

**Efectos de la Dieta y el Sexo sobre Parámetros Físicos,
Perfil Lipídico y Glucemia en Ratas Jóvenes¹**

Adriana Pietrelli²

apietrelli@uces.edu.ar

<https://orcid.org/0000-0002-1981-3891>

Coautores, alumnos de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Ciencias

Empresariales y Sociales, Buenos Aires, Argentina:

Nora Paglia, Ricardo Orzuza, Jone Iriondo Darriba, Rayk Patricio

Artículo presentado para su publicación el día 15 de marzo 2025

Artículo aceptado para su publicación el día 4 de julio de 2025

ARK/CAICYT: <https://id.caicyt.gov.ar/ark:/s25915266/832a8fhvt>

RESUMEN:

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de dos dietas comerciales normocalóricas, y del sexo sobre parámetros físicos y fisiológicos, en ratas Wistar. Una población de 24 ratas fue dividida en cuatro grupos, hembras (n=6) y machos (n=6) alimentados con dieta C, ídem para dieta G. Todos los grupos iniciaron el experimento con 30 días de edad, pre-púberes y finalizaron con 3 meses, adultos jóvenes. Se estudiaron el peso corporal y consumos de comida y bebida durante 10 semanas. Previamente al punto final, se

¹ Artículo original aceptado para su publicación el día 4 de julio de 2025

² Dra. Adriana Pietrelli directora del Bioterio de la Universidad de Ciencias Empresariales y Sociales.

obtuvieron muestras de suero para determinaciones del perfil lipídico y glucemia. Se utilizaron jaulas metabólicas para analizar la ingesta de bebida y comida y la producción de orina y materia fecal, durante 24 h. Se observaron diferencias sexuales en el peso corporal, independientemente de la dieta. El consumo de comida en animales alimentados con dieta C fue mayor que los que comían dieta G, pero las diferencias desaparecieron en la semana 10. El sexo y la dieta no afectaron la glucemia, pero sí el perfil lipídico, particularmente los triglicéridos (TG) y el colesterol HDL (c-HDL). Se detectó una correlación positiva significativa de glucemia vs. TG, solamente en machos. La ingesta diaria de comida fue afectada por el tipo de dieta y modulada por el sexo. Solamente los machos alimentados con C bebieron más que el resto de las ratas y orinaron el doble. Los resultados obtenidos sugieren que la composición de las dietas puede modificar la conducta alimentaria, los pesos corporales y afectar algunos componentes del perfil lipídico. Esta respuesta fue mayormente modulada por el sexo. Esta información nos permitirá seleccionar o combinar el uso de las dos dietas en función del período madurativo y sexo de los animales de experimentación.

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the effect of two commercial normocaloric diets and sex on physical and physiological parameters in Wistar rats. A population of 24 rats was divided into four groups, females (n = 6) and males (n = 6) fed with diet C, and the same for diet G. All groups started the experiment at 30 days of age, pre-pubertal, and finished at 3 months, young adults. Body weight, food and water intake were studied for 10 weeks. Prior to the endpoint, serum samples were obtained for lipid profile and glucose determinations. Metabolic cages were used to analyze food and water intake, urine and feces production over 24 hours. Sexual differences in body weight were observed, regardless of diet. Food intake in animals fed with diet C was higher than those fed with diet G,

but differences disappeared by week 10. Sex and diet did not affect glucose levels, but did affect the lipid profile, particularly triglycerides (TG) and HDL cholesterol (HDL-C). A significant positive correlation between glucose and TG was detected only in males. Daily food intake was affected by diet type and modulated by sex. Only males fed with diet C drank more than the rest of the rats and urinated twice as much. The results suggest that diet composition can modify feeding behavior, body weight, and affect some components of the lipid profile. This response was mostly modulated by sex. This information will allow us to select or combine the use of the two diets based on the maturation period and sex of the experimental animals.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de duas dietas comerciais normocalóricas e do sexo sobre parâmetros físicos e fisiológicos em ratos Wistar. Uma população de 24 ratos foi dividida em quatro grupos: fêmeas (n=6) e machos (n=6) alimentados com a dieta C, e o mesmo ocorreu com a dieta G. Todos os grupos iniciaram o experimento com 30 dias de idade, ainda pré-púberes, e o concluíram com 3 meses, já adultos jovens. Durante 10 semanas, foram estudados o peso corporal e o consumo de comida e bebida. Antes do término do experimento, foram coletadas amostras de soro para análises lipídicas e glicêmicas. Foram utilizadas jaulas metabólicas para analisar a ingestão de bebida e comida, bem como a produção de urina e matéria fecal, ao longo de 24 horas. Foram observadas diferenças sexuais no peso corporal, independentemente da dieta utilizada. O consumo de comida em animais alimentados com a dieta C foi maior do que o de animais que comiam a dieta G, mas essas diferenças desapareceram na décima semana. O sexo e a dieta não afetaram a glicemia, mas influenciaram o perfil lipídico, especialmente os triglicerídeos (TG) e o colesterol HDL (c-HDL). Foi detectada uma correlação positiva significativa entre

