades autoinmunes, trastornos renales y desórdenes del comportamiento (Flores, 2018).

7.11. RATONES CD-1

Los ratones CD-1 destacan entre los ratones de uso más común en la investigación como un stock exogámico (los ratones endogámicos son referidos como cepas, mientras que los exogámicos son referidos como stocks) (Johnson, 2018).

7.11.1. Visión General

CD1 IGS (también conocido como Crl: CD1 (ICR)) es una cepa albina de modelo de ratón que se ha utilizado con frecuencia en toxicología e investigación farmacológica, es la variedad más popular de ratones exogámicos (Maze, 2018).

7.11.2. Características Físicas

Los ratones CD1 IGS son albinos. Una característica notable de los ratones CD1 IGS es su gran diversidad genética, que es similar a la que se encuentra dentro y entre las poblaciones humanas (Maze, 2018).

7.11.3. Características de Comportamiento y Manejo

Los ratones CD1 IGS han sido descritos como dóciles, suaves y bastante fáciles de manejar. Si bien no se pudieron encontrar datos detallados sobre la facilidad de manejo de esta cepa, estas descripciones sugieren fuertemente que CD1 IGS es una cepa que muestra un comportamiento de evasión, lucha y agresividad mínima cuando es atrapado y retenido (Maze, 2018).

7.11.4. Características de Salud

Dada la naturaleza exógena de los ratones CD1 IGS, sus linajes tienen una tendencia mucho menor a adquirir y retener anomalías genéticas que confieren enfermedades graves que las cepas consanguíneas comúnmente utilizadas (Maze, 2018).

La cepa tiene un buen rendimiento reproductivo con camadas grandes, y sus características maternas se han descrito como excelentes, con un canibalismo neonatal muy poco frecuente (Maze, 2018).

Al igual que con muchas cepas populares, los ratones CD1 IGS poseen un alelo mutante fosfodiesterasa 6, que confiere déficits visuales desde una edad temprana, y finalmente ceguera completa (Maze, 2018).

VIII. METODOLOGÍA

La investigación experimental se realizó en los laboratorios Agropecuarios de la Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Medicina Veterinaria, Parroquia Lodana del Cantón Santa Ana, localizada geográficamente en el centro sur de la provincia de Manabí con una latitud de -1.208256 y una longitud de -80.370215, limita al norte con los cantones Portoviejo y Pichincha, al sur con los cantones Olmedo y 24 de Mayo, al este con el cantón Pichincha y la provincia del Guayas y al oeste con los cantones Portoviejo, 24 de Mayo y Jipijapa.

Figura 1. Vista aérea de los Laboratorios Veterinarios - UTM



Fuente: Gráfica Tomada de Google Earth

8.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de estudio realizado fue investigativa y experimental, permitió observar y analizar de un grupo de animales, empleando los conocimientos previamente existentes, donde se evaluó el estado nutricional y hepático de ratones CD-1 inducidos a obesidad, y suplementados con harina de cáscara de mango, mediante parámetros zométricos y la concentración sanguínea de enzimas transaminasas: ALT y AST.

8.2. ELABORACIÓN DE LA HARINA DE CÁSCARA DE MANGO

Para la obtención de la harina de cáscara de mango (*Mangífera indica L*), se siguió el procedimiento siguiente:

- **Recepción de la materia prima:** Las cáscaras de mango eran de la variedad del mango “Miguelillo” maduros, provenientes del Cantón Santa

Ana. Presentaban un color amarillo verdoso en el momento de la recepción y fueron transportadas en envases plásticos.

- **Selección y clasificación:** Se realizó con la finalidad de eliminar las cáscaras deterioradas y oscuras.
- **Lavado:** El lavado se realizó con agua potable para eliminar restos de partículas extrañas, suciedad y tierra de la superficie del fruto.
- **Extracción de la cáscara:** Se procedió a hacer un corte en la parte superior del mango y con una ligera presión se separó la cáscara de la pulpa.
- **Secado:** Las cáscaras fueron llevadas a un secador, en bandejas metálicas horizontales, y se las trató con aire forzado a 55 °C, durante 2 días.
- **Molienda:** Para la molienda se empleó un molino manual.
- **Envasado:** Una vez lista la harina, se empacó en bolsas de polipropileno, que fueron debidamente selladas para evitar la humedad del medio.

8.3. INSTALACIONES Y EQUIPOS

Se utilizó una batería metálica, de 40 compartimientos, con una dimensión de 21 x 17 x 30 centímetros, en cada compartimiento se alojó un animal. Respecto al pesaje de los ratones, la grasa abdominal y la preparación del alimento balanceado se efectuó con una balanza digital de 1000 g \pm 0.1g. Para la obtención de datos post mortem se necesitó de equipos de disección y una balanza digital, finalmente para el análisis de bioquímica sanguínea se requirió un analizador bioquímico PKL PPC 115 y los reactivos correspondientes.

8.4. ANIMALES EXPERIMENTALES

Treinta y seis (36) ratones machos de la línea CD-1, de 10 semanas de edad, con un peso aproximado de 25 gramos, fueron adquiridos en el Bioterio del Instituto Nacional de Salud Pública (INSPI), Guayaquil.

8.5. DURACIÓN DEL TRABAJO

El trabajo experimental tuvo una duración de 13 semanas; una semana de adaptación, ocho semanas para la fase 1 y cuatro semanas para la fase 2.

8.5.1. ETAPA 1

Los treinta y seis (36) ratones de la línea CD-1, de 10 semanas de edad llegaron a los Laboratorios Agropecuarios de la Universidad Técnica de Manabí donde se desarrolló el estudio. Los ratones fueron pesados de forma individual, obteniendo

pesos promedio $21 \pm 3,3$ gr y se los colocó de forma aleatoria en sus jaulas correspondientes.

La primera semana se utilizó para la adaptación de los ratones a las nuevas condiciones 4.5 gramos de alimento un convencional. A partir de la segunda semana, se dio por iniciada la primera etapa del trabajo, administrando para este entonces 5 gr del alimento control a un grupo de 18 ratones, en tanto que, a otro grupo similar, se le suministró una dieta hiperlipídica (en el que el contenido de grasa en la dieta fue superior al 30%).

En ambos tratamientos, se realizó el pesaje individual de los ratones cada 3 días; se realizó una desparasitación para la prevención de ácaros utilizando Tademectyn, su principio activo Ivermectina, en bovinos se aplica sobre el lomo del animal desde la cruz hasta la base de la cola, la dosis recomendada es 10 ml 100 kg de peso vivo, mientras que en aves se aplica bajo la cloaca 0.3 ml por ave (6 gotas), por lo que a los ratones se les administró 0.15 ml por ratón (3 gotas) en el lomo de cada animal durante la segunda semana del experimento.

8.5.2. ETAPA 2

Culminado la etapa anterior, se dio inicio a las 4 semanas restantes del trabajo donde se suministró harina de cáscara de mango (HCM) a la dieta de los animales, creando 6 tratamientos, los que se detallan a continuación:

T1: Dieta convencional, 0% harina de cáscara de mango (HCM).

T2: Dieta convencional, 4% de HCM.

T3: Dieta convencional, 8% de HCM.

T4: Dieta hiperlipídica, 0% de HCM.

T5: Dieta hiperlipídica, 4% de HCM.

T6: Dieta hiperlipídica, 8% de HCM.

Cada tratamiento constó de seis repeticiones, y cada una de ellas, de un ratón, asignado aleatoriamente.

Igual que en la primera etapa, los pesajes se realizaron cada 3 días. Así mismo, se efectuó una nueva desparasitación con Tademectyn, su principio activo Ivermectina, a los ratones se les administró 0.15 ml por ratón (3 gotas) en el lomo de cada animal. Los ratones recibieron 6 gr de alimento diariamente, se pesó el alimento sobrante y desperdiciado, a fin de calcular el consumo de alimento de cada ratón.

