

23
24



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

DESARROLLO DE UN MODELO EXPERIMENTAL EN LA RATA PARA ESTUDIAR LOS EFECTOS DE LA NIACINA SOBRE EL CRECIMIENTO CORPORAL.



T E S I S

Que para obtener el título de:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

Francisco Barajas López

Asesor: Dr. en C. Cruz Reyes Vázquez



México, D. F.

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

| CONTENIDO | PAGINA |
|-------------------------|--------|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCION | 2 |
| MATERIAL Y METODO | 12 |
| RESULTADOS | 17 |
| DISCUSION | 31 |
| LITERATURA CITADA | 37 |

RESUMEN

La niacina o ácido nicotínico es una vitamina hidrosoluble que actúa en diversos procesos enzimáticos del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. Algunos autores sugieren que esta vitamina funciona, en dosis bajas, como un promotor del crecimiento en el ganado vacuno. No obstante otros autores han encontrado efectos contradictorios. Por lo tanto es necesario analizar esta sugerencia en una forma menos controversial. El objetivo en el presente trabajo consiste en diseñar un modelo experimental de laboratorio, utilizando a la rata, el cual permita realizar un análisis de los efectos de la niacina sobre el crecimiento corporal. Se utilizaron 64 ratas Wistar (32 hembras y 32 machos). Divididos en 4 grupos; 1 control y 3 experimentales. Ocho ratas hembra y 8 ratas macho recibieron una dieta semipurificada con tres veces (52 mg/Kg de alimento) el equivalente de las necesidades diarias de niacina. Diez y seis animales recibieron una dieta control, que contenía 16.7 mg de niacina por Kg. de alimento. En 16 ratas, además de una dieta control, se les administró 1 mg en dosis total por vía intraperitoneal (IP) diariamente durante toda la fase experimental (45 días). Las 16 ratas restantes recibieron además de la dieta control una administración diaria de solución salina IP. La suplementación de la dieta con niacina, no provocó incrementos en la ganancia de peso corporal. Incluso, en las ratas macho la niacina provocó un descenso significativo de este parámetro cuando se comparó con los sujetos controles. Contrariamente, los grupos que recibieron niacina por vía IP mostraron un incremento significativo en la ganancia de peso con respecto a los sujetos que recibieron solución salina. Todos los grupos que recibieron ya sea una dieta suplementada con niacina o bien niacina por vía IP, mostraron un incremento en el peso proporcional del hígado. Estos datos sugieren que la administración IP de niacina es capaz de inducir una mayor ganancia de peso corporal en la rata, indicando que este animal puede ser utilizado como modelo experimental para estudiar los efectos metabólicos que posee esta vitamina sobre el crecimiento corporal.

INTRODUCCION

El ácido nicotínico o niacina es un compuesto indispensable en el metabolismo energético. Esta sustancia, fue aislada inicialmente en 1913 del salvado de arroz por Funk. Su papel energético fue propuesto por Harden y Young quienes descubrieron que la niacina es parte de la nicotinamida ó amida del ácido nicotínico, de la cual se origina la coenzima I aislada en 1933 por H. Von Euler, y la coenzima II, descrita por Warburg y Christian en 1934 (7,9).

Estos descubrimientos condujeron rápidamente a Elvehjem y Wolley en 1937 a identificar al ácido nicotínico como un factor nutricional, el cual posee la capacidad de prevenir y evitar la aparición de la "lengua negra" en los perros y de la pelagra en el humano (3,6).

El ácido nicotínico es una vitamina hidrosoluble cuya fórmula química empírica es $C_6H_5NO_2$, tiene un peso molecular de 123.11, y su constante de equilibrio es de 10^{-4} , a un pK de 7 y de 10^{-2} a un pH de 9. Su estructura química se muestra en la figura 1 (5,13,26).

La niacina o ácido nicotínico posee ciertas relaciones químicas y estructurales con la nicotina, aunque carece de todas las propiedades de este último alcaloide (10). Existen cantidades importantes de niacina en las células hepáticas, las glándulas adrenales; así como en levaduras, carnes blancas, alfalfa, legumbres y cascarilla de casi todos los cereales (13).

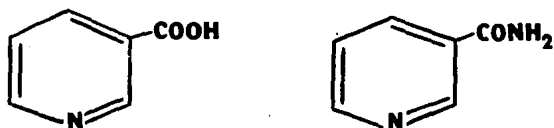


FIG. 1 La estructura química de la nicotina y nicotinamida es muy similar. El ácido nicotínico tiene una estructura cíclica con un nitrógeno en posición 1 de la porción cíclica. Existe un grupo carboxilo en unión ester y un grupo hidroxilo lo cual le proporciona la característica ácida. El grupo hidroxilo en el ácido nicotínico es remplazado por un grupo amida en la nicotinamida.

La relevancia que el ácido nicotínico adquirió como un elemento esencial en el metabolismo, tiene su origen en estudios de la patología de las avitaminosis. Las investigaciones médicas y clínicas relacionadas con la fisiopatología y terapéutica de la pelagra en humanos y de la enfermedad llamada "lengua negra" en los perros, mostraban que estas alteraciones son consecuencia de una disminución en la ingesta de niacina (25).

Los estados carenciales de niacina en el humano y en algunos animales, como el cerdo y el pollo, son caracterizados por la presencia de erupciones eritematosas en la piel de las extremidades y del cuello. Estas lesiones posteriormente obscurecen, se descaman y cicatrizan (11). En el aparato digestivo del humano, se desarrolla

una estomatitis, con enteritis y frecuentemente con diarrea; la lengua se congestiona y generalmente se ulcera. La diarrea tiene características periódicas, es recurrente y ocasionalmente hemorrágica. Estas lesiones orgánicas originan invariablemente náuseas y vómito. Signos como la cefalea, lipotimias, insomnio, depresión conductual, trastornos de la memoria, y en casos graves, delirios, alucinaciones y demencia, son atribuibles a un disturbio provocado por la carencia de niacina, en el sistema nervioso central (6,8,10).

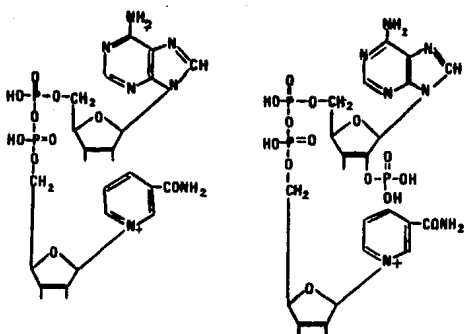


FIG. 2. La niacina es una vitamina la cual es un componente indispensable de dos coenzimas que intervienen en el metabolismo energético de todas las células del organismo. Estas coenzimas son la nicotinamida-adeninucleótido (NAD) o coenzima I y la nicotinamida-adenin-dinucleótido fosfato (NADP) o coenzima II.

Las alteraciones que provocan los signos y síntomas que se presentan en los estados carenciales de niacina, son consecuencia de alteraciones de tipo enzimático. Esto se debe básicamente a una reducción en la concentración de las coenzimas I (NAD) y coenzima II (NADP), llamadas también como nucleótidos de piridina (fig. 2) (4,5,9).

