

EFFECTOS TOXICOLOGICOS PRODUCIDOS POR LA INGESTA CRONICA DE ACEITES VEGETALES BROMADOS¹

Claudio Bernal², María Z. Basílico² y Yolanda B. Lombardo^{2,3}

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas
Universidad Nacional del Litoral,
Santa Fe, Argentina

RESUMEN

Se estudiaron las alteraciones de parámetros lipídicos a nivel tisular y plasmático en un grupo de ratas macho de la cepa Wistar, alimentadas con una dieta normal de laboratorio suplementada con aceites vegetales-oliva, girasol-bromados (0.1 g/100 g de dieta), durante 15 semanas, comparando los resultados obtenidos con un grupo control. El primer grupo presentó niveles estadísticamente elevados de triglicéridos en corazón y soleus, y de colesterol total y esterificado en músculo cardíaco, acompañados por un descenso en los niveles plasmáticos de colesterol total y de la fracción de lipoproteínas de alta densidad (HDL-colesterol). Algunas de estas anomalías fueron compartidas por ratas alimentadas con la dieta normal de laboratorio suplementada con 0.5 g de aceites vegetales bromados/100 g dieta.

Los niveles hepáticos de triglicéridos, proteínas totales y glucógeno, así como la curva de crecimiento y la ingesta calórica de los animales que fueron alimentados con una dosis de aceites bromados de 0.1 g/100 g de dieta, fueron similares a los del grupo control.

En síntesis, los efectos toxicológicos observados durante la ingesta crónica de dietas suplementadas con dosis relativamente bajas de aceites bromados, señalan la necesidad de emprender un estudio bioquímico más exhaustivo de los mismos. Ello es imperativo para establecer los niveles máximos con que estos agentes podrían ser utilizados sin riesgo de producir alteraciones biológicas considerables.

Manuscrito modificado recibido: 22-9-86.

- 1 Este trabajo se llevó a cabo bajo los auspicios del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Subsidio No. 10310 a/83 y de la Secretaría de Estado de Ciencia y Tecnología (SECYT), Subsidio No. 10679/83-5, 83-6.
- 2 Todos los autores son miembros del Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral, Santiago del Estero 2829, (3000) Santa Fé, Argentina.
- 3 Miembro de la Carrera de Investigador Científico, CONICET, Argentina.

INTRODUCCION

Los aceites bromados son líquidos de gran viscosidad que se obtienen como producto de bromación de aceites alimenticios de distinta naturaleza (oliva, girasol, maíz, etc.). Se utilizan para el ajuste del peso específico de los aceites cítricos esenciales constituyentes de las bebidas alcohólicas refrescantes. A pesar de su considerable uso como aditivos alimentarios, existe poca información disponible en cuanto a sus propiedades toxicológicas. Al respecto, Munro *et al.* (1, 2) demostraron, en ratas alimentadas por períodos prolongados —15 semanas— con una dieta estándar de laboratorio suplementada con 2.5 g de aceite de algodón bromado/100 g de dieta, retardo en el crecimiento, con aumento en el peso de determinados órganos: corazón, hígado, y riñones; la microscopía óptica reveló, al mismo tiempo, acumulación lipídica en hígado y degeneración grasa en el miocardio. Por otro lado, los mismos autores (3) constataron una disminución en la actividad de la enzima glucosa-6 fosfato dehidrogenasa en el hígado, con dosis menores (0.1 y 0.5 g/100 g) durante el mismo período de tiempo.

Trabajos recientes realizados por nuestro grupo de investigadores demostraron, entre otras alteraciones bioquímicas, que la suplementación con 0.5 g de una mezcla de aceite bromado de oliva-girasol/100 g de dieta, durante 15 semanas, produce en ratas un incremento significativo de los niveles de triglicéridos, colesterol total y esterificado en músculo cardíaco. Se observó, a la vez, un descenso de los niveles plasmáticos de estos parámetros lipídicos. Estudios complementarios sobre la actividad de la enzima piruvato dehidrogenasa, de lipólisis *in vitro* en perfusión de corazón aislado, y de las actividades lipolíticas en plasma post-heparínico, sugieren la existencia de un efecto toxicológico en el músculo cardíaco que estaría involucrado en la biosíntesis de triglicéridos, más que en su catabolismo (4).

