

Trabajo Original

Toxicología Experimental

Estudio histológico del efecto del *Allium sativum* en ratas *BIO: Wistar* hipercolesterolémicas inducidas por dieta.

Contreras-Vera Ana¹ y De Jesús Rosa^{1,2}.

1. Bioterio Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela
2. Lab. de Fisiología Animal. Dpto. de Biología. Fac. de Ciencias. Universidad de Los Andes.

Resumen

En este trabajo se valoró el efecto del alimento nutracéutico (*Allium sativum*) conocido popularmente como "ajo", en un grupo de ratas *BIOU:Wistar* hipercolesterolemicas para lo cual se valoró la condición anatomopatológica y la histología del corazón y el hígado. Se indujo la hipercolesterolemia alimentándolas con grasa de origen vegetal y alimento comercial. Las ratas usadas fueron 28 machos de la línea *BIOU:Wistar*, con un peso entre $347 \pm 23,2$ a $395 \pm 36,7$ g, estas se distribuyeron en cinco (5) grupos: G1: dieta convencional; G2: ratas hipercolesterolémicas; G3: ratas hipercolesterolémicas + 10 mg / Kg de Lovastatina; G4: ratas hipercolesterolémicas + 100 mg / Kg de *Allium sativum*; G5: ratas hipercolesterolémicas + 100 mg / Kg de *Allium sativum* + 10 mg / Kg de Lovastatina; el tratamiento fue suministrado durante 9 semanas, luego de verificarse la condición de hipercolesterolemia mediante la valoración sanguínea del colesterol total y el colesterol HDL. Las medidas se realizaron al inicio, previo y postratamiento, la extracción de sangre se realizó mediante vía retro-orbital luego de la sedación de los animales. La comparación de los valores obtenidos previo a la inducción de la hipercolesterolemia y previo a la aplicación de los tratamientos presentaron diferencias significativas de colesterol total ($p= 0,0197$), más no de colesterol HDL ($p= 0,3359$) para $p < 0,05$ indicando la efectividad de la dieta para producir hipercolesterolemia. La comparación de los valores previo al tratamiento y post tratamiento no presentaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de colesterol total para un $p < 0,05$ para ninguno de los valores sanguíneos valorados, evidenciándose la no efectividad de los tratamientos. A pesar de los resultados bioquímicos sanguíneos, se encontró a nivel de la evaluación histopatológica que el hígado y el corazón presentaron lesiones en los ratones de los grupos G2, G4 y G5 las cuales no fueron observadas en los ratones de los grupos G1 y G3, indicando que los ratones tratados con el fármaco comercial no presentaron lesiones, sin embargo los tratados con el ajo más el fármaco comercial, si presentaron lesiones histológicas pudiendo ocurrir un efecto antagónico de ambos principios, lo cual conlleva a continuar estudios relacionados para verificar esta condición.

Palabras clave: hipercolesterolemia, colesterol, lípidos de alta densidad, dieta.

Abstract

Histological studies of the liver and heart of BIOU: Wistar with hyperlipidemic condition induced by diet and treatment with *Allium sativum*.

The effect of the nutraceutical food (*Allium sativum*), commonly named as "garlic"; was study in hyperlipidemic rats evaluating the anatomical conditions of the liver and heart. The rats were fed with vegetable fats and commercial food. Twenty eight (28) male rats of *BIOU:Wistar* line was used with weigths between $347 \pm 23,2$ a $395 \pm 36,7$ g. These rats were grouped as follow: G1: conventional diet (5 rats); G2: vegetable fats diet (5 rats); G3: vegetable fats diet + 10 mg / Kg de Lovastatine; G4: vegetable fats diet + 100 mg / Kg de *Allium sativum*; G5: vegetable fats diet + 100 mg / Kg de *Allium sativum* + 10 mg / Kg de Lovastatine; they were treated during nine weeks. The measures were realized at the onset of hyperlipidemic condition, previous to treatment and post- treatment, the way of blood extraction was retro - orbital previous anesthetic. The values obtained at the start and previous treatment presented significative differences in total cholesterol ($p = 0,0197$), high density lipids (HDL) not presented statistically significative differences ($p = 0,3359$) to $p < 0,05$ these indicates the efficiency of the diet for the hyperlipidemic production. The comparation of the values previous to treatment and post - treatment not presented statistically significative differences in the any blood values to $p < 0,05$, it signifies that the treatment were not efficient. In spite of injuries observed in the liver and heart histopathology in the groups G2, G4 and G5, the G1 y G3 did not present injuries. These injuries in the groups of rats treated with garlic and lovastatine are indicative of a possible antagonistic effect, so more studies have to be done.

