

EFFECTO DEL LECHO DE BAGAZO DE CAÑA EN LOS NIVELES DE GLUCEMIA DE RATAS WISTAR

EFFECT OF BAGASSE CANE BED ON BLOOD GLUCOSE LEVELS IN WISTAR RATS

¹Bequer Mendoza Leticia¹, Gómez Hernández Tahiry¹, Ramírez Díaz Pedro², Alfonso Pestano Ana Delia¹, Díaz Geagea Liess², Blanco Machado Freissman²

¹Unidad de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Ciencias Médicas. Villa Clara. Cuba. ²Centro de Toxicología Experimental. Universidad de Ciencias Médicas. Villa Clara. Cuba.

RESUMEN

Los resultados obtenidos de un experimento con animales de laboratorio dependen, en gran parte, del ambiente creado para cada investigación, al grado que un mal manejo del mismo puede invalidar el ensayo. Entre los aspectos que más influyen en un experimento están la caja o jaula, cama, temperatura, humedad y la composición gaseosa y particulada del aire. El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto del lecho de bagazo de caña sobre los niveles de glucemia de ratas Wistar. Se estudiaron las concentraciones de glucosa en sangre (luego de un ayuno de 16 horas) de 20 ratas Wistar hembras sanas en las semanas 7, 8, 9 y 10 de nacidas. Para ello se utilizaron un Glucómetro y Biosensores SUMA. Para evaluar la influencia del lecho se procedió, en la semana 8, a cambiar la cama de virutas de maderas por bagazo de caña una hora antes de realizar la medición de glucosa correspondiente. Esta cama se mantuvo por 72 horas. Aplicando pruebas no paramétricas se encontró que los valores medios de las glucemias obtenidos en la semana 8 fueron significativamente superiores a los resultados del resto de las semanas. Se comprobó además que el consumo prolongado del material durante más de 72 horas modificó las glucemias de la semana siguiente pero ya en la semana 10 se restablecieron los niveles en todos los animales por debajo de 110 mg/dl. Se concluye que el lecho de bagazo de caña modifica significativamente los niveles de glucemia en ratas Wistar, por lo que los investigadores deben seleccionar el material de cama más apropiado cuando se emplean modelos experimentales para el estudio de enfermedades metabólicas.

Palabras clave: ratas Wistar, glucemia, lecho bagazo de caña.

¹ Leticia Bequer Mendoza. Unidad de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Ciencias Médicas. Villa Clara. Cuba. Carretera al Acueducto. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. leticiabm@ucm.vcl.sld.cu

Recibido: 22/06/2012. Aceptado: 25/09/2012.

ABSTRACT

The results obtained in an experiment with laboratory animals depend, mostly of the environment created for each investigation, to the point that a mishandling of it may invalidate the test. Among those most influential factors in an experiment are: the box or cage, bed, temperature, humidity and air gas composition and air particulate. The objective of this experiment was to evaluate the effect of cane bagasse bed in the blood glucose levels in Wistar rats. Blood glucose levels were studied in (after a fast of 16 hours) of 20 healthy female Wistar rats at 7, 8, 9 and 10 weeks after born, by glucometer and Biosensors SUMA. In order to evaluate the influence of the bed, at week 8, we proceeded to change the bed of wood chips for cane bagasse, one hour before performing the corresponding measurement of blood glucose. This bed was maintained for 72 hours. Applying nonparametric tests, it was found that the average values of blood glucose obtained on week 8 were significantly higher than the rest of the weeks. Furthermore it was verified that prolonged intake of the material for more than 72 hours modified the blood glucose values in the following week but by week 10, levels below 110 mg/dl were restored in all animals. It is concluded that the bed of cane bagasse significantly modifies blood glucose levels in Wistar rats, therefore investigators must select the most appropriate bedding material when used in experimental models for the study of metabolic diseases.

Keywords: Wistar rats, blood glucose levels, bed.