El consumo del alimento se calculó diariamente y el agua se administró a voluntad, pesando el alimento previo a ofrecer a los ratones. De la misma manera, se recogieron y pesaron los alimentos desperdiciados ofrecidos el día anterior.

Las dietas, que proporcionaron los nutrientes acordes a los requerimientos de la especie, se almacenaron en recipientes plásticos adecuadamente identificados. El valor nutricional estimado de la dieta se expresa en el cuadro 4.

Cuadro 4. Valor nutricional alimento para ratones CD-1

INSUMOS (%)	CONVENCIONAL			HIPERLIPIDICA		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Harina de maíz	67.6	62	57.5	36.2	31.5	27.2
Soya 47%	26.2	26.5	26	31.3	31	30.8
Manteca de cerdo	3.7	5.0	6	30	31	31.5
Carbonato de calcio	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Cloruro de sodio	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
DL-Metionina	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Premezcla	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Fosfato Bicálcico	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Harina cáscara mango	0	4	8	0	4	8
Total (%)	100	100	100	100	100	100
COMPOSICIÓN NUTRICIONAL						
Humedad*	12.42	11.87	11.35	8.84	8.32	7.86
EM (Kcal)	3509	3447.4	3369.8	4802.8	4724.7	4621
Proteína*	17.65	17.55	17.5	17.57	17.25	17.01
Grasa*	6.38	7.5	8.35	31.64	32.49	32.85
Fibra*	2.76	3.02	3.29	2.27	2.53	2.81

Fuente: Elaboración propia.

Culminadas las etapas experimentales, previo ayuno nocturno de 12 horas, se procedió al sacrificio de los animales utilizando una inyección intraperitoneal (IP) de una mezcla de xilazine (25 mg/Kg) y ketamine (150 mg/Kg); conforme lo señala (Schoell, *et al.*, 2009).

Se obtuvo el peso y la longitud nasoanal de cada ratón, adicionalmente se pesó la grasa abdominal, el hígado, corazón, riñones y páncreas, de cada animal. También se tomó una muestra de sangre de cada ratón para analizar la concentración sérica de colesterol total, ALT (Alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa).

El peso de cada uno de los animales y sus respectivos órganos y grasa abdominal se determinó utilizando una Balanza Electrónica de Bolsillo - escala eha251 - precisión 0,1 g - capacidad 500g – Camry. En tanto que la longitud naso anal de cada ratón se midió utilizando un escalímetro de Vernier, Mitutoyo 530 – 122, 0 mm-150 mm rango, 0,03 mm exactitud, considerando la longitud de los animales desde el ano hasta la nariz.

Por otra parte, la para determinar la concentración sérica de colesterol total y transaminasas se tomó una muestra de sangre (entre 1 ml y 1,5 ml), que fueron centrifugados a 2000 rpm y durante 15 minutos, del suero obtenido se evaluó la concentración de los analitos en estudio, mediante utilizando un espectrofotómetro marca paramedicals, modelo PKL 115, siguiendo las indicaciones establecidas por el proveedor.

8.6. DISEÑO ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como promedios \pm Desviación Estándar e intervalos de confianza (I.C) de 95% y se analizaron mediante Análisis de Varianza (ANOVA), utilizando el Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 3x2. El modelo propuesto es:

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 consideraron diferencias significativas cuando p-valor fue inferior al 5% ($p < 0,05$) y en caso de serlo, se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey.

En caso de no cumplirse las condiciones para realizar un análisis de varianza, se optó por transformaciones logarítmicas de los datos; si aun así no se establecía condiciones de normalidad y homogeneidad de varianza, el análisis estadístico se desarrolló con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Los resultados se procesaron con el paquete estadístico Minitab versión 16,0.

8.7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Previo al inicio del experimento, el protocolo de investigación fue evaluado por el Comité de Bioética de la Universidad Técnica de Manabí. Oficio No: UTM II 2018-011-OF de enero 25/2018, Folio: 020-03, Tomo: 20-3-1.

8.8. MATERIALES

8.8.1. Materiales de Campo

- Bandejas plásticas
- Bebederos
- Bidón con agua
- Bisturíes
- Comederos
- Cuchillos
- Desinfectantes
- Frascos recolectores de muestras
- Fundas recolectoras de basura
- Guantes
- Mandiles
- Papeles (cama y recolector de residuos)
- Tachos plásticos (almacenamiento de alimentos)
- Tijera
- Utensilios de limpieza

8.8.2. Materiales y Equipos de Laboratorio

- Aire acondicionado
- Autoclave
- Balanza EK3650-31P Camry (Pesos)
- Balanza Electrónica de Bolsillo - escala eha251 - precisión 0,1 g - capacidad 500g - Camry (Alimentos)
- Bolígrafo
- Cajas de puntas para micropipetas
- Espectrofotómetro PKLPPC - Pokler Italia 115 - Chemistry Analyzer
- Extractor de aire
- Hojas de registros
- Kit de disección
- Mandil
- Marcador
- Mesa de necropsia
- Pinzas
- Micropipetas Monocanal EN ISO 8655

- Puntas para micropipetas de 200 y 1000 μ l
- Tubos con gel separador

8.8.3. Materiales De Oficina

- Bolígrafos
- Carpeta de registros
- Grapadora
- Hojas de papel bond
- Impresora
- Laptop
- Pendrive
- Perforadora

8.8.4. Reactivos e Insumos

- Carbonato Cálcico
- Cloruro de sodio
- Formol
- Fosfato Bicálcico
- Harina de cáscara de mango
- Harina de maíz
- Mangos
- Manteca de cerdo
- Metionina
- Premezcla
- Reactivos ALT, AST, colesterol
- Soya

8.8.5. Recursos Humanos

- **Estudiantes tesistas:** Stalin Delgado, Jesús Pita.
- **Tutor de tesis:** Dr. Sixto Leonardo Reyna Gallegos.
- **Colaboradores:** Dr. Víctor Montes, Ing. Katherine Moreira y Gregorio Arteaga.

8.8.6. Recursos Económicos

- Financiado por estudiantes tesistas.

IX. RESULTADOS

• Etapa 1

El consumo de alimento (dietas control e hiperlipídica) y el peso de los ratones, registrados semanalmente y cada tres días, respectivamente, durante las 8 semanas de la primera etapa, se aprecian en el gráfico 1.