Key words: hyperlipidemic condition, cholesterol, lipids density high, diet.

Introducción

Dentro del gran número de patologías relacionadas con alteraciones en la alimentación, desplazando a la anorexia nerviosa y a la bulimia, se encuentran las dislipidemia la cual es considerada como un problema principal (1, 2, 3).

Las dislipidemias es la presencia de la elevación anormal de la concentración de grasas en la sangre (colesterol, triglicéridos, colesterol de alta y baja densidad - HDL y LDL). En el caso de la hipercolesterolemia, ésta se caracteriza por el aumento de la concentración de los niveles de colesterol, y la hipertrigliceridemia, es el aumento de trigliceridos en sangre, la presencia de una, otra o ambas aumentan el riesgo de aterosclerosis (4), esta última se da por el incremento de estas partículas en el torrente sanguíneo favoreciendo el depósito de placas de ateromas en el interior de las arterias, conllevando a la manifestación en gran parte del riesgo de enfermedades cardiovasculares (5). Las hipertrigliceridemias van unidas a valores altos de colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), esta es la dislipidemia que se observa con mayor frecuencia en pacientes tratados (6).

A nivel mundial, las dislipidemias son tratadas con cambios en el estilo de vida de la población, además de la administración de fármacos determinados como las lovastatinas, sin embargo en la actualidad muchas personas se inclinan hacia el consumo de alimentos nutraceuticos o alimentos funcionales con supuestos beneficios para evitar la progresión de enfermedades (7).

La Academia Nacional de Ciencia de Los Estados Unidos, define a un alimento funcional o nutraceutico, como cualquier alimento o componente alimenticio con función nutritiva o no, que proporciona un beneficio a la salud, comprobado científicamente su potencial inhibitorio o de tratamiento de enfermedades (8).

Dentro de los alimentos nutraceuticos se mencionan al ajo cuyo nombre científico es *Allium sativum* (*Allium* que significa ardiente o caliente; *sativum* significa cultivado), es una especie monocotiledónea perteneciente a la familia de las Alliaceae que incluye a más de 500 especies del género *Allium*.

El uso del ajo (*Allium sativum*) en el tratamiento de enfermedades o en la cura de estas, es una tradición popular altamente difundida, y algunos estudios se discuten el uso terapéutico y las propiedades farmacológicas de éste en la reducción de hiperlipidemias (9, 10, 11, 12, 13), sin embargo aún no está bien definido el beneficio de éste en las patologías de hipercolesterolemias.

En este trabajo se comparó a nivel anatomopatológico e histológico del hígado y del corazón, el efecto del ajo (*Allium sativum*) en ratas *BIOU:Wistar* que experimentalmente

se hicieron hiperlipidemicas mediante la dieta, con el efecto que tiene el suministro de lovastatinas.

Materiales y Métodos

Al iniciar el trabajo, se realizó el período de aclimatación de los animales en el área de experimentación del Bioterio de la Universidad de Los Andes (BIOULA), estos fueron alojados individualmente en cajas metálicas. Bajo barreras sanitarias, con esterilización (120 °C / 20 min), del material (cáscara de arroz) de cama y el agua; y con pasteurización (120 °C / 1 min), del alimento comercial ratarina marca Protinal. Los cubículos contaron con las siguientes condiciones ambientales: un periodo 12 horas luz y 12 horas oscuridad, una temperatura que osciló entre los 20 – 24°C. Durante el período de acondicionamiento los animales fueron alimentados con 20 gramos diarios por animal de alimento.

Luego de la aclimatación, las ratas experimentales fueron alimentadas con el alimento comercial (ratarina) y grasa vegetal (margarina sin sal marca Mirasol con 900 Kcal), para ocasionar la condición de hipercolesterolemia, la dieta se preparó en una mezcla 1:1 (ratarina: grasa vegetal), la cual se suministró diariamente durante 9 semanas. El alimento se suministró a voluntad de los animales al igual que el agua. Todos los animales fueron pesados semanalmente durante el tiempo de la experiencia incluyendo la semana de aclimatación, para calcular la ganancia de peso.