Estas coenzimas funcionan en un gran número de procesos de oxido-reducción. Aproximadamente existen unos 200 procesos enzimáticos cuya coenzima utiliza niacina, y que actúan en diferentes aspectos del metabolismo (9). En el siguiente cuadro (I), se mencionan algunos ejemplos importantes de ellas.

CUADRO I

COENZIMAS QUE UTILIZAN NIACINA

Deshidrogenasas dependientes de piridina

Dependientes del NAD

Sustrato que catalizan:

- Isocitrato
- D-b-hidroxiubutirato
- Gliceraldehido-3-fosfato
- Dihidrolipocimida
- L-b-hidroxiacil-CoA
- Etanol
- Lactato
- Glicero-3-fosfato
- L-malato

Dependientes del NADP

Sustrato que catalizan:

- Isocitrato
- Glucosa-6-fosfato

Dependientes de NAD o NADP

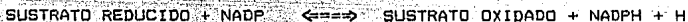
Sustrato que catalizan:

- l-Glutamato

La mayor parte de las enzimas que contienen NAD y NADP intervienen en reacciones asociadas con el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos (4,9). En general estas enzimas catalizan las siguientes reacciones generales:



o bien



La NAD es una coenzima específica para aquellas enzimas de tipo hidrogenasas las cuales están implicadas en la transferencia de electrones, mientras que la NADP es específica para enzimas de tipo deshidrogenasas (9).

La niacina, puede ser sintetizada a partir del triptófano en todos los animales. De esta manera, si una dieta carece de niacina pero contiene cantidades suficientes de triptófano, el estado patológico consecuencia de la carencia de niacina, no se manifestará. En animales como la rata, la conversión de triptófano a niacina ocurre principalmente en el intestino (17). Esta síntesis requiere de la presencia de una flora intestinal adecuada. La adición de un antibiótico al alimento de las ratas, provoca una reducción significativa en la síntesis de niacina. La administración parenteral del triptófano también provoca un incremento en la eliminación de los metabolitos urémicos de la niacina, lo que sugiere que la síntesis de niacina sucede también extraintestinalmente (2,11).

La dosis letal media del ácido nicotínico es de 7 g en ratas (13). En el humano dosis elevadas y crónicas (10 g diarios) son capaces de provocar una dilatación vascular sistémica la cual desencadena una sensación de quemadura (3,10). La administración también crónica de niacina provoca una disminución de colesterol sérico, efecto por el cual en ocasiones es utilizada clínicamente (8). Durante mucho tiempo se consideró que la niacina poseía propiedades antiesquizofrénicas. Esta idea fue sugerida por algunos hallazgos realizados en esquizofrénicos, los cuales mostraron la presencia de una metilación anormal de algunos neurotransmisores, lo que provocaba la síntesis de metabolitos con propiedades psicogénicas similares a las que poseen algunos fármacos alucinógenos. De acuerdo a este hallazgo, se sugirió que la nicotinamida podría reducir esta metilación anormal, al actuar como un fijador de grupos metilo, disminuyendo con esto las reservas tisulares de metilos (18). De acuerdo a esta sugerencia muchos esquizofrénicos recibieron terapia "mega-vitaminas" consistente en dosis mayores a 20 g/día de niacina (18). Sin embargo, actualmente su valor terapéutico es ampliamente discutido (20).

La niacina también reduce la movilización de ácidos grasos de los tejidos adiposos, es capaz de inducir lesiones hepáticas y aumentar la incidencia de diabetes mellitus y de úlceras pépticas gastroduodenales (8). Por otro lado, la deficiencia crónica de niacina induce una reducción del crecimiento corporal, efecto que ocurre en varias especies de animales, incluyendo al hombre (10).

Estudios recientes muestran que la suplementación con niacina a la dieta del ganado ejerce efectos sobre la tasa de ganancia de peso corporal. Por ejemplo, existen datos los cuales muestran que la alimentación con dietas suplementadas con niacina promueve un aumento en la tasa de crecimiento e incrementa la tasa de consumo de alimento de becerros (15,22). También la adición de niacina en la dieta de vacas recién paridas, incrementa los niveles de producción de leche (22). Los resultados de estos estudios, sin embargo, son controversiales, puesto que existen estudios que muestran que la administración diaria de 1 g de ácido nicotínico (120 ppm) en una dieta balanceada, no modificó la tasa de crecimiento del peso corporal de toretes de engorda y puede provocar además efectos negativos (14).

Aunque aún se desconoce con certeza si el ácido nicotínico es capaz de promover el crecimiento corporal, se han propuesto varias explicaciones que intentan dilucidar el mecanismo empleado por la niacina para realizar este posible efecto. Una de ellas, supone que la administración de niacina incrementa la fermentación ruminal y como consecuencia la síntesis proteica de origen bacteriano. Además esto provocaría un aumento en la concentración de ácido propiónico y de nutrientes metabolizables en el rumen. Todos estos efectos provocan un aumento en la glucosa sanguínea y posiblemente inducen una mayor ganancia de peso. Otra explicación propone que la niacina al actuar como parte de un cofactor enzimático, necesario para que ocurra un metabolismo acorde a las necesidades en cada una de las células del animal, promueve una mayor actividad metabólica en la mayor parte de las células de los animales lo que resulta en un

incremento del peso corporal. Es también probable que una combinación de ambas acciones, ruminal y sistémica, pueda ser la responsable de este aumento (21,23).

La discrepancia en cuanto a los efectos inducidos por la adición de niacina en la dieta, sobre el peso corporal del ganado de engorda, puede residir en los procedimientos experimentales utilizados para valorar tal práctica. El utilizar ganado como modelo experimental crea condiciones en las cuales es realmente difícil controlar experimentalmente muchas variables, las cuales influyen en forma decisiva sobre el estado nutricional del ganado.

El contar con un diseño experimental de laboratorio permitiría, por un lado, discernir la posible utilidad de la niacina como un promotor del crecimiento corporal y por otro, describir si este efecto es consecuencia de una acción sobre la flora intestinal o bien es el resultado de una acción sobre el metabolismo propio del animal. El sujeto experimental de tal estudio puede ser la rata. Estudios usando a este roedor, mostraron que la administración de ácido nicotínico, en diferentes concentraciones, en la ración de ratas de tres semanas de edad, provoca un notable crecimiento en relación a las ratas que recibieron una dieta no suplementada con niacina (24). El máximo efecto estimulante del crecimiento se obtuvo con una dieta adicionada con 1 mg % de niacina. Es importante señalar, que la flora intestinal entre los diferentes rumiantes, se localiza tanto en los compartimentos gástricos como en el ciego, mientras que en el caso de los roedores, esta microflora se localiza sólo en el ciego.

Existen datos los cuales señalan que la flora intestinal del ciego produce varios compuestos importantes para el animal. Así, se describió la producción de origen bacteriano y la absorción intestinal de ácidos grasos volátiles en este segmento del intestino. Otros compuestos como la vitamina K también tienen su origen en la flora intestinal de este sitio. Entonces es posible que el exceso de niacina en la dieta, al alcanzar el intestino grueso de los roedores, pueda también ejercer efectos metabólicos sobre la flora intestinal (11).