INTRODUCCIÓN

Los modelos experimentales son herramientas biológicas que han permitido el estudio de procariontes (bacterias y otros microorganismos) y eucariontes (animales y vegetales), facilitando el conocimiento de los procesos de la vida tanto naturales como patológicos, por lo cual, es adecuado conocer su manejo, respetando los derechos de los animales de acuerdo a los tratados de Helsinki (Cardozo *et al.*, 2007).

La investigación en el área biomédica demanda gran cantidad de animales de laboratorio con características biológicas específicas y en la oportunidad solicitada por el investigador. El cuidado, la utilización apropiada y el trato humanitario de los animales empleados en investigación, además de las pruebas de laboratorio y educación requieren de un conocimiento especializado de los ambientes, procesos y procedimientos relacionados con su uso y cuidado. Ello también implica el establecimiento de condiciones de infraestructura y ambientes de trabajo propio y específico para cada raza y/o modelo animal a utilizar en el estudio (Cardozo *et al.*, 2007; Fuentes *et al.*, 2008).

Los resultados del experimento dependen en gran parte del ambiente creado para cada investigación, al grado que un mal manejo del mismo puede invalidar el ensayo. El microambiente en el cual se alberga un animal es el ambiente físico que lo rodea de manera inmediata; está compuesto por caja o jaula, cama, temperatura, humedad y la composición gaseosa y particulada del aire. El medio ambiente físico del encierro secundario, es decir, la sala de experimentación, constituye el macroambiente (Fuentes *et al.*, 2008; Leader y Stark *et al.*, 2007; Midwest, 1987).

Las modificaciones en el ambiente pueden producir cambios en el modelo animal, reconocibles o no, así como en las respuestas ocasionadas por el tratamiento experimental. Las condiciones microambientales pueden inducir cambios en los procesos metabólicos y fisiológicos, en la capacidad de recuperación de enfermedades o heridas, y alteraciones en la susceptibilidad a enfermedades por lo que deben buscarse las condiciones microambientales que satisfagan las necesidades fisiológicas de los animales de acuerdo al modelo experimental (Fuentes *et al.*, 2008; Leader y Stark *et al.*, 2007; Bellhorn, 1980).

De todos los factores que influyen en el microambiente, la adecuada selección de la cama o lecho es considerada de gran importancia cuando se emplean modelos experimentales para el estudio de enfermedades metabólicas. Se ha demostrado que los animales, específicamente los roedores, alojados en cajas con piso sólido deben tener el material de cama adecuado y suficiente para que garantice la absorción de su orina, excremento y desperdicio de agua, y favorezca su aislamiento térmico y construcción del nido (Leader y Stark *et al.*, 2007; Midwest, 1987).

Los materiales de cama deben seleccionarse por su suavidad, capacidad de absorción, laxitud, ausencia de polvo y fragmentación, así como por la constancia de su calidad, neutralidad química, inercia nutricional y carencia de palatabilidad. Los criterios deseables para la cama de contacto de los roedores son que absorba la humedad, exenta de polvo, no permita el crecimiento bacteriano, no comestible, no manche, no ocasione traumatismos, se pueda esterilizar, no forme productos indeseables después de la esterilización, fácil de almacenar, no sea desecante para los animales, no contaminada, no nutritiva, desagradable al gusto, difícil de masticar o de guardar en la boca, no tóxica, no maloliente, apropiada para la nidación y la incineración, fácil de obtener, relativamente barata, resistente al fuego, no sea perjudicial y no presente peligro o riesgos para el personal (Fuentes *et al.*, 2008; Bellhorn, 1980; NOM-062-ZOO-1999).