Gráfico 1. Consumo de alimento y peso de la primera fase

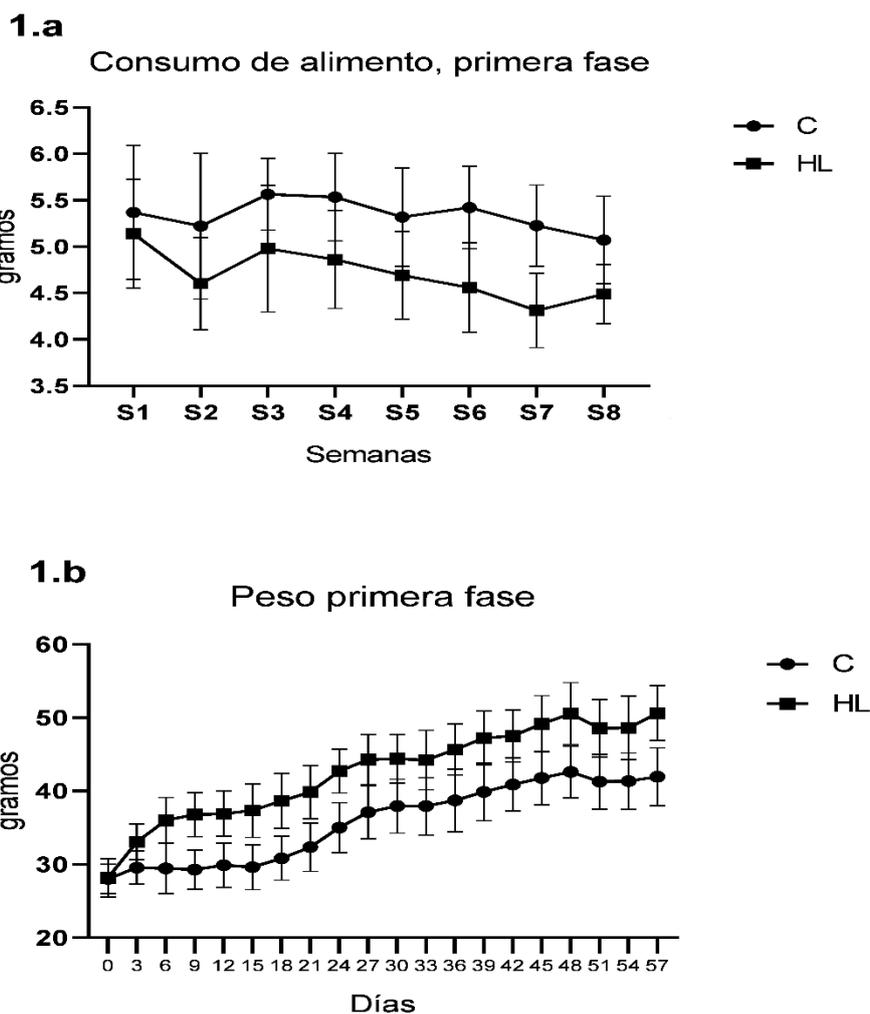


Gráfico1. Consumo de alimento durante la primera fase del experimento (1.a); Peso de los ratones en la primera fase del experimento (1.b). C: Dieta Control; HL: Dieta hiperlipídica

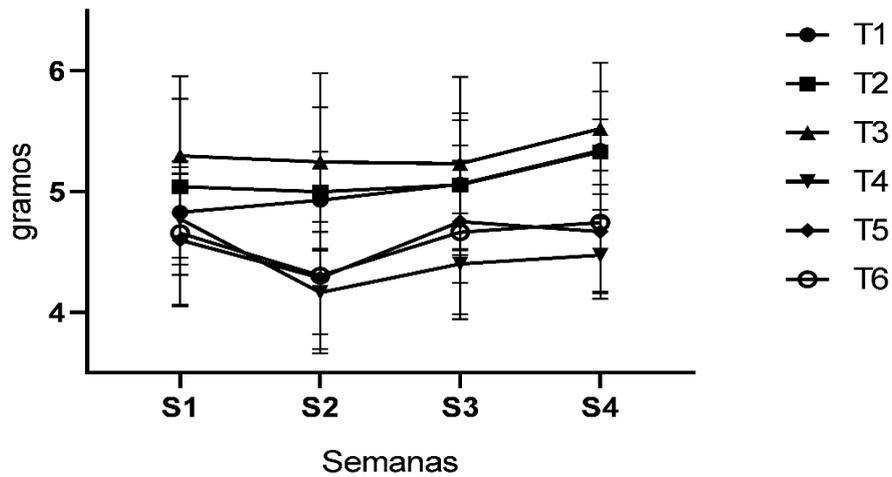
A excepción de la primera semana, el consumo de alimento fue mayor entre los ratones alimentados con la dieta control. Sin embargo, los ratones que consumieron la dieta hiperlipídica obtuvieron mayor peso, excepto en el día 0.

- **Etapa 2**

El consumo de alimento con los respectivos 6 tratamientos en las dietas control e hiperlipídica, durante las 4 semanas de esta etapa, se aprecian en el gráfico 2.

Gráfico 2. Consumo de alimento y peso de la segunda fase

2.a
Consumo de alimento, segunda fase



2.b
Peso, segunda fase

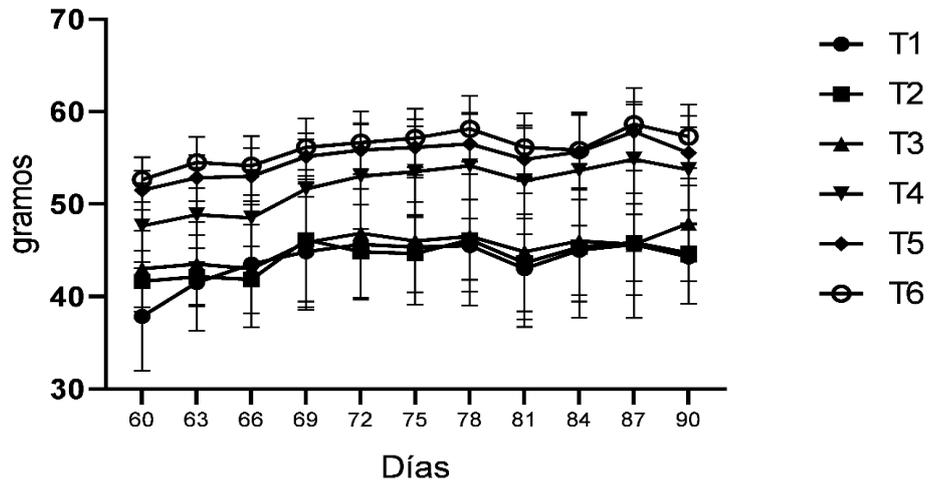


Gráfico 2. Consumo de alimento durante la segunda fase del experimento (2.a); peso de los ratones en la segunda fase del experimento (2.b). T1: Control (C); T2: C + 4%HCM; T3: C+8% HCM; T4: dieta hiperlipídica (HL); T5: dieta HL+4% HCM; T6: dieta HL+8% HCM.

El consumo de alimento en las tres últimas semanas fue mayor en los tratamientos T1, T2 y T3 en comparación a los tratamientos T4, T5 y T6. Estas diferencias se atribuyen al contenido de lípidos en la dieta. La harina de cáscara de mango no influyó sobre el consumo de alimentos. Así mismo, no se observó interacción D x HCM. Respecto al peso durante la etapa final, se observa que los ratones que consumieron dietas hiperlipídicas presentaron mayor peso desde el inicio hasta el final de esta etapa. Este efecto se atribuye al contenido de lípidos en la dieta, en tanto que la HCM no influyó en el peso de los ratones; tampoco se observó interacción entre los factores en estudio.

Se observa que los ratones alimentados con dietas hiperlipídicas contienen mayor peso y longitud que los alimentados con la dieta control, este efecto se atribuye al factor dieta, mientras que el factor harina de cáscara de mango no influyó sobre el consumo de alimentos. Así mismo, no se observó interacción D x HCM.

El peso relativo del corazón no es diferente entre tratamientos porque se encuentra en rango superior al p valor siendo igual en el páncreas e hígado, mientras que el peso relativo de los riñones y la grasa abdominal se observa diferencia entre tratamientos. Estas diferencias no se pueden atribuir a que factor corresponde porque no se observó interacción.

En los niveles correspondientes al colesterol se puede observar la presencia de diferencia entre los tratamientos porque el p valor se encuentra por debajo de 0.05, sin embargo, estas diferencias no se pueden atribuir a que factor corresponde porque no se observó interacción. La concentración sérica de ALT y AST no fue diferente entre tratamientos. Así mismo, la relación ALT/AST, no muestran diferencias significativas entre tratamientos.

Los parámetros zoométricos, peso, longitud, peso relativo de los órganos y grasa abdominal de los roedores, observando las dietas control e hiperlipídica, se encuentran detalladas en el cuadro 5.