En relación con lo expuesto, el objetivo del presente trabajo fue determinar alteraciones de parámetros lipídicos a nivel tisular y plasmático, en animales alimentados con una dieta suplementada con aceites vegetales —de oliva-girasol bromados— (0.1 g/100 g de dieta), durante 15 semanas. Estos resultados fueron comparados con los obtenidos en animales que recibieron una dosis de los mismos al nivel de 0.5 g/100 g de dieta.

MATERIAL Y METODOS

Animales y Dietas

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, cuyo peso inicial era de 70 a 80 g. Desde su arribo al laboratorio los animales fueron mantenidos para su aclimatación en el bioterio, a la temperatura estabilizada de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas y libre acceso al agua y dieta normal de laboratorio (Labina-Purina S. A.). Una semana después, los animales fueron divididos al azar en tres grupos; el primero —Grupo A— continuó recibiendo la dieta normal de laboratorio suplementada con 0.5 g de aceite de maíz/100 g de comida (A: control); el segundo —Grupo B—

recibió la dieta normal de laboratorio suplementada con 0.4 g de aceite de maíz y 0.1 g de aceites vegetales bromados/100 g de comida (B: 0.10/o de aceites bromados/100 g dieta); y el tercero —denominado Grupo C— la misma dieta control suplementada con 0.5 g de aceites vegetales bromados/100 g comida (C: 0.50/o de aceites bromados/100 g dieta). Los aceites vegetales bromados utilizados corresponden a una mezcla de girasol-oliva, apto para el consumo: Densitol "A", Laboratorios Abbott, peso específico 1.305-1.315 a 25°C. Cada dieta aportó aproximadamente 365 calorías/100 g de comida; las mismas fueron administradas *ad libitum* durante un período de 15 semanas. El control de peso se registró dos veces por semana y, en forma paralela, se determinó ingesta calórica y la ganancia de peso corporal en seis animales de cada grupo, dos veces por semana. La ingesta calórica fue estimada calculando la cantidad de comida consumida de la siguiente manera: se pesó la comida ofrecida y la remanente luego de 24 horas de permanecer en la jaula previo separado de las heces. La corrección por la presencia de orina se hizo por secado en estufa, procesándose simultáneamente una muestra de referencia. El promedio de la ingesta calórica por animal y por día (calorías/día) se calculó dividiendo la ingesta calórica total de cada jaula por el número de ratas allí presentes.

El día del experimento se retiró la comida a las 6 horas y las tomas de muestra se realizaron entre las 10 y 12 horas.

Métodos Analíticos

Todos los animales en estudio fueron anestesiados con pentobarbital sódico (60 mg/kg de peso corporal), intraperitonealmente; las muestras de sangre obtenidas de la vena yugular se recogieron en tubos enfriados y se centrifugaron a 4°C. El suero así obtenido se procesó de inmediato o fue congelado a -20°C no más de 3 días. Las determinaciones de triglicéridos (TG) (5), colesterol total (CT) (6) y colesterol de la fracción de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) (6, 7) fueron realizadas por métodos espectrofotométricos. Se pesó el hígado y el corazón de los animales pertenecientes a los tres grupos. El contenido de TG (5) en hígado, corazón y soleus se determinó en alícuotas de homogeneizados obtenidos a partir de tejidos congelados a la temperatura del nitrógeno líquido. Los detalles de la metodología de obtención y procesamiento de los tejidos fueron descritos previamente (4). El contenido de glucógeno en hígado y corazón se cuantificó por el método enzimático de Hüjning (8), expresándose los resultados en equivalentes de glucosa. El contenido de DNA tisular se determinó por microadaptación de la técnica informada por Richard (9). Los niveles de colesterol total (CT) y de colesterol esterificado (CE) en músculo cardíaco fueron establecidos en una alícuota del homogeneizado por el método de Leffler (6). Las proteínas totales se cuantificaron por el método de Lowry *et al.* (10). Los distintos parámetros estudiados fueron analizados estadísticamente utilizando el test "t" de Student (11).

Materiales Utilizados

Las enzimas, cofactores y drogas patrones utilizados se obtuvieron de

los Laboratorios Boehringer Mannheim Biochemicals, Indianapolis, Indiana, USA; o Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, USA. Los demás reactivos fueron de grado ACS.