El total de 28 animales, ratas Wistar machos con un peso aproximado de 350 g – 450 g, fueron distribuidos en cinco grupos experimentales. El diseño experimental se planteó de la siguiente manera:

G1: grupo control negativo (-): compuesto por cuatro ratas alimentadas con alimento comercial ratarina. G2: grupo control positivo (+): con cinco ratas a las que se les suministró 60 g de grasa vegetal, G3 con 6 ratas: tratamiento (10 mg de lovastatina / Kg peso), G4: con seis ratas: tratamiento (100 mg de ajo / Kg de peso en 0,5 mL agua estéril). G5 con seis ratas: tratamiento (10 mg de lovastatina / Kg + 100 mg / Kg ajo en 0,5 mL de agua estéril).

Se realizó el pesaje de los animales durante las 9 semanas de la experiencia para observar la ganancia de peso de los mismos. Al inicio de la adaptación, previo al tratamiento y post- tratamiento se tomaron muestras de sangre vía retro-orbital, previo al procedimiento los animales fueron anestesiados con 10 cc de Ketamina + 0,1 cc de Xilacina por cada 100 g de peso. El volumen de muestra obtenido fue de 1,5 mL del cual se obtuvo 700 microlitros de suero para realizar las pruebas bioquímicas de colesterol

total y colesterol de alta densidad (DHL). Se utilizó para la evaluación del colesterol el kit Cromatest de colesterol total, Bioscience y de lipoproteína de alta densidad.

Posttratamiento una vez realizada la extracción de sangre, se realizó la necropsia a los animales con la finalidad de hacer un examen anatomopatológico y comparar anatomía macroscópica: color y aspecto de los órganos de interés, igualmente se tomaron muestras de corazón e hígado con la finalidad de realizar estudios histológicos mediante la técnica convencional del procesamiento mediante parafina, se realizaron cortes de 4 μm y coloración Hematoxilina : Eosina (14).

Para la preparación del extracto de *Allium sativum*, se tomaron 500 dientes de ajo de tamaño mediano a grande, se limpiaron y se separaron en dos bolsas de papel previamente rotuladas en la estufa a una temperatura de 70 °C por ocho días; se llevaron a un procesador de alimentos previamente esterilizado para así obtener un polvo con una concentración 100 %, siendo envasado en eppendorf de 2 mL.

Para el análisis de los datos se realizaron pruebas de Kolmogorov Smirnov aceptándose la hipótesis nula: los datos no se distribuyen con normalidad para un nivel de significancia de $p < 0,05$. Se realizó una prueba de Kruskal - wallis para aceptar la hipótesis nula, H_0 : no existe diferencias estadísticamente significativas entre los valores de bioquímica sanguínea (colesterol total y de alta densidad - HDL), para las ratas sometidas a los tratamientos de lovastatina, *Allivum sativun* y lovastatina más *Allivum sativun*.

Resultados

En la **Tabla 1**, se presentan los promedios de la ganancia de pesos de los animales en los distintos grupos involucrados en la experiencia, al inicio de la adaptación, previo al tratamiento y postratamiento.

En la tabla se puede observar que todos los animales tuvieron ganancia de peso, siendo mayor la ganancia de peso la que tuvieron los animales que fueron alimentados con la dieta hipercolesterolémica en relación al control alimentado con ratarina comercial sin grasa (G1), indicando la efectividad de la misma. En las pruebas estadísticas se encontraron diferencias significativas con respecto entre los grupos con una $p = 0,005$.

En la **Tabla 2** se presentan los promedios de los valores obtenidos para el colesterol total y para los lípidos de alta densidad (HDL), en ésta se puede observar que en todos los grupos de animales a los cuales se les alimentó con dieta hipercolesterolémica presentaron un aumento de los valores de colesterol total en relación al control que fue alimentado con ratarina sola, encontrándose diferencias estadísticamente significativas con un $p = 0,003$. En relación a los valores obtenidos para el HDL se observó que no hubo

diferencias significativas ($p= 0,071$), entre los valores de las muestras tomadas al inicio, previo al tratamiento y postratamiento, ni con respecto al grupo control.