Cuadro 5. Parámetros Zoométricos

	TRATAMIENTOS						P valor		
	C	C+4% HCM	C+8% HCM	HL	HL+4%HCM	HL+8%HCM	Dieta	HCM	C* HCM
Peso (g)	42.3 (b)	44.3 (b)	44.9	53.0	56.25	58.3 (a)	<0.001		
Longitud (cm)	10.73 ± 0.69 (ab)	10.52 ± 0.38 (a)	10.50 ± 0.27 (a)	11.05 ± 0.40 (b)	10.93 ± 0.55 (ab)	11.16 ± 0.39 (b)	0.0056	0.6805	0.6463
IMC	0.394	0.425	0.422	0.423	0.468	0.449	0.072		
PR corazón (%)	0.43	0.39	0.39	0.37	0.36	0.37	0.3281		
PR riñón (%)	1.45	1.62	1.75	1.41	1.46	1.32	0.021 (KW)		
PR páncreas (%)	0.48	0.50	0.63	0.42	0.47	0.38	0.0548 (KW)		
PR hígado (%)	4.47	4.44	4.68	3.92	3.95	3.98	0.051 (KW)		
PR grasa abdominal (%)	4.09	3.57	5.09	6.65	7.27	8.09	0.0025 (KW)		

P: Peso; PR: Peso relativo, dieta control, dieta control + 4% de harina de cáscara de mango, dieta control + 8% de harina de cáscara de mango, dieta hiperlipídica, dieta hiperlipídica + 4% de harina de cáscara de mango, dieta hiperlipídica + 8% de harina de cáscara de mango. Los valores representan el promedio ± y la desviación estándar. El valor P representa diferencias Significativas entre tratamientos (p≤0,05). Letras diferentes en las filas indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos

El análisis bioquímico muestra el colesterol, ALT, AST y la relación entre ambas, sobre los tratamientos de dietas control e hiperlipídica, se encuentran detalladas en el gráfico 3.

Gráfico 3. Análisis bioquímico

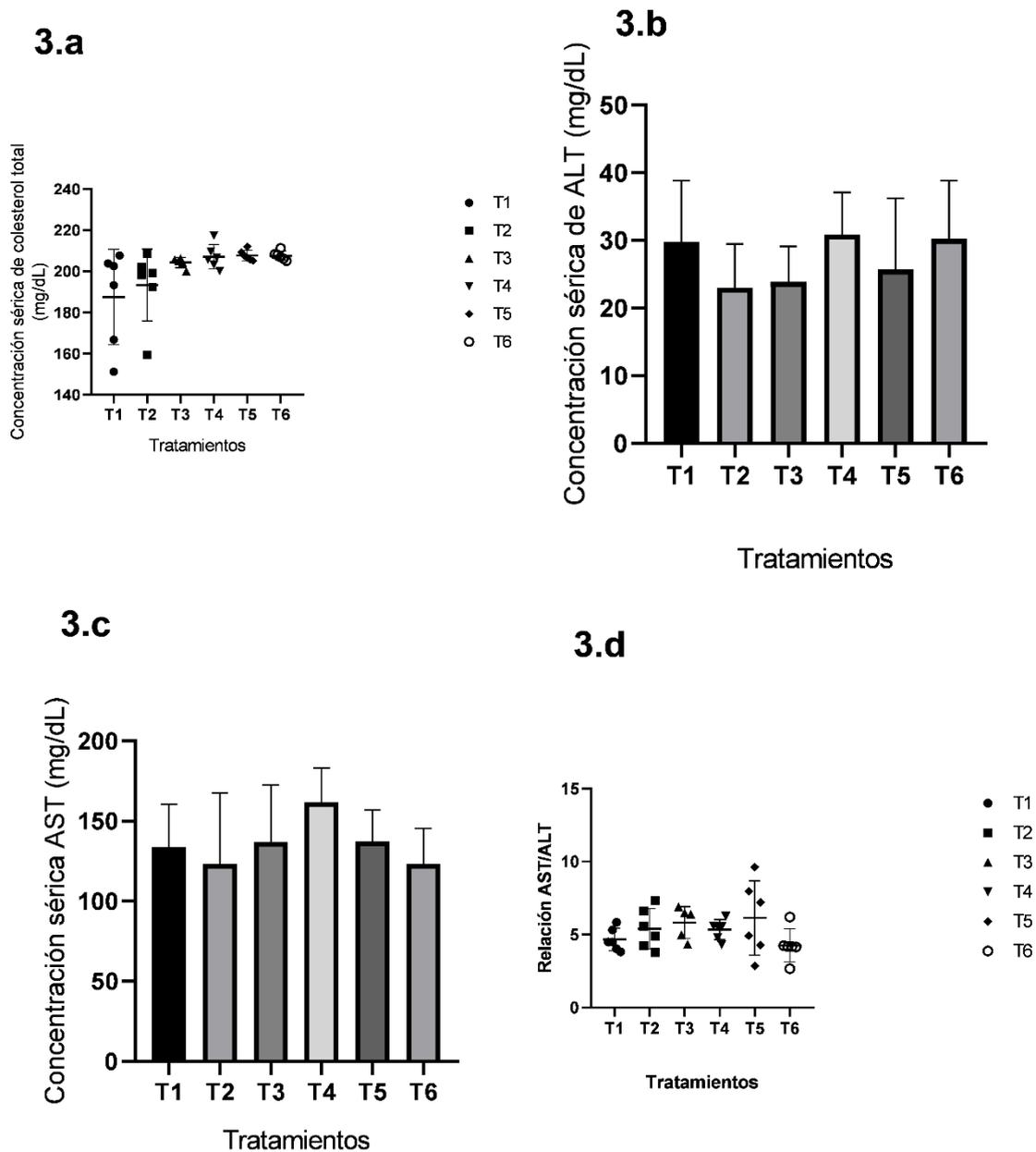


Gráfico 3. Análisis bioquímico. 3. a. Concentración sérica de colesterol total, 3.b Concentración sérica de ALT (mg/dL); 3.c: Concentración sérica de AST (mg/dL); 3.d. Relación AST/ALT: AST: Aspartato aminotransferasa; ALT: Aspartato aminotransferasa.

X. DISCUSIÓN

10.1. Consumo de alimento

En el consumo del alimento, de las dos etapas desarrolladas durante 12 semanas consecutivas en dicha investigación, se pudo observar que existe un mayor consumo en las dietas control, lo que concuerda con el trabajo de Winzell y Ahren, (2004). Así mismo, Lutz, *et al.*, (2018) reportó que la ingesta de alimento fue más baja en las dietas altas en grasa en comparación a la dieta control, lo cual es debido al mayor aporte energético.

Lo reportado por Acosta y Vélez (2019) muestra que los ratones que consumieron dietas sin grasa y con adición de harina de cáscara de mango tuvieron menos consumo que los ratones con dietas hiperlipídicas con adicción de cáscara de mango, presuntamente el mayor consumo en la dieta hiperlipídica fue por los niveles altos en dosis de manteca de cerdo generando la posibilidad de enmascarar el sabor de la HCM, indicando que no se concuerda con estos resultados porque en esta investigación el consumo de alimento mayor de los ratones fue en los que consumieron dietas sin grasa con harina de cáscara de mango.

10.2. Parámetros zoométricos

En el presente estudio, se observó cómo los ratones que consumieron dietas hiperlipídicas obtuvieron un mayor peso a diferencia de los que consumieron dieta convencional, similar con los resultados obtenidos en la investigación de Flowers y Mickelson (2010) donde indican que la dieta hipercalórica alta en grasa, incrementó el peso corporal en ratones machos C57BL/6NHsd.