RESULTADOS

La Figura 1 muestra gráficamente el crecimiento y la ingesta calórica de los grupos de ratas que durante 15 semanas recibieron la dieta control y la suplementada con 0.1 y 0.5 g de aceites bromados/100 g dieta. Según puede observarse, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos, para los parámetros analizados.

En la Tabla 1 se aprecian, asimismo, los niveles plasmáticos de TG, CT y HDL-C. Los niveles de CT y HDL-C se encuentran significativamente disminuidos respecto a los del Grupo A, tanto en los animales del Grupo B, como en los del Grupo C. La relación o/o HDL-C/CT permanece invariable. Por otra parte, los valores de TG correspondientes a los animales del Grupo B, son semejantes a los del Grupo A, mientras que los mismos se encuentran significativamente disminuidos en el Grupo C.

El peso y la composición del hígado en los grupos de ratas sometidos a estudio se exponen en la Tabla 2. Las alteraciones bioquímico-metabólicas observadas en los animales del Grupo C en cuanto al peso del órgano, contenido de proteínas totales y TG, no fueron evidenciados al disminuir la dosis.

En lo referente al peso y composición del corazón en los animales en estudio, éstos pueden observarse en la Tabla 3. Como los datos lo revelan, los niveles de TG, CT, CE y la relación o/o CE/CT están significativamente elevados en los animales del Grupo C respecto a los del Grupo A. Los parámetros en cuestión, continúan significativamente elevados, a pesar de que la dosis de aceites bromados empleada fue menor (0.1 g/100 g de dieta).

El contenido de TG en soleus acusó un incremento estadísticamente significativo en ambos Grupos: Grupo B ($x \pm SEM$ 11.50 \pm 2.60 μ moles/g/tejido húmedo, n = 5, P < 0.01), Grupo C (25.33 \pm 4.03 μ moles/g tejido húmedo, n = 5, P < 0.01) respecto del Grupo A (5.73 \pm 1.13 μ moles/g tejido húmedo, n = 9).

DISCUSION

Los resultados del estudio que nos ocupa, demuestran que una ingesta crónica de aceites bromados 0.1 g/100 g de dieta induce un incremento significativo en el contenido de triglicéridos en corazón y soleus, y de colesterol en músculo cardíaco. Este aumento se acompaña de un descenso en los niveles plasmáticos de colesterol total y HDL-colesterol en relación con las ratas que recibieron la dieta control por un período similar de tiempo.

Las alteraciones en el contenido lipídico del músculo cardíaco de los animales alimentados con la dosis de 0.1 g, son semejantes a las observadas en las ratas alimentadas con una dosis de 0.5 g/100 g de dieta. Según hemos demostrado recientemente (4), en este último grupo, en corazón