Con respecto a la anatomopatología se pudo observar que en las ratas alimentadas con grasa vegetal sin tratar, tratadas con ajo y con ajo más lovastatina, se observó abundante grasa abdominal en relación al control alimentado solo con ratarina (G1) y el grupo de animales G3, tratados con el fármaco comercial. Se observó también a nivel hepático que el lóbulo hepático tenía una coloración pardo oscura no homogénea presentando además moteaduras blancas y oscuras en el lóbulo caudado y lóbulo derecho (flecha), (**Figura 1**) siendo un posible efecto del consumo de una dieta hipercalórica por un periodo de nueve semanas del mismo, estas observaciones no se encontraron en los animales de los grupos control negativo, ni del grupo de ratones tratados con lovastatina cuya coloración fue parda oscura homogénea, con una superficie brillante y lisa, sólida y firme al tacto y al corte.

La observación macroscópica del corazón por su parte, presentó acumulación de tejido adiposo a nivel del callado aórtico en ambos grupos control positivo y tratamiento con ajo (**Figura 2**), el corazón de los grupos control negativo presentó una coloración pardo oscura, superficie lisa y brillante, y no presentó acumulación de tejido adiposo a nivel del callado aórtico, sólido y firme al tacto y corte, al igual que el corazón de los ratones tratados con lovastatina.

En relación a los resultados de la histología realizado para observar el efecto de la dieta hipercolesterolémica y del tratamiento a los cuales se sometieron los ratones, sobre el corazón y el hígado de los diferentes grupos se encontró que en relación a la histología del hígado de los ratones del grupo G1 estos presentaron conservación de la arquitectura lobular, de los espacios porta constituidos por arteria biliar, vénulas biliar y canalículo biliar y la vena centro lobulillar. Y con respecto a la arquitectura de las trabéculas de Remak estas se observaron conservadas; no se observaron hepatocitos con metamorfosis grasa en ninguno, similar al de los ratones del grupo G3. En relación a los ratones del grupo G2 (alimentados con ratarina más grasa vegetal) y sin tratamiento, se observó un aclaramiento del tejido, acumulación de linfocitos en el espacio porta (flecha color amarillo) presencia que indica un proceso inflamatorio del mismo; se observó una alteración en las trabéculas de Remak, presentando tres tipos de hepatocitos el primer tipo de hepatocitos denominados hepatocitos con metamorfosis grasa, donde se observó el citoplasma rechazado hacia la periferia del mismo (flecha color rojo); un segundo tipo de hepatocitos que presentaron degeneración hidrópica con cuerpos de Mallory cuya presencia es indicativo de enfermedad hepática (flecha color azul), y por último hepatocitos normales (flecha color morado), (**Figura 3**).

La histología de los lóbulos del hígado de los ratones alimentados con ratarina más grasa vegetal, a excepción a los que recibieron tratamiento del fármaco comercial, presentaron

una arquitectura trabecular alterada, con degeneración hidrópica con hepatocitos con evidencia de cuerpos de Mallory y citoplasma de aspecto espumoso (flecha color amarillo), y metamorfosis grasa (flecha color rojo), (**Figura 4**), indicativo de la presencia de un hígado graso y enfermedad hepática.

Con respecto a la histología del corazón se pudo observar como se observa en la **Figura 5**, que los vasos del miocardio de manera general en los ratones de todos los grupos involucrados en la experiencia, presentaron una capa muscular lisa muy pequeña y delgada de aspecto normal, no se observó fibrosis ni signos de infarto en ninguno de los grupos, no se observaron cúmulos en las paredes ni en la superficie endotelial, sin embargo los de los grupos G2 y G5 presentaron los vasos de tamaño pequeño, con la presencia de células musculas, células endoteliales y adventicias, con presencia de eritrocitos y pigmentos formólicos (flecha). En la arteria aorta no se observaron acumulaciones de grasa en su superficie endotelial; para ninguno de los ratones de los grupos involucrados a excepción de los tratados con ajo + lovastatina a los cuales se les observó acumulación de tejido adiposo a nivel externo.

Discusión

La bibliografía reporta que en la determinación de la condición de hipercolesterolemia en los animales es necesario medir parámetros tales como: colesterol y colesterol HDL en ratas Wistar; ya que estas no poseen vesícula biliar por lo tanto no expresa proteína de transferencia de ésteres de colesterol y el colesterol se transporta en su mayor parte en forma de colesterol total; la bibliografía consultada emplea el biomodelo Wistar para la realización de inducción de hipercolesterolemia experimental, adicionando dietas ricas en grasas saturadas o colesterol (15, 16).