Se plantea que ningún lecho es ideal para ninguna especie en particular bajo todas las condiciones de manejo y experimentales. Varios autores han descrito las características

deseables del lecho y los medios para evaluarlo. Se han utilizado camas de maderas blandas, aunque el uso de madera blanda picada o de sus virutas, sin tratamiento, está contraindicado en algunos protocolos debido a que puede afectar el metabolismo animal. No se recomiendan las virutas de cedro porque emiten hidrocarburos aromáticos inductores de las enzimas microsomales hepáticas y citotoxicidad y se ha reportado que aumentan la incidencia de cáncer. Para reducir la concentración de hidrocarburos aromáticos y poder prevenir este problema se ha usado el tratamiento con calor, aplicado a estos materiales previamente a su utilización. Al comprar los materiales de lecho se deben examinar los métodos de manufactura, control de calidad y almacenamiento seguido por los fabricantes (Bellhorn, 1980; Brain y Bention, 2009; Clough, 2002).

Hay autores que afirman que debido a que el lecho es un factor del ambiente con el cual los animales están en contacto continuo durante toda su vida, los materiales y la calidad que se usan para este fin y para la construcción de nidos como enriquecimiento pueden influir en su bienestar y producción animal (Brain *et al.*, 2009).

Sin embargo, investigadores emplean lecho de bagazo de caña sin que afecte resultados de sus trabajos de inmunidad o toxicológicos (Infante *et al.*, 2009; Pérez *et al.*, 2001). Aunque por su composición el bagazo de caña si podría afectar trabajos experimentales de enfermedades metabólicas, ya que este subproducto de caña contiene sacarosa (Ortiz *et al.*, 2007).

Todavía hay muchos impedimentos para el estudio de la diabetes en seres humanos. Éstos incluyen heterogeneidad genética, una esperanza de vida larga, una amplia diversidad de estilos de vida, relativa inaccesibilidad a tejidos y órganos y, por supuesto, consideraciones de tipo ético. El uso de modelos animales soslaya algunos de estos problemas, pero, obviamente, la extrapolación de resultados de animales al hombre (y viceversa) conlleva cierto riesgo. No obstante, las ventajas inherentes a la experimentación animal han permitido obtener gran cantidad de información valiosa acerca de la patogénesis de la enfermedad. En 1922, Banting y colaboradores publicaron su histórico artículo describiendo la curación de la diabetes mellitus en un perro. A partir de entonces se utilizaron ampliamente tanto perros como animales de otras especies para analizar diversos parámetros biológicos y fisiológicos de la diabetes (Batin *et al.*, 1922; Arias-Díaz y Balibrea, 2007).

El mejor modelo espontáneo de diabetes mellitus tipo 2 es la rata Goto-Kakizaki, que fue desarrollado en la década de los 90 por dos investigadores japoneses mediante cruces endogámicos recurrentes de ratas no diabéticas (Wistar), pero con niveles plasmáticos de glucosa en el límite alto de la normalidad. Dicho modelo reproduce bien

las principales características de la DM2 humana: hiperproducción de glucosa, reducción de la tolerancia a la misma, deterioro en la secreción de insulina, aumento de la resistencia periférica a la insulina y alteración en el metabolismo lipídico. Típicamente, la glicemia en ayunas está sólo ligeramente elevada, pero aumenta considerablemente tras la ingesta de glucosa. Al nacer, la rata GK presenta un número reducido de islotes de Langerhans (Miralles y Portha, 2001).

Con lo anteriormente expuesto y que en la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara se trabajan modelos experimentales de síndrome metabólico y diabetes tipo 2, se propuso determinar la influencia del empleo del lecho de bagazo de caña en los niveles de glucemia de ratas Wistar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 ratas Wistar provenientes del CENPALAB (Centro de Producción de Animales de Laboratorio) de Cuba. Fueron todas ratas hembras sanas que al comienzo de este experimento tenían pesos entre 178 g y 220 g, y 51 días de edad.

Los animales se dividieron en 4 grupos y se alojaron en cajas con lecho de virutas de maderas previamente esterilizadas, de acuerdo a las recomendaciones de espacio indicadas para el trabajo con roedores. Se mantuvieron bajo un esquema luz / oscuridad de 12h, temperatura ambiental ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) y, agua y alimentación *ad libitum*.