Mediante el uso de un modelo experimental es posible controlar de manera eficaz una gran cantidad de variables; por ejemplo, la cantidad de niacina administrada, el mantener un microclima artificial lo más ideal posible en el que variables, temperatura, horas luz-obscuridad y otros factores ambientales, las cuales también intervienen en los hábitos de alimentación sean controlados. La administración de niacina puede realizarse a través de dos vías, una de ellas por vía oral, al adicionarla al alimento, y la otra por aplicación intraperitoneal. De esta forma sería posible discriminar un efecto mediado por la flora intestinal, de un efecto que ocurriese debido a una acción sobre el metabolismo sistémico del animal. Una vez desarrollado este modelo experimental alternativo de laboratorio, sería ideal para estudiar los posibles efectos que esta vitamina ejerce sobre el crecimiento y la ganancia de peso, y podría ayudar a establecer un análisis más profundo sobre los mecanismos de acción y sobre sus condiciones óptimas, edad, dosis de niacina, duración del tratamiento, compuestos alternativos, vías de

administración, etc., que serviría para fundamentar esta práctica empírica, con el propósito de mejorar la producción de carne en el ganado y su utilización. El incrementar la eficiencia en cuanto a los mecanismos utilizados en la producción de alimentos es un fin que se persigue desde un punto de vista social, económico y político. Tal finalidad justifica la realización de estudios como el presente, el cual pretende determinar las condiciones óptimas en las que la niacina provoca un efecto significativo sobre el incremento del peso corporal.

La hipótesis fundamental de este trabajo propone que si la rata constituye un modelo experimental adecuado para determinar el efecto de la niacina sobre el crecimiento corporal, entonces las ratas alimentadas con una dieta suplementada con niacina mostrarán un incremento en su peso corporal mayor que las ratas que reciban una dieta común.

El objetivo del presente trabajo consiste en desarrollar un modelo experimental de laboratorio, que sea práctico, económico, fácil de reproducir y en el cual se puedan controlar en forma eficaz, aquellas variables necesarias para determinar el efecto de la niacina sobre el crecimiento corporal.

MATERIAL Y METODO

Se emplearon 64 ratas albinas (*Rattus, rattus*) de la cepa Wistar obtenidas de varias camadas, 32 de estas ratas fueron hembras y 32 machos. Del total de sujetos el 25 % fue de animales controles y el 75 % restante fue de animales experimentales. Los animales se mantuvieron en jaulas metabólicas individuales de 25 X 20 X 30 cms los cuales contenían trozos de madera para roer. Estas jaulas se localizaron en la estación de animales del departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina. La sala de la estación asignada a estos animales se mantuvo a una temperatura de 19°C y la iluminación estuvo regulada automáticamente de tal manera que las luces se encendían a las 9:00 y se apagaban a las 21:00. Los animales recibieron únicamente iluminación artificial (2000 Lux) blanca. El aseo de las jaulas se realizó diariamente a las 10:00 AM y tanto el alimento como los animales se pesaban también diariamente a las 10:30 AM. Los animales siempre tuvieron acceso directo y libre al alimento y al agua.

La composición del alimento semipurificado fue la siguiente:

COMPOSICION DE LA DIETA AIN-76 SEMIPURIFICADA PARA RATA Y RATON

AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION (DIETA CONTROL).

| | |
|--------------------------------------|--------|
| Caseína purificada alta en nitrógeno | 20.0 % |
| DL-Metionina | 0.3 % |
| Almidón de Maíz | 15.0 % |
| Sacarosa** | 50.0 % |
| Fibra (Alfácel no nutritivo) | 5.0 % |
| Aceite de Maíz | 5.0 % |
| Premezcla de minerales Rogers-Harper | 3.5 % |
| Premezcla de vitaminas AIN-76 | 1.0 % |
| Bitartrato de colina | 0.2 % |

** Se usaron partes iguales de sacarosa y glucosa anhidra.

No se utilizó algún antioxidante, ya que el aceite de maíz lo contiene.

La niacina esta contenida dentro de la premezcla de vitaminas la cual tiene la siguiente composición:

PREMEZCLA DE VITAMINAS AIN-76. PRESENTACION COMERCIAL

| <u>COMPOSICION</u> | <u>P/Kg de Premezcla</u> |
|-----------------------------------------------------------|--------------------------|
| Tiamina HCl | 600.0 mg |
| Riboflavina | 600.0 mg |
| Piridoxina HCl | 700.0 mg |
| Niacina | 3.0 gm |
| Pantotenato de Calcio | 1.6 gm |
| Acido Fólico | 200.0 mg |
| D-Biotina | 20.0 mg |
| Cianocobalamina (Vit. B12) | 1.0 mg |
| Palmitato de retinil (Vit. A) Premezcla de (250,000 UI/g) | 1.6 gm |
| dl-a-Tocoferol (acetato). Premezcla (250 UI/g) | 20.0 gm |
| Vitamina D (400,000 UI/g) | 2.5 mg |
| 3 | |
| Vitamina K | 5.0 mg |
| Vehículo (sacarosa en polvo fino) | 972.9 gm |

Por su parte la premezcla de minerales contenia:

PREMEZCLA DE MINERALES ROGERS-HARPER CAT. TEKLAD 170760

| <u>COMPOSICION</u> | <u>g/kg de Premezcla</u> |
|---------------------------------|--------------------------|
| Molibdato de Amonio | 0.025 |
| Carbonato de Calcio | 292.92 |
| Fosfato dibásico de Calcio | 4.3 |
| Sulfato Cúprico | 1.56 |
| Citrato Férrico USP (16.7 % Fe) | 6.23 |
| Sulfato de Magnesio | 99.81 |
| Sulfato de Manganeso | 1.21 |
| Ioduro de potasio | 0.005 |
| Fosfato monobásico de potasio | 343.12 |
| Cloruro de sodio | 250.61 |
| Selenito de sodio | 0.20 |
| Cloruro de Zinc | 0.20 |

De estas premezclas se extrajo los requerimientos recomendados por el Subcommittee of laboratory animal Nutrition de vitaminas y minerales.

La dieta control experimental difería únicamente de la control por la cantidad de niacina añadida. La dieta experimental tenía un contenido de niacina de 52 mg/Kg de alimento, mientras que la dieta control tenía sólo 16.7 mg de niacina por kg de alimento.

Los animales se colocaron en las jaulas metabólicas desde el momento del destete (día 21) e inmediatamente se les asignó a uno de los grupos dependiendo de su sexo de y del tipo de dieta que recibieron.

El total de animales fue dividido en 4 grupos diferentes conformados por 16 sujetos cada uno. El grupo I, se formó con 8 hembras y 8 machos, los cuales recibieron una dieta control. Los animales del grupo II (8 hembras y 8 machos) fueron alimentados con una dieta control + 52 mg de niacina por kg de alimento. Los restantes 2 grupos recibieron dieta control, pero los animales del grupo III (8 hembras y 8 machos) recibieron además la administración diaria intraperitoneal de 0.5 ml de solución salina isotónica. Mientras que los animales del grupo IV (8 hembras y 8 machos) recibieron diariamente 1 mg de niacina por vía intraperitoneal durante todo el tiempo que duró el experimento.