La hipercolesterolemia experimental según es reportada por varios autores tales como Poveda (17) y Cano (18), han sido desarrolladas usando aceites de origen vegetal entre los que destacan aceite de palma, aceite de soya, aceite de maíz, aceite de girasol y aceite de canola usando dosificaciones de 0,2 mL / día por cada animal durante cuatro semanas corroborando tal condición mediante la valoración de parámetros bioquímicos sanguíneos de colesterol y colesterol HDL. En la experiencia realizada se logró la condición de hipercolesterolemia en ratas de la línea Wistar usando grasa vegetal y con una dosificación de 50% de grasa, concordando con lo reportado, la condición se verificó valorando los niveles de colesterol que en esta experiencia fueron superiores a lo reportado por Hañari-Quispe (19), quien presenta como valores normales de colesterol total para ratas entre 10 - 54 mg / dL; para las ratas en condición de hipercolesterolemia, y los valores de las ratas control alimentadas sólo con ratarina se encontraron dentro del rango presentado por el autor.

Sin embargo, los valores hallados en la experiencia para las ratas alimentadas con la dieta hipercalórica se fueron más bajo que los reportados por Ganado (20), quién reportó que al cuarto mes de estar sometidos a una dieta hipercolesterolémica con 0,5% de colesterol; los valores de colesterol total promedio oscilaban ($102,1 \pm 12,2$ mg/dl) y los valores de colesterol HDL ($42,0 \pm 1,9$ mg/dl). Con respecto al grupo que le fue suministrada la dieta hipercolesterolémica 50% grasa, para los niveles de colesterol total para el C (+) el promedio durante la experiencia fue de $82,3 \pm 9,17$ mg / dL; no obstante al comparar este valor con el obtenido en las ratas control negativo (-) al presentar diferencias estadísticamente significativas se consideró la existencia de la condición hipercolesterolémica para los grupos experimentales, a pesar de que para los valores de HDL no se observaron diferencias estadísticamente significativas, coincidiendo esto último con los autores anteriores, quienes no encontraron variación en los valores del colesterol HDL en ratas hipercolesterolemicas, durante 3 meses de experiencia y encontrando un incremento significativo en los valores de colesterol total.

En este trabajo no se logró visualizar claramente el efecto del ajo sobre la condición hipercolesterolémica de las ratas involucradas, como es el reportado por Elmahdi *et al* (21) en su investigación en la cual efectuaron el suministro de ajo sin ser procesado por calor o algún agente químico; y obtuvieron que la ingesta de trozos frescos de ajo disminuyó los niveles de colesterol total en un 8% y el colesterol LDL. Otro autor que reporta resultados similares fue Al-Numair (22) quien evaluó el efecto del ajo previamente tratado con etanol [80%] y con una dosificación más elevada a la empleada en el presente trabajo, tal como fue 0,2 g / Kg y 0,4 g / Kg; donde obtuvo que la dosificación 0,4 g / Kg aumenta los niveles de colesterol HDL así como la actividad antioxidante y la actividad de las enzimas antioxidantes.

Posiblemente la condición de la preparación del zumo del ajo usado en este trabajo pudo conducir a la afectación de su composición, ya que como es reportado la concentración de los compuestos extraídos del ajo depende de la madurez y producción (23), o la forma como es cultivado, como es localizado en la planta y las condiciones en las que se procesa (24). La obtención de esencias y extractos del ajo, dependiendo de la manera en la que se muestre el ajo conllevará a la formación de distintos productos con características fisicoquímicas y propiedades biológicas, que presenten un beneficio para la salud, el almacenamiento de influye en el incremento de compuestos azufrados que desencadenan un diversas reacciones químicas, que son las que generan muchos de sus efectos metabólicos; cuando un ajo es machacado, partido o cortado, varios de sus componentes azufrados se liberan, abandonando el interior de las células vegetales; entonces interaccionan unos con otros para desencadenar una cascada de reacciones químicas, generadora de un elevado conjunto de componentes (25).

Esto es indicativo que dependiendo de tipo de procesamiento que tenga el ajo para ser consumido pueden verse resultados favorables a la disminución del colesterol en los individuos que lo consumen.