glicemia e TG, apenas em machos. A ingestão diária de comida foi afetada pelo tipo de dieta e modulada pelo sexo. Somente os machos alimentados com a dieta C beberam mais do que o resto dos ratos e urinaram o dobro. Os resultados obtidos sugerem que a composição das dietas pode modificar o comportamento alimentar, os pesos corporais e afetar alguns componentes do perfil lipídico. Essa resposta foi majoritariamente modulada pelo sexo. Essa informação nos permitirá selecionar ou combinar o uso das duas dietas em função do período de maturação e do sexo dos animais de experimentação.

Introducción

El presente estudio se desarrolló como parte del programa de pasantías en el Bioterio de la Universidad dirigida a la formación de estudiantes de Ciencias de la Salud en investigación básica, traslacional y ensayos pre-clínicos. Todos los experimentos que se informan fueron realizados por los alumnos bajo la dirección del personal del Bioterio.

La temática seleccionada en esta oportunidad, sexo y dieta buscó establecer relaciones conceptuales con contenidos ya vistos en algunas materias de grado, particularmente del ciclo básico de la carrera de Medicina (Biología Celular y Molecular, Bioquímica, Fisiología y Metodología de la Investigación).

Este artículo se escribió gracias al trabajo colaborativo entre docentes y alumnos, cumpliendo con uno de los objetivos fundamentales de las pasantías que es el “aprender haciendo”.

En nuestro país la calidad de las dietas comerciales para animales de laboratorio es muy heterogénea y, en algunos casos no se puede contar con una información nutricional completa y detallada. También, existen pocas opciones en el mercado. Esta situación obliga a recurrir a la utilización de suplementos y a elegir cuidadosamente el alimento según se trate

de dieta de mantenimiento o dietas para animales de laboratorio sometidos a tratamientos experimentales.

Es importante tener en cuenta que el estado de nutrición del individuo, en última instancia, depende del tipo de alimento que ingiere y, por lo tanto, la evaluación de la dieta aplicada a un modelo de crecimiento de ratas destetadas, resulta ser un indicador apropiado para caracterizarlo (Márquez Montes *et al.*, 2010).

El acceso libre a la comida desencadena un amplio repertorio de conductas alimentarias y respuestas fisiológicas para mantener el balance energético que, se mantiene constante inclusive cuando se expone a los animales a diferentes dietas. Los cambios sistemáticos en el tamaño de la ingesta, como una función de la densidad calórica de los alimentos, podrían sugerir que el consumo de alimento desencadena procesos fisiológicos homeostáticos durante la ingestión misma, tal vez a través de mecanismos sensoriales. Se ha documentado que los cambios en la frecuencia de las comidas podrían ser consistentes con un mecanismo post-absorbente con una función de medición calórica (Espinoza *et al.*, 2019).

También consideramos como variable biológica, el sexo que, hipotetizamos, podría actuar como un posible factor modulador de dicha respuesta. En este sentido, hay evidencias que demuestran que las reservas de energía corporal y las señales metabólicas influyen en el inicio de la pubertad (Jones, 1951; Sánchez-Garrido *et al.*, 2013).