Cada 7 días durante las semanas 7, 8, 9 y 10 de vida de los animales se determinaron los niveles de glucosa luego de 16 horas de ayuno, con Glucómetro y Biosensores SUMA, a partir de una gota de sangre de la punta de la cola del animal.

Para evaluar el efecto del lecho de bagazo de caña en el metabolismo de la glucosa en las ratas del experimento se procedió en la semana 8 a cambiar el lecho de maderas por bagazo de caña estéril una hora antes de realizar la medición de glucosa correspondiente. Esta cama se mantuvo por 72 horas hasta que cambió nuevamente al tipo usado anteriormente.

El análisis estadístico se realizó en el procesador SPSS 18.00, se efectuó la prueba de Shapiro-Wilks para comprobar la normalidad de los datos y según sus características de distribución se llevaron a cabo las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney.

Los animales fueron tratados según se norma en la declaración de Helsinki ratificada en el año 2000 en París (Kemelmajer, 2009; Lolás, 2002; Mazzanti, 2011). Los procedimientos de extracción de sangre garantizaron el menor sufrimiento para el animal y el material utilizado fue estéril. El personal que ejecutó el estudio está calificado y entrenado en el manejo y cuidado de los animales y posee una vasta experiencia en la manipulación de los mismos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estadísticos descriptivos que caracterizan la variable de estudio se muestran en la tabla 1. Se percibe que los valores medios de glucemia fueron superiores en la semana 8 cuando los animales en ayunas fueron expuestos al lecho de bagazo de caña durante una hora antes de medir la glucemia.

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de las glucemias semanales (mg/dl).

	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Semana 7	44,00	105,00	82,100	13,380
Semana 8	66,00	147,00	114,500	22,127
Semana 9	86,00	113,00	101,100	7,738
Semana 10	89,00	107,00	97,100	5,200

Con el fin de evidenciar el efecto del lecho de bagazo de caña en las ratas del experimento se realizó el gráfico 1, en el que se muestra la relación de animales normoglucémicos e hiperglucémicos en cada semana de estudio, estableciendo la hiperglucemia con valores iguales o superiores a 110 (mg/dl) según se ha establecido internacionalmente (American, 2009).

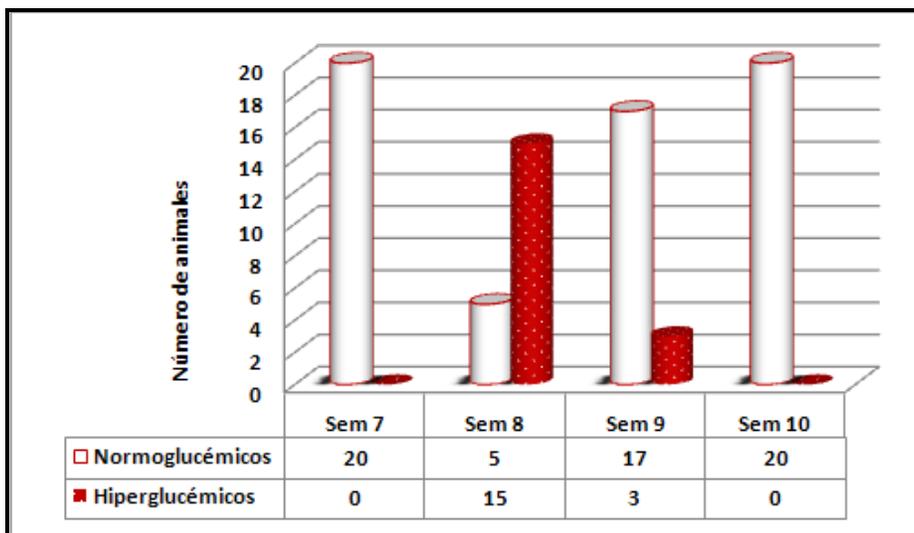


Gráfico 1. Ratas normoglucémicas e hiperglucémicas en cada semana de estudio.