A pesar de la evidencia anterior, es importante resaltar que aunque los datos de los valores bioquímicos sanguíneos no permitió observar un efecto evidente de los tratamientos suministrados a las ratas en condición hipercolesterolémicas, al realizar el análisis anatomopatológico e histopatológico, se pudo evidenciar que en las ratas control positivo, a las que se les había suministrado la dieta hipercalórica presentaron patologías que no fueron evidenciadas en las ratas que fueron alimentadas con la dieta similar pero que fueron tratadas con la lovastatina, siendo evidente en las que fueron tratadas con la combinación de ambas (ajo más lovastatinas).

Los resultados permitieron concluir que aparentemente no todos los ajos conllevan a la contrarrestar la condición de hipercolesterolemia, como ha sido reportado, ni sus efectos adversos a nivel anatomopatológico e histopatológico, por lo que se debe continuar evaluando la validez del uso de los alimentos nutraceuticos. Además se hace necesario estudiar con mayor precisión alguna posible condición de antagonismo entre el ajo y el fármaco lovastatina, estos estudios son necesarios por el gran auge que existe en el uso de los alimentos nutraceuticos para combatir los problemas de salud.

Tabla 1. Promedios de ganancia de peso de los animales involucrados en el estudio

Grupos	Promedio del Peso inicial (g)	Promedio de ganancia de peso con el suministro de la dieta hipercalórica previo al tratamiento (g)	Promedio de ganancia de peso post tratamiento
G1 (N=5)	347,0±23.13	14,7±	25,1±
G2 (N=5)	389,8±41.85	16,4±	79,9±
G3 (N=6)	371,2±29.15	18,2±	26,8±
G4 (N=6)	366,2±27.80	31,9±	18,68±
G5 (N=6)	395,0±36.69	32,8±	34,17±

Tabla 2. Promedio de valores de colesterol y HDL para los ratones de los distintos grupos experimentales (N=6 por grupo)

		G1	G2	G3	G4	G5
Colesterol mg/dL	Inicial	50,5±6,9	48,6±4,9	56,2±14,3	54,8±9,5	56,5±12,0
	previo	48,7±5,4	66,8±14,7	68,4±11,6	69,0±6,8	68,7±9,17
	post	48,5 ±8,8	75,8±6,18	77,2±11,2	76,6±13,7	82,3±9,17
HDL mg/dL	Inicial	22,8±3,6	28,0±8,8	24,4±5,6	31,6±7,6	24,4±3,3
	previo	26,8±8,1	26,4±5,7	28,2±5,1	31,2±3,4	23,2±3,7
	post	26,7±3,8	30,4±4,2	23,8±4,3	28,4±1,7	29,2±5,6

Promedio± SD

Figura 1. Hígado de ratas alimentadas con dieta hipercolesterolémica, presentando lesión.

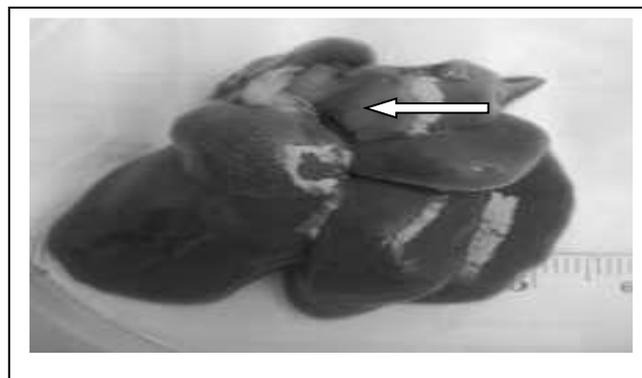


Figura 2. Corazón presentando tejido adiposo a nivel del callado aórtico.

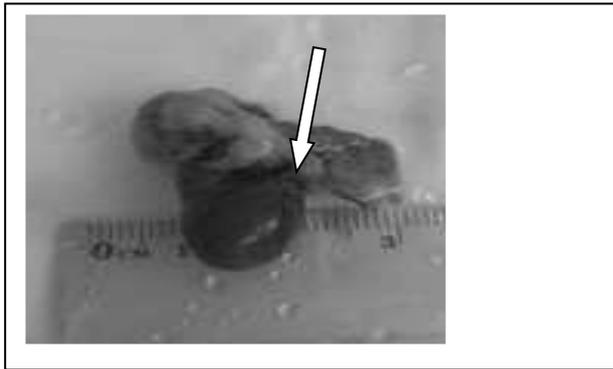


Figura 3. Histología del hígado de ratones del grupo G2 (alimentados con ratarina más grasa vegetal) y sin tratamiento.