La aplicación intraperitoneal se realizó utilizando una jeringa hipodérmica insulínica, con aguja del número 27. La dosis de niacina empleada para su administración intraperitoneal fue de 1 mg; la cual corresponde aproximadamente a la cantidad ingerida por las ratas que consumen la dieta experimental, la cual a su vez es equivalente a 3 veces la dosis recomendada de niacina (17). La

solución inyectable de niacina se preparaba inmediatamente antes de su aplicación. Para ello se pesaron 41 mg de ácido nicotínico en una balanza analítica y se diluían en una solución que contenía 17.85 ml de agua destilada y 3.15 ml de NaOH 0.1N, esto originaba un total de 20 ml de solución. El pH de la solución siempre fue de 7. Diariamente se aplicaron 0.5 ml de esta solución lo que equivale a un 1 mg de niacina.

Con la finalidad de establecer la existencia de efectos diferenciales provocados por la niacina sobre el incremento de peso en las diversas estructuras del animal. Al término de esta fase experimental, las ratas fueron sacrificadas con una sobredosis de pentobarbital sódico (65 mg/kg) se disecaron y pesaron por separado los siguientes órganos: piel, canal con la cabeza y cola, hígado, corazón y pulmón y los órganos digestivos del estómago al recto.

En un intento de hacer comparativos los valores del peso corporal, se procedió a ponderar los pesos corporales. Para ello, el peso registrado en el día 21 de edad fue considerado como el 100 % y los pesos registrados en los días subsecuentes son reportados con base a este valor. De igual forma, el consumo de alimento es ponderado al peso corporal que el sujeto poseía en ese día. El peso de las diferentes estructuras también fue ponderado al peso que poseían los animales al momento del sacrificio.

Los valores del peso corporal y del consumo de alimento diario; fueron analizados estadísticamente empleando un análisis de varianza (ANOVA) con dos factores de repetición (tiempo y tratamiento). El

valor de significancia estadística obtenida por esta prueba se estimó mediante la prueba de Dunnet. Finalmente el peso de los órganos de los diferentes grupos se analizó mediante la prueba t de Student, cuyo modelo matemático es el siguiente:

$$t = \frac{\bar{x}_2 - \bar{y}_1}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n} + \frac{s_2^2}{n}}}$$

RESULTADOS

La fase experimental se inició con 64 sujetos. Todos ellos iniciaron el experimento cuando tenían 21 días de nacidos, fecha en que ocurrió el destete; sin embargo, 4 sujetos murieron en los días 18, 21, 27 y 43, probablemente por enfermedad respiratoria. En estos casos los grupos se ajustaron al número de sujetos correspondientes.

Desde un punto de vista conductual, ni el fármaco empleado, ni la manipulación de los animales produjo algún cambio de comportamiento importante en los diferentes grupos de animales. Los animales fueron dóciles durante su manejo para pesarlos, inyectarlos y asear la caja correspondiente. En términos generales, todos los sujetos tendían a ingerir el alimento en un horario nocturno y a morder la madera en un horario diurno.

En lo relativo a la ganancia de peso corporal, los sujetos hembras iniciaron con pesos que oscilaban entre 40 g y 54 g con un promedio de 47.9 g. Para el caso de los machos estos valores oscilaron entre 42.3 g y 61.2 g con un promedio de 53.4 g. Estos valores iniciales fueron considerados como el 100 % para de ahí ponderar todos los valores de peso corporal a lo largo del experimento. Por regla general, la ganancia de peso siempre fue mayor en los machos que en las hembras, esta diferencia se hace evidente desde el día 17 aproximadamente.

En la figura 3 se observan los cambios de peso corporal que ocurrieron en las hembras alimentadas con una dieta control y las hembras alimentadas con una dieta experimental.

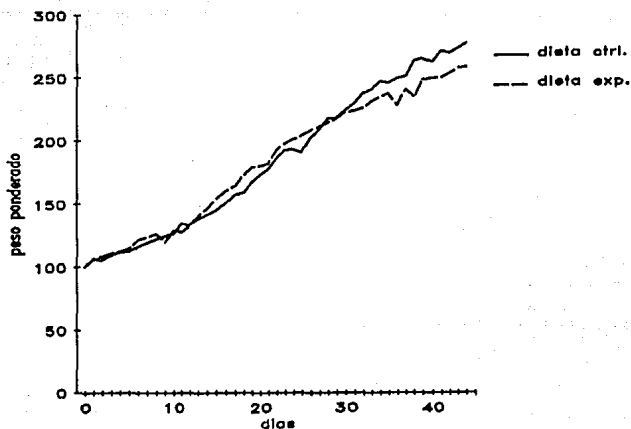


Fig 3. Se muestra la ganancia de peso corporal de las ratas hembra alimentadas con dieta control y de las ratas alimentados con dieta experimental.

En este caso casi desde el inicio se observó un ligero incremento en el peso corporal de los sujetos que recibieron una dieta experimental. Sin embargo este ligero incremento no mostró ser estadísticamente significativo. Después del día 20 de iniciado el experimento, las dos curvas tendían a confluir y permanecer muy cercanas una de otra hasta el final del experimento, lo cual ocurre en el día 45. En este día, los pesos corporales de estos sujetos oscilaban entre 161 g y 218 g con promedio de 195 g para los animales que recibieron dieta control. Mientras que para las hembras alimentadas con dieta experimental sus pesos corporales oscilaban

entre 165.1 g y 220.9 g con promedio de 190.4 g.

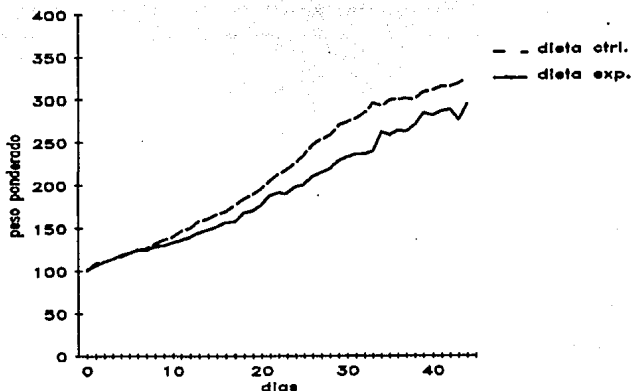


Fig. 4. Se muestran los valores ponderados del peso corporal de los sujetos macho alimentados con una dieta control y de los animales alimentados con una dieta experimental.

Cuando este mismo procedimiento se realizó en machos los resultados fueron diferentes. En la figura 4 se observa el peso corporal ponderado de estos sujetos. Inicialmente el peso corporal de ambos grupos fue muy similar, sin embargo a partir del día 8, los sujetos que recibieron la dieta control mostraron una mayor ganancia de peso, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa hasta el día 22 ($P < 0.05$). Conforme el experimento avanzó la diferencia se hizo más marcada, hasta finalizar en el día 45 con una diferencia del 56 % lo que es estadísticamente diferente ($p < 0.05$). Debido a la consistencia del efecto, se consideró pertinente el finalizar los experimentos en el día 45.