Reportes previos (Becker *et al.*, 2016) de metaanálisis han determinado que la utilización de hembras en protocolos experimentales no requiere monitorear el ciclo estral y que, la incorporación de machos y hembras en iguales cantidades y condiciones de alojamiento son altamente informativos. No obstante, la prevalencia de diferencias sexuales en el Sistema neuro-endócrino, conducta y control alimentario, entre otras variables fisiológicas, siguen siendo materia de exhaustiva investigación. Hallazgos informados hace

décadas atrás demostraron que la ingesta diaria de alimentos expresado como kilocalorías por gramo de peso corporal difiere entre ratas macho y hembra (Asarian y Geary, 2013; Brown and Clegg, 2010).

En este estudio nos propusimos comparar la respuesta alimentaria y fisiológica a dos dietas comerciales, en ratas de ambos sexos, desde el destete hasta la adultez.

Los objetivos específicos fueron:

Determinar la posible existencia de diferencias sexuales en el consumo de alimento y bebida, en el peso corporal de ratas alimentadas con dieta C vs G.

Estudiar y comparar parámetros bioquímicos selectos: glucemia y perfil lipídico en ambos sexos, así como la posible correlación de la glucemia vs. niveles de triglicéridos.

Estudiar y comparar en ambos sexos la conducta alimentaria diaria en relación con: el consumo de comida y bebida; la orina y materia fecal producidas en 24 horas.

METODOLOGÍA

1. Población de estudio y Diseño experimental:

Una cohorte de N= 24 crías destetadas de ratas macho y hembra de la cepa Wistar (21 días, 50 g), producidas en el Bioterio de la Universidad, fue alojada en jaulas standard de laboratorio y distribuídas 2 crías por jaula. El diseño del estudio fue longitudinal y prospectivo, y comenzó a la edad pn de 30 días, con ratas pesando aprox. 80-100g (pre-púberes). El registro semanal de la ganancia de peso nos permitió monitorear la curva de crecimiento (Galassi Geréz y Gullace, 2022; Suckow et al., 2019) y compararla con curvas normales de edad y peso corporal.

(Fig.1).

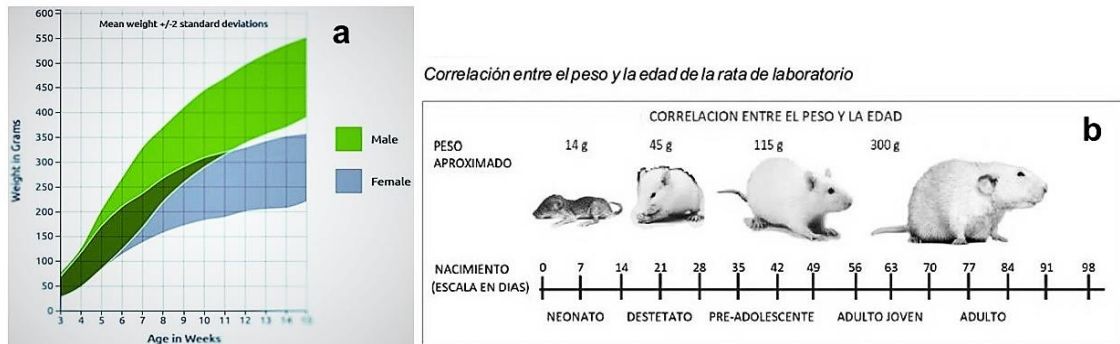


Fig. 1: Curvas de crecimiento por edad y por peso de ratas. **(a)** gráfico de peso en función de la edad considerando pesos medios $\pm 2\sigma$, para machos y hembras de la cepa Wistar.

Fuente: <https://www.criver.com/products-services/find-model/wistar-igsrat?region=3616> **(b)**

Correlación entre peso y edad en días de la rata nativa (*Ratus norvegicus*). **Fuente:** Mamani, JJ (2020). Parámetros fisiológicos y metabólicos de la rata de laboratorio (*Ratus norvegicus*).

<https://doi.org/10.33326/26176068.2020.2.1016>

El punto final del estudio se realizó en la semana 11, abarcando un período total de 12 semanas. En las semanas 9-10 (adulto joven) se tomaron muestras de sangre, orina y materia fecal para las determinaciones de glucemia, perfil lipídico y consumo de comida y bebida de 24 horas. El diseño experimental se representa en una línea de tiempo.

(Fig. 2).