La investigación realizada por Gaytan (2018), indica que las dietas altas en grasa son palatables para los roedores, la cual aportó 56.2% kcal de grasa como consecuencia de la adición de ácidos grasos saturados presentes en la manteca de cerdo. En torno a esto, en el presente estudio, la grasa abdominal de los ejemplares que recibieron una dieta hiperlipídica fue significativamente mayor a la de los ratones alimentados con una dieta convencional. Este mayor contenido energético explica lo que menciona en el párrafo anterior: en dietas hiperlipídicas los ratones consumen menos alimentos, debido a que la dieta hiperlipídica, con menor volumen, hay mayor disponibilidad de energía.

Además, en el presente estudio se demuestra que los animales alimentados con dietas grasas, generan un mayor peso corporal, concordando con la investigación realizada por Bustos (2019) donde se indica que la acumulación de grasa en los tejidos metabólicamente activos, incluyendo la esteatosis hepática, contribuyeron al desarrollo del síndrome metabólico en general.

Por su parte Díaz, *et al.*, (2017) explica que el consumo excesivo de dietas que contienen grasas saturadas lleva a que los lípidos que no se oxidan se depositen en forma de grasa corporal, incrementando el peso, lo que provoca claramente la obesidad en ratas.

Según el estudio realizado por Díaz, *et al.*, (2017) ratas Wistar, alimentadas con dieta alta en grasa consumieron más calorías, lo que contribuyó a incrementar la acumulación de tejido adiposo gonadal, abdominal y visceral, sin que aumentara significativamente el peso corporal. En la presente investigación se concuerda parcialmente con los resultados antes mencionados pues se observó mayor deposición de grasa abdominal en las ratas que alcanzaron un mayor peso corporal al consumir dietas hiperlipídicas.

Guzmán, *et al.*, (2020) señalan que el aumento del tejido adiposo es una condición que precede al aumento de peso y a la presentación de síntomas relacionados con la obesidad, concordando con este estudio, porque la adición de manteca de cerdo en las dietas hiperlipídicas, generó el aumento de la grasa abdominal e incremento de peso.

En el presente trabajo, se pudo observar que el peso tiene un mayor rango de valores en los animales que se les administró dietas hiperlipídicas; estos hallazgos se comparan con los de Matallana y Martínez (2013), quienes estudiaron, durante cinco semanas, dos grupos de ratones de la cepa C57b16/J, de nueve semanas de edad, encontrando que al grupo al que se administró dieta sin grasa suplementada con fibra, obtuvo una ganancia de peso menor en comparación al grupo que se administró dieta hiperlipídica.

Fuentes y Ramírez (1997), en su investigación con 50 ratones NMRI/UCLA, de 14 semanas de edad reportan que la dieta sin grasas contenían niveles más altos en el peso del hígado (0.96 g) (0.91 g) (0.92 g), en relación a los alimentados con dietas grasas, obteniendo pesos de hígado de (0.66 g) (0.68 g) (0.62 g), mencionando que la alta actividad metabólica del ratón, tiende a limitar la cantidad de grasa en estos animales, esto es, un factor en gran parte responsable por la alta relación entre el

peso corporal y el peso de los órganos en estas especies, comparando estos resultados con el presente estudio, se puede decir que existe similitud porque en los ratones alimentados con dietas hiperlipídicas se observó una tendencia a un menor peso relativo del hígado en comparación a los ratones alimentados con dieta convencional.

Según, De Carvalho & Thomasini (2014), el peso relativo del corazón de los ratones alimentados con dietas control es superior al de ratones alimentados con dietas hiperlipídicas, lo que coincide a lo reportado en la presente investigación. Así mismo, los resultados del presente estudio coinciden con lo reportado por Candela (2003), que observó mayor peso relativo del corazón en ratones NMRI/UCLA alimentados con dietas con bajo contenido en grasa, en comparación a ratones alimentados con una dieta hiperlipídica.

Lo reportado por Quiñones, *et al.*, (2012) indican que la concentración de polifenoles en el plasma es muy variable, es necesario ingerir estos compuestos de forma reiterada a lo largo del tiempo para mantener sus concentraciones elevadas en el plasma. Principalmente, se encuentran en aquellos tejidos donde se han metabolizado (tejido hepático, estomacal, intestinal, colónico y nefrítico), pero además también pueden acumularse en tejidos dianas específicos, como el tejido pulmonar, el pancreático, el cerebral, el cardíaco y el tejido esplénico.

Beltrán (2011) en su investigación indica que los animales de dieta control ganaron el doble de peso que los animales tratados con dieta rica en grasa, aunque la ingesta de comida no mostró diferencias entre grupos. La pérdida de peso se debió exclusivamente a una reducción en la cantidad de grasa corporal, este resultado obtenido de esta investigación puede dar hincapié a que los polifenoles influyan en el peso de los ratones ya que estimula los sistemas endógenos de defensa antioxidante, y también de reduce los niveles de LDLs.

10.3. Bioquímica sanguínea

Poveda (2011), en su estudio indica que una ingesta alta de grasas, particularmente saturadas, incrementa los valores plasmáticos de colesterol total, observando que existe similitud con esta investigación realizada, porque los animales con dietas grasas presentan colesterol en niveles altos, por tanto, estos incrementos posiblemente se deban por la dieta suministrada; como lo confirma el estudio realizado

por Del Pozo, *et al.*, (2017), donde observaron que se presentó un aumento significativo tanto en el colesterol plasmático total como LDL-colesterol, en los ratones que consumieron dietas altas en grasas saturadas.

En el estudio realizado por Paredes (2020), con 35 ratones machos albinos cepa BALB/c de tres meses de edad se observó que el colesterol disminuyó ligeramente en el grupo que no tenían dietas con contenido graso, se concuerda con lo indicado por el autor en este trabajo.

Según lo reportado por Guzmán, *et al.*, (2017) en su estudio con 10 ratas adultas tipo Wistar después de una dieta alta en fructosa las ratas tuvieron disminución en la capacidad aeróbica, aumento de triacilglicéridos y aumento de la relación ASL/ALT, al comparar con el este estudio se puede observar que los ratones en estudio no mostraron modificaciones en la concentración sérica de las enzimas transaminasas.

Scull, *et al.*, (2020), la actividad sérica de la enzima ALT difirió en ratones machos que recibieron el tratamiento control que contenía la premezcla de antioxidante, la actividad enzimática de la ALT en el grupo control de los machos no tuvo diferencias significativas entre los grupos a los que se le añadió el extracto de polifenoles, se concuerda con esta investigación.

Lo reportado por Busto y Herrero (2015) indican que las transaminasas son enzimas cuya elevación en sangre indica destrucción de las células que las contienen y un aumento marcado de estas enzimas suele indicar una importante destrucción de células hepáticas, lo que indica que en este trabajo de estudio no existió destrucción de las células por que las transaminasas no tuvieron ningún tipo de incremento.

Fernández, *et al.*, (2008) señalan que en la función hepática los incrementos leves o moderados de ALT y AST son típicos del daño hepático crónico, valores en este rango con una relación AST/ALT menor de 1 ayudan a distinguir esteatohepatitis no alcohólica de la enfermedad hepática relacionada con el alcohol.

Los resultados presentados en el trabajo de Scull, *et al.*, (2020) mostraron que la harina de forraje de *M. pruriens* y su extracto de polifenoles poseen actividad antioxidante y funciones hepatoprotectoras, refiriéndose generalmente a la disminución de la síntesis de proteínas, esto no permitió que se afectara la capacidad biosintética del hígado, realizando una similitud con este trabajo.

Scull, *et al.*, (2020), en las ratas macho Sprague Dowley los niveles séricos de la enzima AST no tuvieron diferencias significativas en los grupos control y aquellos que consumieron el tratamiento de la harina.