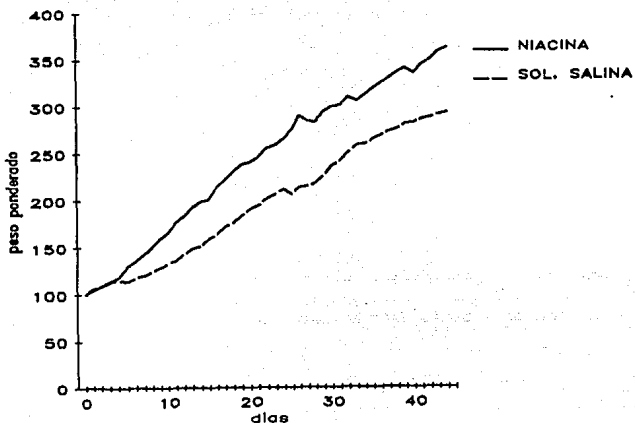


Fig 5. Se representa gráficamente el incremento del peso corporal de las hembras tratadas con dieta control y que además recibieron administraciones diarias de solución salina o de 1 mg de niacina por vía intraperitoneal.

La aplicación intraperitoneal de 1 mg de niacina diario, provocó efectos importantes sobre el peso corporal de los individuos. Por ejemplo, en la figura 5 se muestran los cambios de peso corporal que sufrieron las ratas hembras, las cuales fueron alimentadas con una dieta control (niacina 16.7 mg/Kg de alimento) y que además recibieron 0.5 ml de solución salina o 1 mg de niacina por vía intraperitoneal.

Los pesos corporales de estos animales al inicio del experimento oscilan entre 42.9 g y 56.8 g con un promedio de 51.7

g. Casi inmediatamente después de iniciado el experimento los sujetos que recibieron niacina empezaron a mostrar una mayor ganancia. Estos incrementos cada vez fueron mas importantes y para el día 7 la diferencia fue estadísticamente significativa, lo cual continuó durante todo el experimento. Al final de éste, los pesos corporales de los sujetos tratados con niacina mostraron un promedio de 191.3, mientras que los sujetos que recibieron solución salina mostraron un promedio de 139.9 g. También en este punto la diferencia estadística arrojó un valor de $p < 0.05$. Debido a la tendencia de ambas curvas, se decidió finalizar el experimento en el día 45 de iniciado éste.

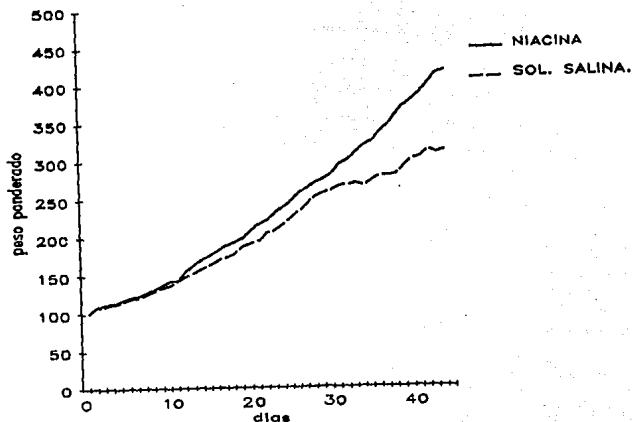


Fig 4. Ganancia de peso corporal de ratas macho que recibieron una dieta control y la aplicación intraperitoneal de solución salina o de niacina.

Cuando este mismo experimento se realizó en ratas macho, se observó también un efecto importante en el incremento del peso corporal, provocado por la administración diaria de niacina. En la figura 6, se muestra que los sujetos que recibieron 1 mg de niacina por vía intraperitoneal, siempre mostraron un mayor incremento en el peso corporal. Este incremento fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$) a partir del día 20, cuando los sujetos que recibieron niacina tenían un peso promedio de 113.6 g y los sujetos que recibieron solución salina tenían un peso promedio de 126.5 g. Al finalizar el experimento, lo cual ocurrió en el día 45, debido a consideraciones realizadas con base a la tendencia de las curvas, el peso de estos sujetos fue de 202.7 g y 180.9 g para los sujetos tratados con niacina y solución salina respectivamente.

En lo relativo a la ingesta de alimento, las cantidades registradas fueron extremadamente variables. Esto provocó una dispersión en los datos, y por lo tanto pocas diferencias estadísticamente significativas. En términos generales, una rata hembra ingirió en promedio el 8 % de su peso corporal, mientras que una rata macho ingirió del 9 al 10 % del mismo. Si consideramos que una rata macho pesa más que una hembra, consecuentemente la cantidad ingerida por una rata macho es superior a lo ingerido por la hembra.

La figura 7 muestra el efecto de utilizar una dieta suplementada con niacina sobre la ingesta de alimento en ratas hembras. En este caso, las ratas que recibieron una dieta control, mostraron una ingesta de alimento más o menos regular. Mientras que la ingesta de alimento en ratas con dieta suplementada muestran una

gran variabilidad, aunque estos valores, siempre oscilan alrededor del 8 %. El análisis estadístico de estos datos mostró que no existen diferencias estadísticas entre estos dos grupos.

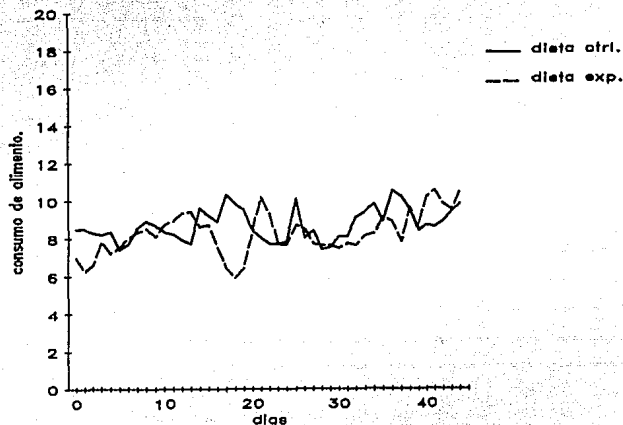


Fig 7. Consumo de alimento ponderado al peso corporal de las ratas hembras las cuales recibieron una dieta control y una dieta experimental.

Por otra parte, la figura 8 muestra el mismo parámetro pero ahora registrado para las ratas macho. En este caso la variabilidad en cuanto a los valores fue mucho mayor, sobretodo en el grupo que recibió la dieta experimental. Sin embargo, se observa una clara tendencia hacia la disminución en las etapas finales del experimento, en ambos grupos de animales. Tanto al inicio como al final del experimento, los sujetos experimentales ingirieron una

mayor cantidad de alimento que los sujetos que recibieron una dieta control. Sin embargo, y básicamente debido a la gran dispersión de los datos, no existen diferencias estadísticas al comparar ambos grupos.