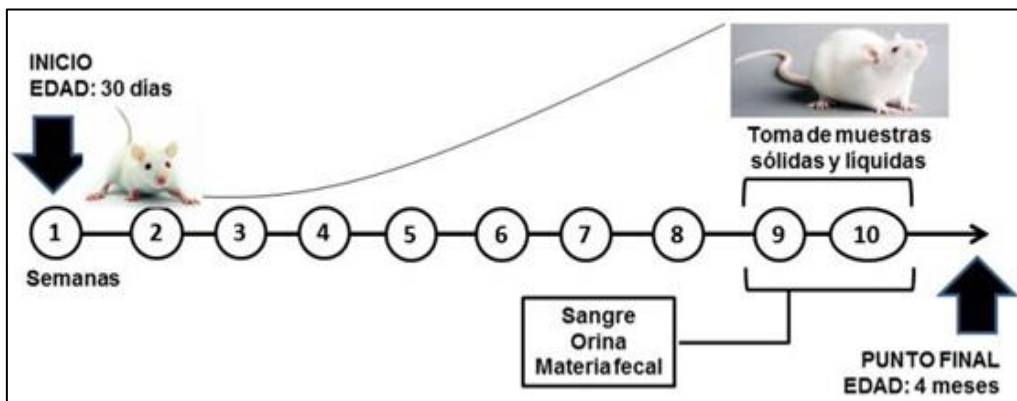


Fig.2. *Diseño experimental. Línea de tiempo que representa gráficamente el inicio y punto final de los experimentos y toma de muestras, además describe en la parte superior de la línea, la curva normal de crecimiento desde el período pre-puberal (30 días) hasta la adultez (90 días).*

Los alimentos balanceados que se compararon fueron identificados durante todo el estudio como dieta C o G y sus composiciones cuali-cuantitativas fueron obtenidas de las etiquetas nutricionales que llevan los productos. Ninguna de las dos dietas fue suplementada. Los ingredientes y valor calórico en ambos productos fueron los informados por cada empresa:

Materias primas de origen vegetal y animal: maíz, trigo, harina de soja, aceite de soja, Gluten de maíz, harina de girasol, afrechillo de trigo, harina de pescado.

Componentes vitamínicos: a, b1, b2, b6, b12, d3, e, k, biotina, ácido nicotínico, Ácido fólico, ácido pantoténico, cloruro de colina.

Componentes minerales: carbonato de calcio, cloruro de sodio, selenito de Sodio, iodato de calcio, óxido de cobre, sulfato ferroso, óxido manganeso, Óxido de zinc, óxido de magnesio.

Aminoácidos: metionina, lisina, treonina.

Aditivos: antifúngico.

Concentración energética - Energía metabolizable (EM/Kg): Alimento C, 2900/3100 KCal. EM/Kg. Alimento G, no se informan.

En la figura (**Fig. 3**) se representa la composición cuali-cuantitativa de los dos alimentos con sus respectivos valores expresados en porcentajes (%). Lo que figura como “extracto etéreo” se refiere a las grasas totales, extraíbles por solventes orgánicos. No se detalla la composición de la fracción grasa.

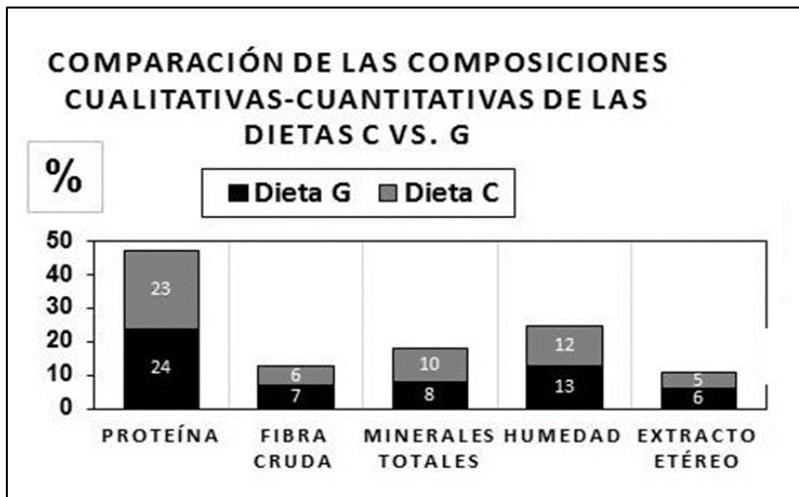


Fig. 3: *Composición cuali-cuantitativa de los dos alimentos comerciales utilizados en este estudio (Dieta G vs. Dieta C). Observe que los valores porcentuales se indican en el centro de cada barra. Los minerales totales resultan de la suma de los minerales informados en el texto. No se graficaron los componentes vitamínicos. El extracto etéreo se refiere a la suma de grasas que tiene el alimento.*