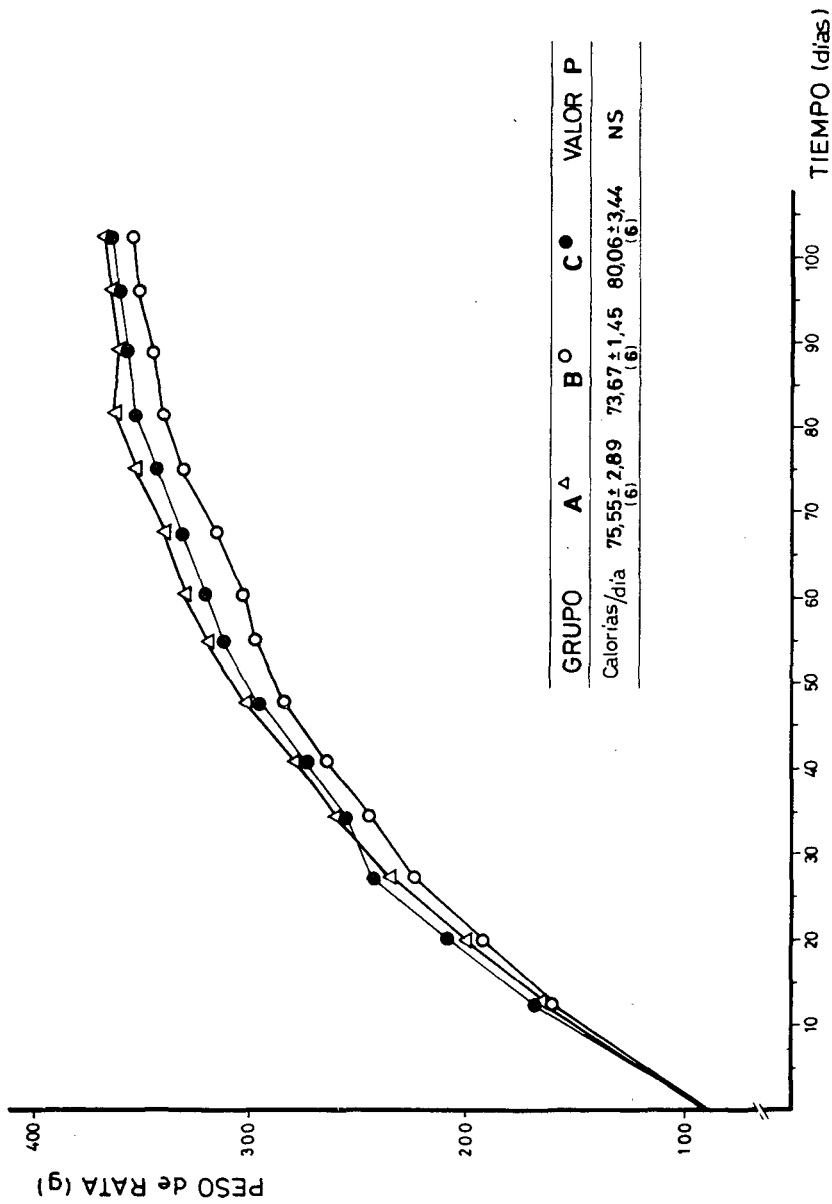


FIGURA 1

Curva de crecimiento e ingesta calórica de los grupos de ratas sometidas a estudio

TABLA 1

PERFIL LIPIDICO DEL PLASMA

	Grupo A	Grupo B	Grupo C
Triglicéridos (mmol/l)	0.77 ± 0.08 ^a (6)	0.79 ± 0.09 (6)	0.29 ± 0.05*** (10)
Colesterol (mmol/l)	1.63 ± 0.07 (10)	1.25 ± 0.10** (11)	1.11 ± 0.08*** (7)
HDL-Colesterol (mmol/l)	1.04 ± 0.07 (13)	0.81 ± 0.05* (8)	0.63 ± 0.09* (3)
Relación o/o: $\frac{\text{HDL-Colesterol}}{\text{Colesterol}}$	56 ± 2 (10)	60 ± 2 (8)	52 ± 1 (3)

Grupo A: Dieta normal de laboratorio, suplementada con 0.5 g de aceite de maíz/100 g dieta.

Grupo B: Dieta normal de laboratorio, suplementada con 0.4 g de aceite de maíz y 0.1 g de aceite bromado/100 g dieta.

Grupo C: Dieta normal de laboratorio, suplementada con 0.5 g de aceite bromado/100 g dieta.

^a $\bar{x} \pm EE$.

* P < 0.05

** P < 0.01

** P < 0.001

Respecto del Grupo A

() Las cifras entre paréntesis son el número de determinaciones individuales.

EE = Error estándar.

PESO DEL HIGADO Y COMPOSICION BIOQUIMICA

	Grupo A	Grupo B	Grupo C
Peso órgano/100 g rata	3.47 ± 0.08 ^a (5)	3.56 ± 0.10 (6)	4.41 ± 0.07*** (5)
DNA (mg/g órgano)	3.84 ± 0.20 (5)	3.73 ± 0.16 (5)	3.51 ± 0.22 (4)
DNA (mg/100 g rata)	14.0 ± 0.6 (5)	13.2 ± 0.5 (5)	17.7 ± 1.8 (4)
Proteínas totales (mg/100 g rata)	718 ± 41 (3)	640 ± 37 (5)	1012 ± 32*** (7)
Glucógeno (µmoles/100 g rata)	903 ± 58 (6)	1279 ± 65 (5)	977 ± 33 (6)
Triglicéridos (µmoles/100 g rata)	34.7 ± 2.8 (3)	29.0 ± 2.4 (12)	80.6 ± 5.2*** (8)

Grupo A: Dieta normal de laboratorio, suplementada con 0.5 g de aceite de maíz/100 g dieta.