XI. CONCLUSIONES

Una vez culminada la investigación se concluye que:

Se incrementó la harina de cáscara de mango y esta no ocasionó ningún efecto sobre la concentración sérica de colesterol; observando que los ratones con dietas convencionales obtuvieron mayor consumo de alimento que los ratones con dietas hiperlipídicas.

La harina cáscara de mango no afectó en la concentración sérica, ni la relación AST/ALT entre tratamientos.

El peso de los ratones que recibieron el alimento convencional fue menor que el de ratones que recibieron una dieta hiperlipídica; el mayor peso relativo de sus órganos se atribuye al menor peso corporal, que a su vez es consecuencia de la alimentación recibida.

XII. RECOMENDACIONES

Una vez culminada la investigación se recomienda que:

Investigar la utilidad de la cáscara de mango en la prevención del sobrepeso y obesidad de bio modelos como ratas y ratones.

Se realicen estudios en ratones hembras porque estas a diferencias de los machos cumplen un período estral, así mismo, período de preñez y lactancia.

Trabajar con cáscaras de otras frutas que se desperdician en abundancia, como, por ejemplo, las cáscaras de piña, de plátano, entre otros.

Prologar el tiempo de estudio, aumentando el número de ejemplares y trabajar con harinas de diferentes tipos de cáscaras en una misma investigación.

Que se evalúe la utilidad de la harina de cáscara de mango en la alimentación para animales de producción.

Cuadro 6. Presupuesto

	Concepto	Unidades	V. Unitario	V. Total
Sala crianza	Ratones	36 unidades	5	180
	Transporte ratones	Viaje Guayaquil	120	120
	Alimento	30 kg	2	60
	Premezcla, metionina y minerales		15	15
	Pintura de jaulas		50	50
	Agua	10 bidones	1,5	15
	Cortes de varillas de vidrio		20	20
	Mango	4 cajas	5	20
	Guantes	15 paquetes x 50 pares	8	120
	Formol	2 L	4	8
Materiales	Recipientes orina	36	0,5	18
	Perfil lipídico plasma	TAG, LDLc, HDLc, Colesterol total	500	500
Análisis de laboratorio	Elaboración placas histológicas	90	3	270
	TOTAL			1396

Cuadro 7. Cronograma

	Septiembre 2019				Octubre 2019				Noviembre 2019				Diciembre 2019				Enero 2020				Febrero 2020			
	S 1	S 2	S 3	S 4	S 1	S 2	S 3	S 4	S 1	S 2	S 3	S 4	S 1	S 2	S 3	S 4	S 1	S 2	S 3	S 4	S 1	S 2	S 3	S 4
Adquisición de materiales, equipos e insumos	X	X																						
Adaptación de animales experimentales			X																					
Trabajo experimental				X	x	X	x	X	x	X	x	X	X	X	X									
Análisis de laboratorio															X	x								
Tabulación de datos																	X	x						
Redacción del informe final																			X	X	x	x		
Sustentación de Tesis																								X

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- Acosta, I., & Vélez, G. (2019). 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. *Universidad Técnica de Manabí*, 69.
- Agüera, M. (2017). Efecto de un suplemento de polifenoles y cafeína sobre la composición corporal, calidad de vida, sueño y estado del ánimo en adultos con sobrepeso y obesidad. *Universidad Católica de Murcia*, 210-314.
- Alavos, E. (2015). ¿Qué es la dislipidemia?, *Hospital Luis Vernaza*.
- Almeida, S., Aguilar, T., & Hervert, D. (2014). La fibra y sus beneficios a la salud. *Scielo*, 27(1), 5-46.
- Ambriz, D., González, M., Navarro, M., Rodríguez, G., Trejo, A., & Vargas, B. (2018). Manejo de animales del Bioterio de la UAM-I. *Universidad Autónoma Metropolitana*, 63-74.
- Ayala, I., Cámara, P., Fernández, J., Flores, I., Cáscales, A., Gutiérrez, C., Valdés, M., Castells, M., & García, B. (2008). Modelos animales experimentales de enfermedad de hígado graso y síndrome metabólico. *Universidad de Murcia*, 24(5), 6-12.
- Baciero, G. (2016). Las fibras: distintos tipos, distintos beneficios. *MayoClinic*, 26-48. http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/auxiliarveterinario/15/15-fibras.pdf
- Báez, L., & Borja, A. (2013). Elaboración de una barra energética a base de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) como fuente de Omega 3 y 6. *Universidad San Francisco de Quito*, 86-117.
- Betancur, D., Santos, J., Cantón, C., & González, M. (2019). Mermelada enriquecida con fibra dietética de cáscara de Mango (*Mangifera indica L*). *Universidad Autónoma de Yucatán*, 32(1), 2-9.
- Bravo, R. (2016). Estudio cronobiológico de la ingesta de dietas hipergrasas en ratas sobre los ritmos circadianos actividad/inactividad, glucosa, triacilglicérols, colesterol total, colesterol HDL, albúmina y actividad fagocitaria en neutrófilos. *Universidad de Extremadura*, 21(3), 56-88.
- Briceño, A., & Percy, J. (2015). Efecto de la emulsión Imh-e1410 sobre el perfil lipídico, el estrés oxidativo, la inflamación y la expresión de los genes PPARα, ACO, FAS, ACC Y NF-B en ratas obesas. *Universidad Peruana Cayetano Heredia*, 12-63.
- Burton, B., Sandhu, A., & Edirisinghe, I. (2018). El mango y sus componentes bioactivos: Agregando variedad al platillo de fruta de la salud. *Universidad de California*, 40-66.
- Bustos, M. (2019). Efectos de la administración de extracto de azorella compacta sobre la hipertrofia cardiaca diabética. *Universidad de Talca*, 23-50.

- Bustos, V., & Herrero, C. (2015). Pruebas de función hepática: B, AST, ALT, FA y GGT. Servicio de Gastroenterología. Hospital Universitario Río Hortega.
- Caballero, L., & Gonzalés, G. (2016). Alimentos con efecto anti-inflamatorio. *Acta Médica Peruana*, 33(1), 50-64.
- Cachofeiro, V. (2015). Alteraciones del colesterol y enfermedad cardiovascular. *Universidad Complutense de Madrid*, 1-10.
- Calvo, F. (26 de 05 de 2019). Fibras, ingredientes perfectos: nutricionales, funcionales y tecnológicos. *Techpress*, 28-37.
- Candela, E. (2003). Peso de los órganos en relación al peso corporal en ratones c57bl/6 y nmri/ucla. *Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado*, 12(2), 12-25.
- Cedeño, E. (2013). Formulación, elaboración y control de calidad de un alimento balanceado para ratones de experimentación (mus musculus) del bioterio de la escuela de bioquímica y farmacia de la espoch. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*, 100-146.
- Cedeño, J., & Zambrano, J. (2014). Cáscaras de piña y mango deshidratadas como fuente de fibra dietética en producción de galletas. *Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí - Manuel Félix López*, 56-98.
- De Carvalho, & Thomazini. (2014). Study of Wistar Rats Heart at Different Stages in the Evolutionary Cycle. *Scielo*, 32(2), 614-617.
- De la Cruz, H. (2019). Identificación de las principales plagas y enfermedades en el cultivo de Mango (*Mangifera indica* L) variedad Tommy en la Parroquia de Ambuquí, Cantón Ibarra, Provincia de Imbabura. *Universidad Técnica de Babahoyo*, 12-37.
- De la Fuente, R., Fernández, N., & Román, D. (2019). Nutrición en el hígado graso no alcohólico. *Nutrición Clínica en Medicina*, 6-41.
- Del Arco, J. (2016). Fibra alimentaria. *El Farmaceutico*, 7-20.
- Del Pozo, R., Mardones, L., Villagrán, M., Muñoz, K., Roa, S., Rozas, F., & Muñoz, M. (2017). Efecto de una dieta alta en grasas en el proceso de formación de cálculos biliares de colesterol. *Scielo*, 1099-1105.
- Díaz, D., Escartín, R., López, V. & Mancilla, J. (2017). Efectos de una dieta con alto contenido de grasas sobre patrones conductuales alimentarios. *Acta Colombiana de Psicología*, 21(1), 95-105, <http://www.dx.doi.org/10.14718/ACP.2018.21.1.5>.
- Diéguez, M., Soca, P., Rodríguez, R., López, J., & Ponce, D. (2017). Prevalencia de obesidad abdominal y factores de riesgo cardiovascular asociados en adultos jóvenes. *Scielo*, 43(3), 7-30.
- Durani, Y. (2014). Análisis de sangre: aspartato aminotransferasa (AST). *Rady Childrens*.