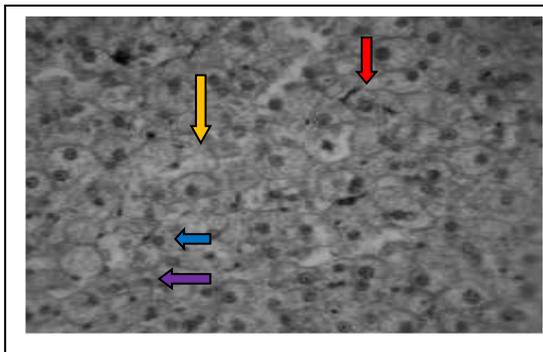


Figura 4. Histología de ratones del grupo G4 (alimentados con ratarina más grasa vegetal) y tratados con ajo.

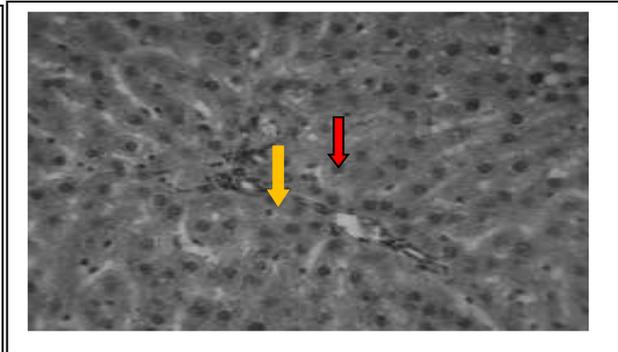
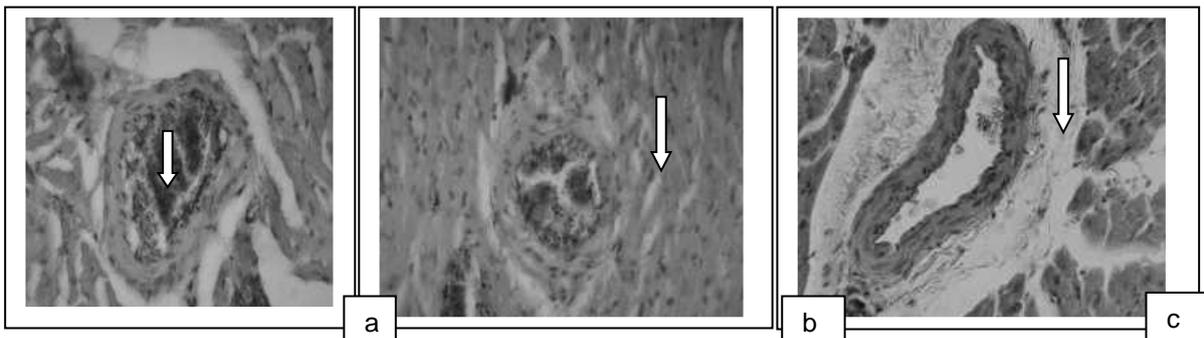


Figura 5. Vaso del miocardio de ratones de los grupos G1(a), G2 (b) y G5 (c).