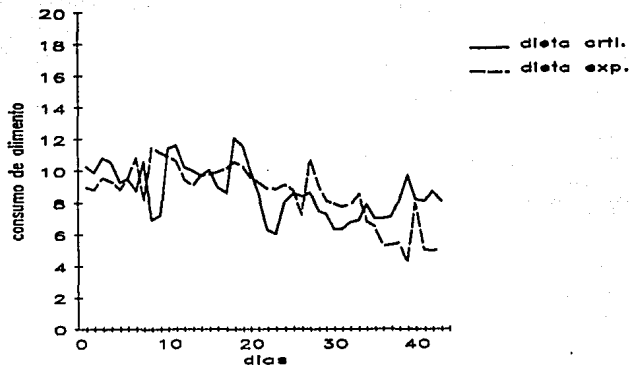


Fig 8. Se muestra la ingesta de alimento de ratas macho alimentados ya sea con dieta control o experimental.

La figura 9 muestra los promedios de la ingesta de alimento, en porcentaje del peso corporal, de los grupos de ratas hembras que recibieron una dieta control y además se les administró ya sea solución salina o niacina intraperitonealmente. Nuevamente, los datos mostraron una amplia variabilidad, sobre todo en los animales que recibieron la niacina intraperitonealmente, mientras que el grupo que recibió la solución salina mostró la misma variabilidad que todos los grupos controles. En ambos grupos también se observó

una tendencia hacia la disminución al inicio del experimento, cuando los animales apenas tienen 21 días, las ratas ingieren aproximadamente el 10 % de su peso corporal en alimento. Al final de la fase experimental, lo cual ocurre en el día 45, estos animales ingieren en promedio el 8 % de su peso corporal. A pesar de que en este caso el grupo control mostró poca variabilidad, tampoco se encontraron diferencias estadísticas al analizar estas 2 curvas.

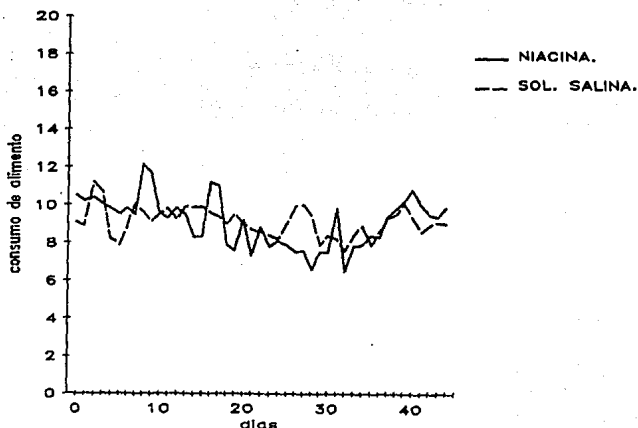


Fig 9. Se representa la ingesta de alimento de ratas hembra alimentadas con dieta control y que recibieron intraperitonealmente ya sea niacina o solución salina.

Por último, en lo relativo a la ingesta de alimento la figura 10 representa los valores promedio de la ingesta de alimento, expresada en porcentaje del peso corporal, de las ratas macho las cuales recibieron una dieta control y una administración

intraperitoneal, ya sea de solución salina o bien de niacina.

Estos fueron los grupos que mostraron la mayor variabilidad de todos, sin embargo, ambos grupos oscilan muy similarmente por lo que existen diferencias importantes entre ellos. En promedio, al inicio del experimento estos animales ingieren el 9 % de su peso corporal; conforme el experimento avanzó la tendencia fue una clara disminución de su ingesta de tal manera que para el día 45, el promedio de ingesta fue de aproximadamente el 7 %. El mayor descenso en la ingesta de alimentos ocurrió después del día 20 del experimento.

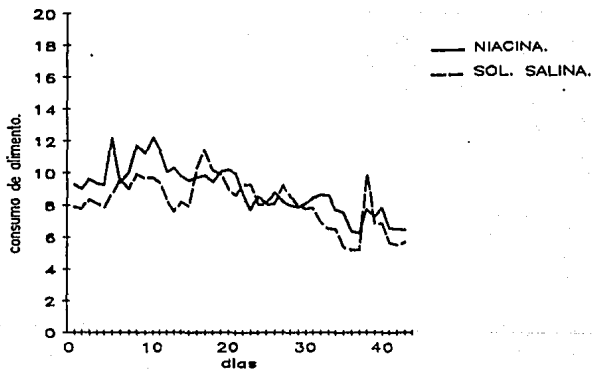


Fig 10. Se grafican la ingesta de alimento de ratas macho alimentadas con una dieta control y que recibieron una administración diaria ya sea de niacina o de solución salina.

Estos resultados muestran que la suplementación de la dieta con niacina, o la administración de niacina intraperitonealmente no modifica la ingesta de alimento.

CUADRO II

Pesos, en relación al peso corporal, de los diferentes órganos y estructuras de las ratas hembras y machos que recibieron una suplementación de niacina en la dieta.

| ORGANO | GRUPOS | | | |
|---------------------------|------------|-----------|------------|-----------|
| | dieta ctrl | dieta exp | dieta ctrl | dieta exp |
| PIEL | 16.9 | 16.7 | 15.1 | 13.4 |
| PULMON Y CORAZON | 1.23 | 1.49 | 1.76 | 2.26 & |
| HIGADO | 4.33 | 5.88 && | 5.45 | 6.35 & |
| BAZO | 0.42 | 0.47 | 0.77 | 0.87 |
| TRACTO DIGES- TIVO. | 12.2 | 12.1 | 12.8 | 16.7 & |
| CANAL CABEZA Y COLA | 56.7 | 56.1 | 58.2 | 57.6 |

& = $p < 0.05$.

&& = $p < 0.01$.

En los cuadros II y III se muestran los pesos, calculados en proporción al peso corporal que los animales poseían el último día del experimento (día 45), de los diferentes órganos y estructuras de

los 8 grupos de animales utilizados. En este caso, el análisis estadístico consistió en la aplicación de la prueba t de Student, comparando las medias de cada uno de los grupos tratados con niacina con su correspondiente grupo control.

La suplementación con niacina de la dieta de ratas hembras, produjo un incremento estadísticamente significativo ($P < 0.01$) en el peso proporcional del hígado únicamente.

El resto de órganos y estructuras mantuvo una proporción muy similar en ambos grupos. Como se muestra en la figura 3, estos grupos no difirieron significativamente cuando se comparo su peso corporal. Sin embargo al compararse, los pesos proporcionales de estos órganos en los machos alimentados con una dieta suplementada con niacina (52 mg/Kg de alimento), con los machos que recibieron una dieta control (16.7 mg/Kg de alimento) las diferencias fueron más importantes. En este caso, el peso del pulmón y corazón, hígado y tracto digestivo fueron estadísticamente mayores en los animales que recibieron la suplementación con niacina que en los sujetos controles. El incremento en estas estructuras provocó una disminución, con respecto a los controles, del peso de la piel y del peso de la canal, cabeza y cola, aunque esta disminución no fue estadísticamente significativa. Los resultados de la comparación entre los grupos de hembras y machos, que recibieron la administración de niacina por vía intraperitoneal se observan en el cuadro III. Las primeras dos columnas se refiere a los valores de este parámetro de las ratas hembras. Se observa que existen diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon el

peso del hígado, bazo y del tracto digestivo ($P < 0.05$). En los 3 casos, estos órganos mostraron pesos mayores que los registrados en los órganos provenientes de los sujetos controles. También los pesos de la canal, cabeza y cola fueron relativamente mayores en los sujetos tratados con niacina, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