- Farrooq, U., Asif, A., Akram, K., Hayat, Z., Shafi, A., Sarfraz, F., & Aftab, S. (2016). The therapeutic potentials of bioactive compounds from mango fruit wastes. *ScienceDirect*, 53, 102-112, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.004>.
- Fernández, C. (2017). El 30 por ciento de la población mundial tiene exceso de peso. *El tiempo*.
- Fernández, E., Fernández, E., Moreno, I., & Moreno M. (2008). Aproximación al diagnóstico de enfermedades hepáticas por el laboratorio clínico, *Medicina&Laboratorio*, 14: 533-546.
- Flores, D. (2018). Anatomía macroscópica de los sistemas de órganos en la rata. *Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 2-9.
- Flowers, & Mickelson. (2010). Efecto de la mezcla de ácido linoleico conjugado, cis-9, trans-11 y trans-10, cis-12, en la respuesta a la insulina en un modelo experimental diabetizado con dieta hipercalórica. *Faspyn*.
- Frías, A. (2016). Popotes hechos a base de un bioplástico de cáscara de mango. *Feria de las ciencias*, 10-25.
- Fuentes, M., & Ramírez, J. (1997). Peso de los órganos en relación al peso corporal en ratones nmri/ucla. influencia de las variables edad, sexo y su combinación. *Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado*, 2-17.
- García, M., & Zurita, A. (2017). Transaminasas: Valoración y significación clínica. *Hospital Universitario Virgen Macarena*, 2-9.
- Gaytan, Y. (2018). Efectos de la dieta post ablactación sobre la maduración postnatal del islote pancreático y su relación con la diabetes mellitus tipo 2. *Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco*, 25-66.
- Geréz, G., & Gullace, P. (2015). Reproducción en animales de laboratorio. *Universidad de Buenos Aires*, 10-22.
- Goldberg, A. (2018). Dislipidemia. *Manual MSD*.
- Gómez, G., & Guzmán, O. (2019). Alternativas de valorización para el residuo de mango (*Mangifera indica* L.) mediante el uso de biotecnología tradicional en el departamento de Atlántico. *Universidad Libre Seccional Barranquilla*, 101-187.
- Guatemala Morales, G. M., Fernández Flores, O., Pérez, F. J., Medina Rendon, E. A., Virgen Navarro, L., García Fajardo, J. A., & Arriola Guevara, E. (2014). Nuevos productos a partir de residuos de mango. *Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco*, 105-276
- Gutiérrez, G. (2018). Flavonoides en el tratamiento de la hipertensión en pacientes geriátricos. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 56(1), 3-11.

- Guzmán, C., Albarrán, J., Gómez, R., Quevedo, E., & Baeza, G. (2017). Alteración de pruebas de función hepática en ratas tras consumo de refresco de cola. *Universidad Juárez Autónoma de Tabasco*, 22(1), 50-53.
- Guzmán, C., Forman, K., & Sánchez, R. (2020). Efectos de una Dieta con Alto Contenido de Grasas sobre Parámetros Alimentarios y Tejido Adiposo Blanco Visceral de Ratas Sprague Dawley. *Scielo*, 38(3). <http://dx.doi.org/10.4067/S07-95022020000300611>
- Hernández, D. (2016). Contenido de polifenoles de subproductos agrícolas y agroindustriales de la vega baja del seguro. *Universidad Miguel Hernández de Elche*.
- Huampa, E. (2016). Efecto de la temperatura y tiempo de escaldado sobre el contenido de vitamina c, carotenoides y capacidad antioxidante en la pulpa de mango (*Mangifera indica*) variedad haden. *Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial*.
- Igarashi, K., & Inagaki, K. (1991). Effects of the Major Anthocyanin of Wild Grape (*Vitis coignetiae*) on Serum Lipid Levels in Rats. *Yamagata University*.
- Johnson, M. (2018). Ratones y ratas de laboratorio. *Labome*.
- Julca, E., & Linares, G. (2019). Potencial alimentario de productos obtenidos a partir de residuos industriales de mango (*Mangifera Indica*). *Universidad Nacional de Trujillo*, 2(5). 22-54.
- Larios, I., Campos, K., Padilla, M., & Villanueva, S. (2016). Introducción a la tecnología del mango. *Repositorio Institucional*, 201-276.
- Lizárraga, C., & Hernández, C. (2018). Polifenoles de la cáscara de mango para la acuicultura. *Ciencia*, 69(1), 3-6.
- López, Á. (2014). La comparación de los genomas del ratón y del humano, clave para el estudio de enfermedades. *Biomedicina*.
- López, R. (2018). Efecto de la sustitución parcial de harina de trigo (*Triticum aestivum* L.) por cáscara de mango (*Mangifera indica* L.) var. kent en polvo sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de galletas dulces. *Universidad Privada Antenor Orrego*.
- Lutz, M., Avaria, R., & Luna, L. (2018). Efecto de una dieta alta en grasa que contiene piñón de pino sobre el peso corporal y de órganos en ratas. *Scielo*, 20(1). <http://dx.doi.org/10.17533/udea.penh.v20n1a02>
- Martínez, S., Carrillo, R., González, E., Jiménez, E., Morales, R., Sánchez, L., & López, G. (2019). Mango (*Mangifera indica* L.) pulping byproducts: antioxidant activity and bioactive compounds of three mango cultivars antioxidant activity by-products of mango. *Revista Bio Ciencias*, 6(5). 11-20. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e560>
- Matallana, M., & Martínez, M. (2013). Efecto de dieta con distinto contenido de fibra en el peso. *Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas*, 15-58.