Referencias

1. Salihi H, Bonnema S, Alio A. Obesity: What is an elderly population growing into? *Maturitas*. 2009. 63 (1): 7-12.
2. OMS. 2011. Colesterol un problema mal controlado. Consultado: 23 de marzo 2016. http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2011/cholesterol_20110201/es/
3. Agrawal A, Mabalirajan U, Ahmad T, Ghosh B. Emerging Interface between Metabolic Syndrome and Asthma. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2010. 44 (3):270-275.
4. Rajasekaran A, Kalaivani M. Hypolipidemic and antioxidant activity of aqueous extract of *Monascus purpureus* fermented Indian rice in high cholesterol diet fed rats. *Tubitak*. 2011. 41(1): 25-32.
5. Soca M. El síndrome metabólico: un alto riesgo para individuos sedentarios. *Acimed*. 2009 20(2):0-0. Consultado: 26 de abril 2016. http://bvs.sld.cu/revistas/aci/vol20_2_09/acisu809.htm
6. Millan J, Pintó X, Muñoz A, Zúñiga M, Rubiés J, Pallardo L. Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vascularity health risk management*. 2009. 25(5): 757-765.
7. Won S, Kim S, Kim Y, Lee P, Ryu J, Kim J, Rhee H. Licochalcone A. A lipase inhibitor from the roots of *Glycyrrhiza uralensis*. *Food research international*. 2007. 40(8): 1046-1050.
8. Cortés M, Chiralt A, Puentel L. Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro alimentos funcionales. *Vitae. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 2005.12 (1): 5-14.
9. Al-Qattan K, Khan I, [Alnaqeeb M](#), [Ali M](#). Mechanism of garlic (*Allium sativum*) induced reduction of hypertension in 2K-1C rats: a possible mediation of Na/H exchanger isoform-1. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2003. 69(4): 217-222.
10. Baluchnejadmojarad T, [Roghani M](#), [Homayounfar H](#), [Hosseini M](#). Beneficial effect of aqueous garlic extract on the vascular reactivity of streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002. 85(1): 139-44.
11. Sobenin I, [Andrianova I](#), [Demidova O](#), [Gorchakova T](#), [Orekhov A](#). Lipid-lowering effects of timereleased garlic powder tablets in double-blinded placebo-controlled randomized study. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2008. 15(6):334-8.
12. Elmahdi B, Maha M, Afaf I. The Effect of Fresh Crushed Garlic Bulbs (*Allium sativum*) on Plasma Lipids in Hypercholesterolemic Rats. *Research Journal of Animal and Veterinary Sciences*. 2008. 3:15-19.

13. Farnaz S, Zahid M, Karim S, Khurhsid R. Effect of feeding garlic (*Allium sativum*) on body weight and serum cholesterol levels in rats. *Pakistan Journal of Physiology*. 2011. 7 (1):17-19.
14. Cediel J, Cárdenas M, García A, Chuairé L, Payán C, Villegas V, Sánchez C (2009). *Manual de Histología tejidos fundamentales*. Editorial Universidad Del Rosario: Bogotá-Colombia. 2009. p 41.
15. Arroyo J, Ruez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, Valencia J. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays* L) en ratas hipercolesterolémicas. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública*. 2007. 24(2): 157-162.
16. Klassa B, Grosseli M, Kiyomura A, Alves M. *Avaliação do efeito do alho (Allium sativum L.) sobre o colesterol plasmático em coelhos com hipercolesterolemia induzida*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2013. p557 – 565.
17. Poveda E, Ayala P, Rodríguez M, Ordóñez E, Baracaldo C, Delgado W, Guerra M. Efecto del suplemento de aceites vegetales sobre el perfil lipídico en ratas Wistar. *Biomédica*. 2005. 25 (1):101-109.
18. Cano P, Jiménez-Ortega V, Larrad A, Reyes C, Cardinali D, Esquifino A. Effect of a high-fat diet on 24-h pattern of circulating levels of prolactin, luteinizing hormone, testosterone, corticosterone, thyroid-stimulating hormone and glucose, and pineal melatonin content, in rats. *Endocrine*, 2008. 33(2):118-125.
19. Hañari-Quispe R, Arroyo J, Herrera-Calderón O, Herrera-Moran H. Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado del maíz morado (*Zea mays* L.) en lesiones hepáticas inducidas en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2015. 76(2): 123-128.
20. Ganado P. Estudio de diferentes fracciones y extractos de *Allium sativum* sobre la reactividad vascular, niveles de colesterol y cultivos celulares. Tesis doctoral. 2001. Universidad Complutense de Madrid, España. p202.
21. Elmahdi B, Maha M, Afaf I. The Effect of Fresh Crushed Garlic Bulbs (*Allium sativum*) on Plasma Lipids in Hypercholesterolemic Rats. 2008. *Research Journal of Animal and Veterinary Sciences*. 2008. 3: 15-19.
22. Al-Numair K. Hypocholesteremic and Antioxidant Effects of Garlic (*Allium sativum* L.) Extract in Rats Fed High Cholesterol Diet. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2009. 8 (2):161-166.
23. Lancaster J, McCallion B, Shaw M. The levels of precursors, the S-all (en) yl-Lcysteine sulphoxides during the growth of the onion (*Allium cape* L). *Journal Science Food Agriculture*. 1984. 35:415-421.

24. Mazza G. Functional Foods. Biochemical & Processing Aspects. Lancaster, Basel: Technomic Publishing CO. Inc.1998. p 233.

Recibida: 04/05/16

Aceptada: 06/05/16