Para determinar diferencias estadísticas en los valores medios de las glucemias entre las semanas 7, 8, 9 y 10, se aplicó la Prueba de Kruskal-Wallis con resultados significativos ($P < 0,00$). Una vez conocida la presencia de diferencias en al menos una de las semanas respecto al resto, se realizó la prueba de Mann-Whitney dos a dos, estrechando el intervalo de confianza a 0,01 para determinar en qué consistían tales diferencias (tabla 2).

Tabla 2. Prueba de Mann-Whitney dos a dos estrechando el intervalo de confianza a 0.01.

	Sem 7-8	Sem 7-9	Sem 7-10	Sem 8-9	Sem 8-10	Sem 9-10
Sig.	0.00 *	0.00 *	0.00 *	0.01*	0.00 *	0.067

El hallazgo de que existan diferencias altamente significativas (Prueba de Kruskal-Wallis) entre las glucemias realizadas en las cuatro semanas del estudio, unido a la visualización de los animales consumiendo el bagazo (figura 1), conduce a analizar la situación presentada.

Los resultados de la Prueba de Mann-Whitney dos a dos estrechando el intervalo de confianza a 0,01 expuestos en la tabla 2 evidencian que los valores de glucemia alcanzados en la semana 8 son significativamente diferentes a los del resto de las semanas. Además, analizando conjuntamente el gráfico 1, se observa que el consumo prolongado del material durante 72 horas modificó las glucemias posteriores. En la semana siguiente (semana 9) el metabolismo parece no recuperarse aún del exceso de glucosa ingerido pero ya en la semana 10 se restablecen los niveles en todos los animales por debajo de 110 mg/dl, pero el valor medio aún se encuentra por encima del mostrado en la semana 7.

Este tipo de cama posee una concentración elevada de sacarosa, diferente a las virutas del resto de las maderas que usualmente se utilizan como lecho en la experimentación animal, y presenta un olor particular que influye en el gusto de los animales. La rapidez con la que la sacarosa eleva la glucosa sanguínea puede causar problemas para individuos con dificultades en el metabolismo de la glucosa. La ingestión puede contribuir a desarrollar el síndrome metabólico y la diabetes mellitus (Wu *et al*, 2012).

Experimentos con ratas que fueron alimentadas con una dieta en la que un tercio de su alimento era sacarosa mostraron primero elevados niveles de triglicéridos, lo que generó grasa visceral seguida de resistencia a la insulina (Fukuchi *et al*, 2004).

En otro estudio con ratas se encontró que una dieta rica en sacarosa desarrolló hipertrigliceridemia, hiperglucemia y resistencia a la insulina (Lombardo *et al*, 1996). Incluso la administración de glucosa ha sido utilizada para inducir hiperglucemia transitoria en estudios embrionarios en roedores (Wu *et al*, 2012).

Por tanto y teniendo en cuenta los efectos que puede tener sobre el metabolismo el exceso de sacarosa ingerido del lecho de bagazo de caña, es fundamental que los

investigadores seleccionen el material de cama más apropiado cuando se emplean modelos experimentales para el estudio de enfermedades metabólicas.

CONCLUSION

El lecho de bagazo de caña incrementa significativamente los niveles de glucemia en ratas Wistar, por tanto es decisión de cada investigador la utilización del mismo en el desarrollo de trabajos experimentales.



Figura 1. Rata perteneciente al experimento consumiendo partículas del lecho de bagazo de caña.

LITERATURA CITADA

ARIAS-DÍAZ J, Balibrea J. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. 2007. Nutr. Hosp. 22(2):160-168.

AMERICAN Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2009; 32 (Suplement 1): s62-s67.