Grupo B: Dieta normal de laboratorio, suplementada con 0.4 g de aceite de maíz y 0.1 g de aceite bromado/100 g dieta.

Grupo C: Dieta normal de laboratorio, suplementada con 0.5 g de aceite bromado/100 g dieta.

^a $\bar{x} \pm EE$.

* P < 0.05

** P < 0.01

*** P < 0.001

Respecto al Grupo A

() Número de determinaciones individuales.

EE = Error estándar.

TABLA 3

PESO DEL CORAZON Y COMPOSICION BIOQUIMICA

	Grupo A	Grupo B	Grupo C
Peso órgano/100 g rata	0.28 ± 0.03 ^a (5)	0.29 ± 0.01 (12)	0.31 ± 0.01 (5)
DNA (mg/g órgano)	2.20 ± 0.15 (4)	2.18 ± 0.17 (3)	2.21 ± 0.19 (4)
Proteínas totales (mg/g órgano)	190 ± 12 (10)	186 ± 15 (4)	212 ± 11 (5)
Glucógeno (µmol/g órgano)	10.5 ± 1.6 (5)	11.3 ± 1.1 (7)	6.7 ± 0.7* (5)
Triglicéridos (µmol/g órgano)	3.4 ± 0.2 (4)	7.4 ± 1.0** (12)	5.6 ± 0.2*** (4)
Colesterol total (µmol/g órgano)	5.06 ± 0.18 (6)	9.26 ± 0.41*** (6)	0.92 ± 0.31*** (6)
Colesterol esterificado (µmol/g órgano)	1.86 ± 0.21 (4)	8.11 ± 0.39*** (6)	4.34 ± 0.28*** (6)
Relación o/o: $\frac{\text{Colesterol esterificado}}{\text{Colesterol total}}$	36 ± 3 (4)	89 ± 2*** (6)	61 ± 1*** (6)

Grupo A: Dieta normal de laboratorio, suplementada con 0.5 g de aceite de maíz/100 g dieta.

Grupo B: Dieta normal de laboratorio, suplementada con 0.4 g de aceite de maíz y 0.1 g de aceite bromado/100 g dieta.

Grupo C: Dieta normal de laboratorio, suplementada con 0.5 g de aceite bromado/100 g dieta.

^a $\bar{x} \pm EE$.

* P < 0.05.

** P < 0.01

*** P < 0.001

Respecto del Grupo A

() Número de determinaciones individuales.

EE = Error estándar.

perfundido *in vitro*, se ha constatado una respuesta lipolítica normal a la hormona glucagon, conjuntamente con niveles de actividades lipolíticas post-heparínicas del plasma dentro del rango considerado como normal.

El incremento similar en el contenido de triglicéridos del músculo cardíaco, tanto con dosis de 0.1 como de 0.5, podría deberse al menos en parte, a un descenso de la oxidación del ácido palmítico, demostrada por Munro *et al.* (12) en experiencias realizadas *in vitro* utilizando dosis agudas mayores. Al respecto, recientemente Jones y colaboradores (13) han encontrado acúmulo de ácidos grasos de 14 y 16 átomos de carbono en corazón, hígado y tejido adiposo de ratas a las que se les suministró aceite bromado de maíz, sugiriendo estos hallazgos una β -oxidación defectuosa en dichos órganos. Otra posibilidad que contribuiría al incremento del contenido de triglicéridos en el músculo cardíaco es la sugerida por Munro y colaboradores (2) en relación a la hipoxia. Es un hecho bien conocido que la hipoxia estimula la glucogenólisis (14), y a ese particular, nosotros encontramos una importante disminución en el contenido de glucógeno cardíaco, al alimentar a los animales con una dosis de aceites bromados de 0.5 g/100 g de dieta; sin embargo, al disminuir la dosis a 0.1, este hecho no pudo ser constatado.