CUADRO III

Pesos, en proporción al peso corporal, de los diferentes órganos y estructuras tanto de hembras como de machos, que recibieron una administración diaria ya sea de solución salina o de 1 mg de niacina por vía intraperitoneal.

| ORGANO | GRUPOS | | | |
|---------------------------|------------|---------|------------|---------|
| | sol salina | niacina | sol salina | niacina |
| PIEL | 16.8 | 15.9 | 17.7 | 16.3 |
| PULMON Y CORAZON | 1.49 | 1.83 & | 1.76 | 1.58 |
| HIGADO | 5.03 | 6.97 & | 5.67 | 6.99 & |
| BAZO | 0.69 | 0.98 & | 0.81 | 0.71 |
| TRACTO DIGES- TIVO. | 11.4 | 12.9 & | 12.5 | 12.3 |
| CANAL CABEZA Y COLA | 57.4 | 59.9 | 58.4 | 56.1 |

& = $p < 0.05$

Las dos columnas de la derecha representan los pesos promedio de los órganos provenientes de las ratas macho tratadas con solución salina (grupo control) o con niacina (grupo experimental). En esta situación, la comparación de los pesos de los diferentes órganos, ponderados al peso corporal, utilizando la prueba t de Student, mostró la existencia de diferencias significativas sólo en el caso del peso del hígado; el resto de órganos no mostró diferencia estadística alguna, aunque estructuras como la canal, cabeza y cola también fueron mayores en las ratas tratadas con niacina.

DISCUSION

Los presentes resultados muestran que la rata responde con un incremento en su peso corporal a la administración de niacina, cuando esta vitamina es administrada por vía intraperitoneal. En el caso de las ratas que recibieron la niacina en forma suplementada en la dieta, los resultados son contradictorios.

En el caso de las ratas hembras que recibieron una dieta suplementada con niacina, no se logró detectar cambio significativo alguno durante todo el tiempo que duró la fase experimental (45 días). Sin embargo, en el caso de las ratas machos, los sujetos controles mostraron una mayor ganancia de peso corporal. Este efecto fue estadísticamente significativo desde el día 22 de iniciado el experimento y se mantuvo el resto del mismo.

Los pesos alcanzados por los sujetos macho que recibieron dieta control (grupo III) y por los sujetos que recibieron además de dieta control solución salina intraperitoneal fueron muy similares; al final del experimento, los primeros alcanzaron en promedio el 325 % y los segundos el 319.8 %. Tal comparación muestra que los sujetos controles mostraron una tasa de crecimiento muy similar. Esto indica que los machos alimentados con una dieta suplementada con niacina desarrollan significativamente un crecimiento menor que los sujetos controles. En esta situación la niacina decrece el peso corporal en lugar de incrementarlo como fue sugerido en la hipótesis. Al comparar la ingesta de alimento entre estos 2 grupos, no se encontró diferencia significativa alguna. Por otra parte el análisis post-

mortem de los diferentes órganos, mostró que los sujetos alimentados con una dieta suplementada con niacina mostraron consistentemente un incremento en el peso del hígado (cuadro II).

El efecto depresor de la dieta suplementada con niacina sobre la ganancia de peso corporal, es difícil de explicar. En un estudio realizado en un hato de toretes, la niacina provocó los mismos efectos depresores en algunos animales (14). Los autores de este estudio, tampoco son capaces de ofrecer una explicación a este hecho. Es pertinente recordar que en lo relacionado con el metabolismo del animal, existen muchas similitudes entre el ganado vacuno y algunos roedores como la rata (2,11). Probablemente se trate de un efecto metabólico y para probarlo, sería necesario el realizar algunas valoraciones del funcionamiento metabólico, fundamentalmente sobre la función hepática. Estos resultados sin embargo, muestran que la alimentación, con dietas suplementada con niacina, de tanto hembras como machos, no provoca un efecto promotor de la ganancia de peso corporal.

Inicialmente el proyecto se había diseñado de tal manera que se pretendía utilizar una sonda gástrica para depositar la cantidad exacta de niacina en el estómago. Sin embargo, para evitar el traumatismo que esto representa y para tratar de simular la forma de administración que ocurre en el ganado, decidimos dar esta dosis a través de una suplementación de niacina en la dieta. Se desconoce si el modificar la forma de administración oral de niacina provocó estos resultados ya descritos. Es necesario tomar en cuenta que en la suplementación de la dieta se ignora la dosis total de niacina ingerida, la cual se administra durante un período de varias horas;

mientras que utilizando una administración a través de la sonda nasogástrica, la dosis sería exacta y la administración de la niacina se realizaría en un tiempo relativamente corto. Esto especialmente para la niacina parece ser un efecto importante (1).

Sin embargo, cuando la niacina se administra por vía intraperitoneal los resultados son completamente diferentes. En este caso, la niacina ejerció un efecto significativo tanto en hembras como en machos. En lo relativo a las hembras, se observó un incremento en el peso corporal que se inicia prácticamente desde los primeros días de este experimento. Durante los 45 días que duró la fase experimental las ratas hembras controles incrementaron su peso corporal desde el 100 % que poseían en el día 21 de edad hasta el 290 % que poseían a los 66 días de edad. Cuando a estos animales se les aplicó niacina intraperitonealmente (1 mg) entonces el peso corporal se incrementó hasta aproximadamente el 370 %.

Desde un punto de vista estadístico, la diferencia en pesos de estos 2 grupos se inició desde el 7o. día de tratamiento. Cuando se analizó la ingesta de alimento en estos grupos el cual mostró una alta variabilidad; se encontró que no hubo diferencias estadísticamente significativas (fig 9). En cambio, cuando se analizaron los pesos de los diferentes órganos de ambos grupos se mostró que tanto el hígado como el bazo y el tracto digestivo, tuvieron una mayor proporción con respecto al peso corporal en los animales tratados con niacina que en los animales que recibieron solución salina. También, hubo un pequeño aumento en el peso de la canal, cabeza y cola, aunque este no fue estadísticamente

significativo.

En el caso de las ratas macho inyectadas con 1 mg de niacina, también existió un incremento significativo en el peso corporal. En este caso, los sujetos controles incrementaron hasta aproximadamente el 315. % en los 45 días de duración del experimento; mientras que los sujetos experimentales llegaron hasta el 430 % en el mismo lapso de tiempo. También en estos 2 grupos, el consumo de alimento no difirió significativamente y el único órgano que mostró alguna diferencia en cuanto a su peso proporcional a la masa corporal fue el hígado.

Los cuatro grupos que recibieron niacina, ya sea por vía oral suplementada; o por vía parenteral, como la aplicación intraperitoneal, mostraron un incremento proporcional en el tamaño del hígado.