BANTING FG, Best DH, Collip JB, Campbell WR, Fletcher AA. Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus. Preliminary report. CMAJ 1922; 22: 141-146.

BELLHORN RW. Lighting in the animal environment. Lab. Anim. Sci. 1980; 30(2, Part II):440450.

BRAIN P, Bention D. The interpretation of physiological correlates of differential housing in laboratory rats. *Life Sci.* 2009; 24:99-115.

BRAIN P, Buttner D, Costa P, et al. Rodents. The international workshop on the accommodation of laboratory animals in accordance with animal welfare requirements, Berlin, 1993, pág. 17-19.

CARDOZO de Martínez CA, Mrad de Osorio A, Martínez C, Rodríguez E, Lolás F. El animal como sujeto experimental. Aspectos técnicos y éticos. Universidad de Chile: CIEB; 2007.

CLOUGH G. Environmental effects on animals used in biomedical research. *Biol. Rev.* 2002; 57:487-523.

FUENTES F, Mendoza RA, Rosales A, Alberto R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratón. Centro Nacional de Productos Biológicos. Perú; 2008; 1-54.

FUKUCHI S, Hamaguchi K, Seike M, Himeno K, Sakata T, Yoshimatsu H Role of fatty acid composition in the development of metabolic disorders in sucrose-induced obese rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2004 Jun; 229 (6):486-93.

<http://care.diabetesjournals.org/cgi/reprint/32/Supplement1/S62> [PMC free article] [Pub Med]

INFANTE JF, Sifontes S, Pérez V, Bracho G, Hernández T, Zayas C, López Y, Díaz D, Acevedo R, Rodríguez N, Lastre M, Fariñas M, Del Campo Y, Ponce A, Pérez O. Ensayo de inmunogenicidad y toxicidad local del cocleato de *Neisseriameningitidis* en ratas Sprague Dawley. *Vaccimonitor*. 2009; 18(1): 1-7.

KEMELMAJER de Carlucci A. La categoría jurídica "sujeto/objeto" y su insuficiencia respecto de los animales. Especial referencia a los animales usados en laboratorios. *Revista de Bioética y Derecho*. 2009; 17.

LEADER RW, Stark D. The importance of animals in biomedical research. *Perspect. Biol. Med.* 2007; 30(4):470-485.

LOLAS Stepke F. Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos. Ginebra 2002. <http://www.bioética.ops-oms.orgb>

LOMBARDO YB, Drago S, Chicco A et al. Long-term administration of a sucrose-rich diet to normal rats: Relationship between metabolic and hormonal profiles and morphological changes in the endocrine pancreas. *Metabolism*. 1996; 45 (12): 1527-32.

MAZZANTI Di Ruggiero M. Declaración de Helsinki, principios y valores bioéticos en juego en la investigación médica con seres humanos .Universidad El Bosque. Revista Colombiana de Bioética. 2011; 6(1): 125-44.

MIDWEST Plan Service. Structures and Environment Handbook. 11th ed. rev. Ames: Midwest Plan Service, Iowa State University;1987.

MIRALLES F, Portha B. Early development of beta-cells is impaired in the GK rat model of type 2 diabetes. Diabetes 2001; 50 (Supl.) 1: S84-8.

NOM-062-ZOO-1999. NORMA Oficial Mexicana. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
<http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>

ORTIZ A, Valdivié M, Elías A. Bagazo de caña como cama avícola. Rvta. ACPA. 2007; 3:47-49.

PÉREZ GR, Montalvo DM, Rodríguez AJC, Calderón MCF, Cruz MJ, Bello GJL. Determinación de la toxicidad en dosis reiteradas del esencial. Rev. Cubana Oncol. 2001; 17(2):111-7

WU Y, Viana M, Thirumangalathu S, Loeken MR. AMP-activated protein kinase mediates effects of oxidative stress on embryo gene expression in a mouse model of diabetic embryopathy. Diabetologia. 2012; 55:245–254.