Otro aspecto a tener en cuenta y que ha sido estudiado por diferentes investigadores (13, 15, 16) es el referente a que la ingesta de compuestos derivados del 9-10 dibromoestearato (DBE) y 9-10, 12-13 tetrabromoestearato (TBE) produce un acúmulo diferencial de los mismos en tejidos tales como corazón, hígado, y adiposo, sugiriendo que seguirían vías diversas de movilización y/o metabolización. No obstante, Jones *et al.* (13) observaron que el efecto tóxico de los aceites bromados vegetales es más pronunciado que el producido por los monoglicéridos sintetizados a partir de los DBE y TBE puros. Ajeno a ello, el efecto tóxico depende, al menos en cierta medida de la naturaleza del aceite bromado vegetal utilizado (2, 17), así como también del sexo del animal sometido a experimentación (2).

El control de la lipólisis en corazón puede ser el resultado de la remoción de sus ácidos grasos, o bien del suministro de un sustrato alternativo para el metabolismo energético en dicho órgano; los mecanismos que regulan la lipólisis *in vivo* en los animales que reciben aceites bromados, no se conocen al presente. Murthy y Shipp (18) demostraron recientemente un incremento en la actividad de la enzima glicerofosfato aciltransferasa en corazón de ratas diabetizadas con aloxano, en las que el contenido de triglicéridos en el músculo cardíaco está sensiblemente incrementado. Este aumento en la síntesis de triglicéridos, acompañado de una inhibición de la lipólisis por los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos, estaría relacionado con la acumulación de triglicéridos en estas condiciones experimentales. En la actualidad, no disponemos de información sobre la actividad de la enzima glicerofosfato aciltransferasa en ratas alimentadas con dietas suplementadas con aceites bromados.

El significativo incremento observado en el contenido de triglicéridos del hígado de ratas que recibieron 0.5 g de aceites bromados, no pudo ser constatado en las que recibieron una dosis menor (0.1 g). Munro *et al.* (2), en cortes de hígado, observaron por microscopía óptica un acúmulo de sustancia grasa solamente en 20 a 40% de los animales que recibieron aceites bromados en dosis de 0.1 g/100. Se constataron diversas

modificaciones en los niveles plasmáticos de triglicéridos, colesterol total y HDL-colesterol, tanto en los animales alimentados con dietas suplementadas con 0.5 como con 0.1 g/100 g, respecto de los animales controles. Este hallazgo sugeriría una alteración a nivel hepático de la síntesis, transporte y/o catabolismo de las lipoproteínas de dicho origen, que impulsan a realizar un estudio más exhaustivo en cuanto a su secreción y composición.

En síntesis, los efectos toxicológicos observados en las ratas durante la ingesta crónica de dietas suplementadas con dosis relativamente bajas de aceites bromados, sugieren la necesidad de efectuar un estudio bioquímico más exhaustivo de los mismos. A nuestro juicio, esto sería indispensable para establecer los niveles máximos con que estos agentes podrían ser utilizados sin riesgo de producir alteraciones biológicas considerables.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a los Sres. L. Argento y A. Ferrigutti por la valiosa asistencia técnica que tuvieron a bien brindarles. A la Srta. E. Ferrigutti agradecen, asimismo, la transcripción mecanográfica del presente trabajo.

SUMMARY

TOXICOLOGIC EFFECTS PRODUCED BY THE CHRONIC INTAKE OF BROMINATED VEGETABLE OILS

Several biochemical parameters of male Wistar rats fed during 15 weeks with standard laboratory chow, supplemented with 0.1 g of brominated vegetable oil (olive, sunflower) per 100 g of diet, were compared to those of a control group fed a normal diet during the same period of time. The former group showed a significant increase of triglyceride content in both heart and soleus muscle, as well as of total and sterified cholesterol in heart muscle. This increase was accompanied by decreased plasma levels of total and HDL-cholesterol. Some of these abnormalities were similar to those observed in rats fed the same standard laboratory chow, supplemented with 0.5 g of brominated oil per 100 g of diet.

The hepatic levels of triglycerides, total proteins and glycogen, as well as the weight gain and caloric intake of the animals which were fed 0.1 g of brominated oil per 100 g diet, were similar to those of the control group.

In summary, the toxicologic effects observed during the chronic intake of diets supplemented with relatively low doses of brominated oils, suggest the need to undertake wider and deeper biochemical studies. The authors consider that these are necessary in order to ascertain the maximum tolerance levels for the use of these compounds, to minimize the risk of inducing important biological alterations.