- Maze, E. (2018). CD1 IGS Mouse Strain. *Conductscience*.
- Mero, E. (2018). Mangifera Indica. *Universidad Central del Ecuador*, 3-8.
- Moreno, M. (2012). Definición y clasificación de la obesidad. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(2), 124-128. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(12\)70288-2](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(12)70288-2)
- Morocho, E. (2017). Investigación de la actividad antioxidante del fruto Mangifera Indica I. (mango) cultivada en Ecuador. *Universidad Central del Ecuador*, 56-109.
- OMS. (2018). Obesidad. *Organización Mundial de la Salud*.
- Paredes, J. (2020). Efecto del pulverizado de la cáscara del Mangifera indica H. (mango) sobre la toxicidad hepática inducida por etanol en ratones. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 23-66.
- Peñafiel, J. (2018). Metabolismo de las lipoproteínas. *Seen*, 10-34.
- Poveda, E. (2011). Evaluación de procesos relacionados con el control de grasa corporal en ratas wistar alimentadas con dieta alta en grasa y tratadas con péptidos similares a leptina. *Pontificia Universidad Javeriana*, 56-194.
- Proaño, F. (2018). Frutas tropicales: fuente de compuestos bioactivos naturales en la industria de alimentos. *Universidad Técnica de Norte*.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Universidad Complutense*, 27(1), 76-89. DOI:10.3305/nh.2012.27.1.5418
- Ramos, J. (2015). Manejo de animales de laboratorio. *Salud y Medicina*, 12-31.
- Reyna, N. (2015). El apetito, la saciedad y la respuesta glicémica del consumo de meriendas de predominio proteico en individuos sanos y obesos. *Universidad de Córdoba*, 23-77.
- Rincón, A. (2016). Fisiopatología de la obesidad. *Universidad Complutense de Madrid*, 9-20.
- Rubinstein, A., Colantoniol, L., Bardachl, A., Caporalel, J., García Martíl, S., Kopitowski, K., & Pichón-Rivière, A. (2010). Estimación de la carga de las enfermedades cardiovasculares atribuible a factores de riesgo modificables en Argentina. *Scielo*.
- Rubio, A. (2015). Origen e Historia del mango en el Ecuador, Características, Variedades de mango en el Ecuador. *Universidad Técnica de Machala*, 3-9.
- Saalfeld, K. (2019). Cáscara de mango: Beneficios para la salud. *Cherada Network*.
- Salabert, E. (2019). ¿Por qué se utilizan ratones en el laboratorio?, *Webconsultas*.
- Sarmiento, M. (2018). Taxonomía. *ISSUU*, 3-10.

- Scull, I., Savón, L., Spengler, I., & Herrera, M. (2020). Evaluación de la actividad antioxidante y hepatoprotectora de la harina de forraje de *Mucuna pruriens* (L) vc. utilis y su extracto de polifenoles en ratas Sprague Dowley. *Universidad de La Habana*. 54(2).
- Solórzano, S. (2018). Dislipidemias. *Academia española*. 35-61.
- Suárez, W., Sánchez, A., & González, J. (2017). Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual. *Scielo*, 44(3), <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182017000300226>
- Torres, C., Rojas, R., Contreras, J., Serna, L., Belmares, R., & Aguilar, C. (2016). Mango seed: Functional and nutritional properties. *Science Direct*, 55, 109-117, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.06.009>
- Vaquero, M., Blanco, R., & Toxqui, L. (2014). Nutrición y Anemia. *Manual de Nutrición Kelloggs*, 5-10.
- Vargas, M. (2018). El potencial de la cáscara de mango. *Centro de Investigación de Alimentación y Desarrollo*.
- Vargas, M., Figueroa, H., Tamayo, J., Toledo, V., & Moo, M. (2018). Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos. *Ciencia Ergo-Sum*, <https://doi.org/10.30878/ces.v26n2a6>
- Vera, O. (2018). ¿Por qué los ratones son los animales de laboratorio?, *Hisal*.
- Verdugo, N. (2015). Creación e implementación de un centro innovador de comercialización del mango en el cantón Milagro. *Universidad Estatal de Milagro*.
- Villa, L. (2019). Experimentación con animales de laboratorio. *Universidad Ricardo Palma*, 3-6.
- Wax, E. (2018). Fibra dietética: esencial para una dieta saludable. *Mayo Clinic*.
- Winzell, & Ahren. (2004). Contribución de los modelos animales al estudio de la obesidad. *Laboratory Animals*, 42, 413-432.

ANEXOS

Figura 2. Limpieza y mejoramiento de jaulas

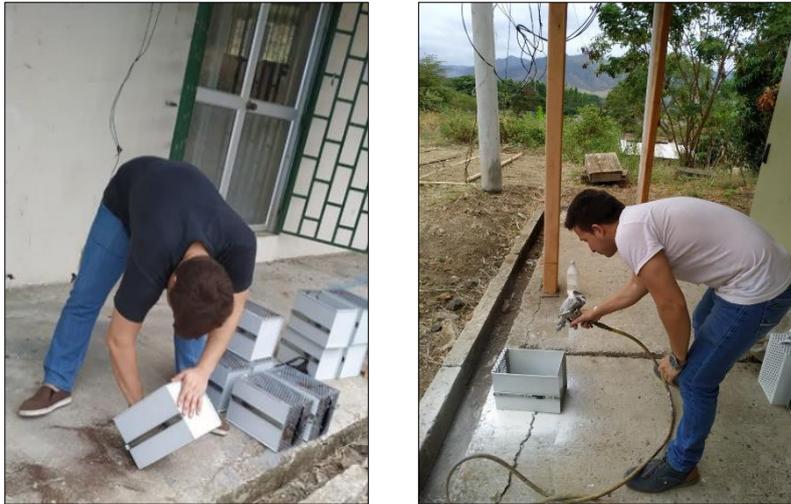


Figura 3. Retiro de los 36 biomodelos del Bioterio del Instituto Nacional de Salud Pública (INSPI)



Figura 4. Pesaje de los ratones



Figura 5. Cáscaras de mango



Figura 6. Secado de cáscaras de mango



Figura 7. Molienda de las cáscaras de mango para elaboración de la harina



Figura 8. Sacrificio de los ratones previo ayuno nocturno de 12 horas



Figura 9. Medición de la longitud naso anal, utilizando un escalímetro de Vernier



Figura 10. Extracción sanguínea de los ratones



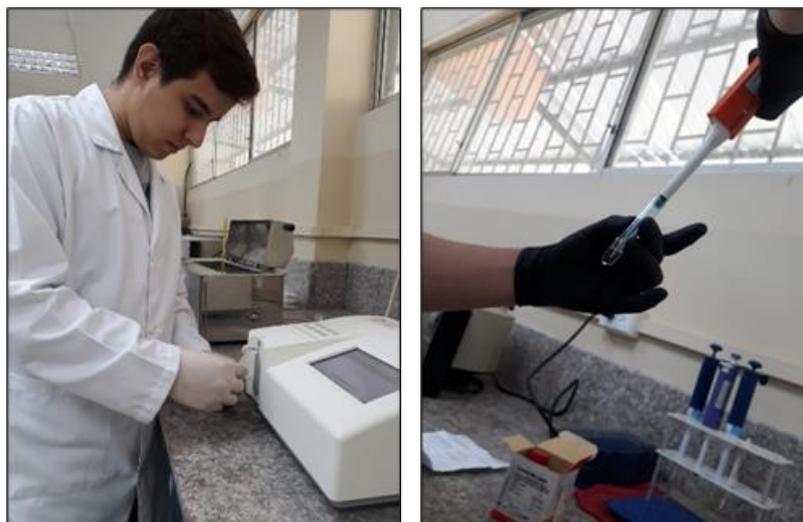
Figura 11. Extracción de los órganos y grasa abdominal



Figura 12. Órganos y grasa abdominal reposando en formol



Figura 13. Analizador químico PKL PPC 115 y Espectrofotómetro paramedicals.





COMITÉ DE BIOÉTICA INSTITUCIONAL
UTM



DOCUMENTO II

DICTAMEN DEL COMITÉ DE BIOETICA 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 este Comité, emite el siguiente Dictamen.

El Trabajo Investigación. Efecto de la suplementación dietaria con harina de cáscara de mango (*Mangifera indica L*) sobre el estado nutricional y hepático de ratones CD-1 inducidos a obesidad

Código -----Versión uno a cargo de: Sixto Leonardo Reyna Gallegos. como Investigador Principal, sometido a Revisión y Votación por PRIMERA vez, durante la sesión celebrada el día 25 mes MARZO de 2020 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.*



Firmado electrónicamente por:

ALFREDO
LAZARO MARIN
PEREZ



Firma:

Dr. Alfredo Lázaro Marín Pérez
Presidente CBI-UTM

Folio: 020-03 Tomo: 20-3-1 Fecha: _____