Varios estudios muestran que el hígado es un órgano, blanco para los efectos provocados por la administración de niacina. Así, en un trabajo reciente tanto McCreanor y Bender (12) muestran que en la rata, la administración de niacina provoca un incremento en las concentraciones de las coenzimas que utilizan nucleótidos de nicotinamida (NAD y NADP). Este efecto, el cual se acentúa de acuerdo a la duración e intensidad de la dosis administrada, se provoca en los microsomas hepáticos y se asocia con incrementos en todas las enzimas que utilizan NAD y NADP como coenzimas (16).

Esta mayor actividad enzimática podría explicar el aumento en

el peso proporcional del hígado que muestran los animales tratados con niacina. Si esto es cierto, entonces los animales deberían de mostrar un incremento tanto en la producción como en la concentración de enzimas hepáticas; así como en los procesos metabólicos en que ellas intervienen. Sería recomendable entonces el realizar un estudio que analice la función hepática en animales que han recibido niacina en forma crónica. Es importante señalar que este incremento en el tamaño del hígado puede también representar una alteración tóxica. Desde hace tiempo, se mostró que tanto el ácido nicotínico como la niacinamida son particularmente hepatotóxicos cuando se administra en dosis altas (19).

Los incrementos de peso de los animales que recibieron niacina, aparentemente no son debidos a un aumento en la ingesta de alimento, puesto que no se encontró diferencia estadística en este parámetro. No se descarta la posibilidad, sobre todo por la gran variabilidad encontrada, de que el método aquí propuesto para valorar la ingesta de alimento, no sea del todo adecuado. Quizá utilizando métodos más refinados para medir no sólo la cantidad de alimento ingerido, sino la duración del tiempo que estos animales utilizan para comer, podría proveérsenos de información más precisa sobre el efecto que ejerce la niacina en la ganancia del peso corporal.

Estos resultados muestran que la rata constituye un modelo experimental adecuado para estudiar los efectos metabólicos que provoca la administración de niacina en la promoción de la ganancia de peso, aunque no reproduce el efecto de la suplementación de la dieta con niacina reportado por otros autores sobre el crecimiento

corporal, la ingesta de alimento y la ganancia de peso corporal en los bevinos.

LITERATURA CITADA

- 1.- Bender, D.A.: Effects of benserazide, carbidopa and isoniazid administration on tryptophan-nicotinamide nucleotide metabolism in the rat. *Biochemical Pharmacology*. 29: 2099-2104 (1980).
- 2.- Blood, D.C., J.A. Henderson y D.M. Radostits: *Médecina Veterinaria*, 5a. ed., Ed. Interamericana, México, D.F., pp. 981 (1983).
- 3.- Bowman, W.C. y M.J. Rand: *Farmacología: Bases Bioquímicas y Patológicas, Aplicaciones Clínicas*, 2a. ed., Ed. Interamericana, México, D.F., pp. 43.11-43.12 (1985).
- 4.- Byers, F.M.: *Memorias del curso de actualización, nuevos conceptos sobre vitaminas y aditivos para rumiantes*. UNAM, México, D.F., 17: 1-5 (1982).
- 5.- Conn, E.E. y P.K. Stumpf: *Bioquímica Fundamental*. 2a. ed., Ed. Limusa, México, D.F., pp. 167-172 (1975).
- 6.- Harrison, T.: *Principles of Internal Medicine*. Wintrob, Thorn, (Eds), 7a. ed. Ed. McGraw-Hill, New York, pp. 427-430 (1976).
- 7.- Gras, J.: *Fundamentos de Bioquímica Médica*, 5a. ed., Ed. Toray, Barcelona, España. pp. 174-175 (1971).
- 8.- Goodman, S.L. y G. Gilman: *Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, 6a. ed. Ed. Interamericana, México, D.F. pp. 1310-1312 (1980).
- 9.- Lehninger, S.A.: *Bioquímica*, 2a. ed., Ed. Omega, Barcelona, España. pp. 346-349 (1978).
- 10.- Katzung, G.B.: *Farmacología Básica y Clínica*, 2a. ed. Ed. El manual Moderno, México, D.F. pp. 407-408 (1986).

- 11.-Maynard, A.L., K.L. Loosli, F.H. Hintz y G.R. Warner: *Nutrición Animal*, 4a. ed., Ed. McGraw-Hill, México, D.F. pp. 343-347 (1981).
- 12.-McCreaon, G.M. y A.D. Bender: The metabolism of high intakes of tryptophan, nicotinamide and nicotinic acid in the rat. *Brit. J. Nutr.* 56: 577-586 (1986).
- 13.-Merk Index.: *An encyclopedia of Chemicals and Drugs*, Rohway, N.J.k, Ed. Merk y Co; inc., pp. 730-731 (1986).
- 14.-Muirhead, S.: Niacin addition found not to improve feedlot performance. *Feedtuff* 50: 14-15 (1986).
- 15.-Mutcheson, D.P. y J.M. Cummins: The use of niacin in receiving diets for feeder calves. *J. Anim. Sci.* 1: 481 (1984).
- 16.-Nomura, K., M. Shin, K. Sano, Ch. Umezawa, y T. Shimada: Effect of nicotinamide administration to rats on the liver microsomal drug metabolizing enzymes. *Intern. J. Vit. Nutr. Res.* 53: 36-43 (1983).
- 17.-Nutrient requirements of laboratory animals. Subcommittee on laboratory animal nutrition. National academy of sciences. Washington, D.C. No. 10, pp. 56-83 (1972).
- 18.-Osmond, H. y A. Hoffer.: Macine niacin treatment schizophrenia. *Lancet* 1: 316-320 (1962).
- 19.-Parsons, W.B.: Treatment of hypercholesteremia by nicotinic acid. Progress report with review of studies regarding mechanism of action. *Arch. Int. Med.* 107: 639-652 (1961).
- 20.-Pollin, W., P.V. Cardon y S.S. Kety.: Effects of aminoacid feeding in schizophrenic patients treated with iproniazid. *Science* 133: 104-105 (1961).

- 21.-Riddell, D.O., E.E. Bartley y A.D. Kayton: Effect of nicotinic acid on rumen fermentation in vitro and in vivo. J. Dair. Sci. 63: 1429-1436 (1980).
- 22.-Riddell, D.O., E.E. Bartley y A.D. Kayton: Effect of nicotinic acid on microbial protein synthesis in vitro and on dairy cattle growth and milk production. J. Dair. Sci. 64: 782-791 (1981).
- 23.-Riddell, D.O., E.E. Bartley, T.G. Arambet, T.G. Nagaraja, A.D. Kayton y G.W. Miller: Effect of niacin supplementation on ruminal niacin synthesis and degradation in cattle. Nutr. R. Intern. 31: 407-413 (1985).
- 24.-Shibata, K., K. Tanaka y K. Murata: Efficiency of exogenous quinolinic acid as niacin in rats. Agric. Biol. Chem. 50: 2025-2032 (1986).
- 25.-Sierra de la, V.A.: Niacina o Nicotinamida. Cuadernos de Nutrición, Instituto de la Nutrición, México, D.F. 5: 85-92 (1980).
- 26.-Sumano, L.H. y C.L. Ocampo: Farmacología Veterinaria, 1a. ed., Ed. McGraw-Hill, México, D.F. pp. 85 (1987).