BIBLIOGRAFIA

1. Munro, I. C., F. A. Salem, T. Goodmand & S. H. Hasnain. Biochemical

- pathological changes in the heart and liver of rats given brominated cottonseed oil. *Toxicol. Appl. Pharmac.*, **19**: 62-70, 1971.
2. Munro, I. C., B. Hand, E. J. Middleton, H. A. Heggtveit & H. C. Grice. Toxic effects of brominated vegetable oils in rats. *Toxicol. Appl. Pharmac.*, **22**: 432-439, 1972.
 3. Munro, I.C., B. Hand, E.J. Middleton, H.A. Heggtveit & H.C. Grice. Biochemical and pathological changes in rats fed low dietary levels of brominated cottonseed oil. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **9**: 631-637, 1971.
 4. Lombardo, Y. B., A. Chicco, M. Z. Basílico, C. Bernal & R. Gutman. Abnormal lipid metabolism in the heart of rats fed a standard diet supplemented with 0.5% of brominated vegetable oils. *Lipids*, **20**: 425-432, 1985.
 5. Laurell, S. A method for routine determination of plasma triglycerides. *Scandinav. J. Clin. Lab. Investigation*, **18**: 668-672, 1966.
 6. Leffler, H. H. Estimation of cholesterol in serum. *Am. J. Clin. Pathology*, **31**: 310-313, 1959.
 7. U. S. Department of Health, Education and Welfare. National Public Health Service. *Manual of Laboratory Operations, Lipid Research Clinics Program. Lipid and Lipoprotein Analysis*. Washington, D. C., 1974, p. 56. (DHEW Publication No. (NIH) 75-628).
 8. Hüjting, F. A rapid enzymatic method for glycogen estimation in very small tissue samples. *Clin. Chim. Acta*, **30**: 567-572, 1970.
 9. Richard, G. M. Modifications of the diphenylamine reaction given increased sensitivity and simplicity in the estimation of DNA. *Anal. Biochem.*, **57**: 369-376, 1974.
 10. Lowry, O.H., M.J. Rosebrough, A.L. Farr & R.J. Randall. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265-275, 1951.
 11. Snedecor, G. W. P. *Statistical Methods Applied to Experiments in Agriculture and Biology*. Ames, Iowa, Iowa State University Press, 1956, p. 291-292.
 12. Munro, I. C., S. Hasnain, F. A. Salem, T. Goodman, H. C. Grice & H. A. Heggtveit. Cardiotoxicity of brominated vegetable oil. In: *Miocardiology. Vol. I. Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism*. E. Bajusz & G. Rona (Eds.). Baltimore, London, Tokyo. University Park Press, 1972, p. 588-595.
 13. Jones, B. A., I. J. Tinsley, G. Wilson & R. R. Lowry. Toxicology of brominated fatty acids: metabolite concentration and heart and liver changes. *Lipids*, **18**: 327-334, 1983.
 14. Cornblath, M., P. J. Randle, A. Parmeggiani & H. E. Morgan. Regulation of glycogenolysis in muscle. Effects of glucagon and anoxia on lactate production, glycogen content, and phosphorylase activity in the perfused isolated rat heart. *J. Biol. Chem.*, **238**: 1592-1597, 1963.
 15. Jones, B. A., I. J. Tinsley & R. R. Lowry. Bromine levels in tissue lipids of rats fed brominated fatty acids. *Lipids*, **18**: 319-326, 1983.
 16. Wilson, G. R., I. J. Tinsley & R. R. Lowry. Fatty acid composition of liver lipids in rats fed brominated fatty acids. *Lipids*, **18**: 661-663, 1983.
 17. Lawrence, J. F., R. K. Chadha, F. Iverson, P. Mc Guire & H. B. S. Conacher. Brominated fatty acid distribution in tissues and fluids of rats fed brominated vegetable oils. *Lipids*, **19**: 704-707, 1984.
 18. Murthy, V. K. & J. Shipp. Heart triglyceride synthesis in diabetes: Selective increase in activity of enzymes of phosphatidate synthesis. *J. Mol. Cell Cardiol.*, **12**: 299-309, 1980.