Previamente al inicio de los experimentos se realizó la identificación y aleatorización a alguno de los 4 grupos: hembras con dieta G (n=6) o dieta C (n=6); machos con dieta G (n=6) o dieta C (n=6).

Con respecto a las condiciones de *housing*, los animales fueron sometidos a un fotoperíodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad. El período oscuro se extendió desde las 6 am hasta las 18 pm. Se automatizaron los ciclos de ventilación y temperatura (23°C). El acceso a la comida y bebida fue *ad libitum*. Se registraron los pesos corporales, la comida y la bebida

consumidas semanalmente. Teniendo en cuenta que los roedores tienen hábitos nocturnos, en todos los casos, la toma de muestras se realizó en el período oscuro para no interferir con el período diurno que es cuando los animales tienen menor actividad.

Una vez por semana se controló el estado clínico de la población en estudio. Se excluyeron del estudio los animales que no alcanzaron el peso mínimo establecido en 80 g. Las ratas que fueron incluídas cumplieron con los indicadores básicos de bienestar sanitario y con los criterios de peso corporal mínimo. Se realizaron todos los esfuerzos para minimizar el sufrimiento, la incomodidad y el número de animales usados. Todos los procedimientos para el cuidado y el uso de animales de experimentación siguieron las normativas de Guías Internacionales de la NIH (2011) y CCAC guidelines: Rats (2020), y fueron evaluados y aprobados por el Comité de Ética Institucional.

2. Obtención, procesamiento de muestras y determinaciones

Los registros de los pesos corporales se obtuvieron una vez por semana utilizando una balanza granataria (Balanza portátil Ohaus CR2200 1 gr. / 2200 gr) y luego promediados por grupo. El consumo de comida y bebida se obtuvo calculando las diferencias entre los valores iniciales y finales, y luego promediados por grupo.

La obtención de muestras de sangre para determinar el perfil lipídico se realizó por punción de la vena safena lateral de la cola, con el animal consciente e inmovilizado manualmente. Para favorecer la vasodilatación, se colocó la cola en agua caliente (28^o) durante 5 minutos, luego se secó y desinfectó con alcohol 70%, dejando evaporar. Se introdujo una aguja 25G con la que se extrajeron 80-100 uL (hasta 10% del volumen circulante) de sangre en tubos eppendorff. Luego de la microcentrifugación a 1100 g durante 10 minutos se extrajeron las muestras de suero y se congelaron para posterior determinación del perfil lipídico.

La cuantificación de lípidos se realizó gracias a los reactivos que nos proporcionó gentilmente la Dra. Valeria Zago, del Laboratorio de Lípidos del Hospital de Clínicas.

Se midieron colesterol total y triglicéridos séricos (TG) por métodos enzimáticos estandarizados (Roche Diagnostics-Mannheim), y colesterol HDL (c-HDL) por precipitación selectiva y medida enzimática de colesterol, bajo estrictos controles de calidad interna y externa, en el Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Las determinaciones se llevaron a cabo en un autoanalizador Selectra 2, utilizando como calibrador múltiple CEFAS (Roche), con trazabilidad a Center for Disease Control and Prevention (USA). El control de calidad externo se realizó mediante el software RIQUAS, Lípidos.

Dado que normalmente, en la rata, los niveles circulantes de colesterol HDL son más elevados que de colesterol LDL, la medición de este último parámetro pierde sensibilidad, por lo tanto, se calculó el colesterol no-HDL (c-no HDL) como la diferencia entre colesterol total y colesterol HDL. El c no-HDL, representa la suma de las lipoproteínas aterogénicas ricas en apoB, y constituye un objetivo terapéutico en dislipidemias en humanos (Rivera, 2011). Todos los resultados se expresaron en mg/dL.

La determinación de la glucemia se realizó con la rata sin anestesiarse, a partir de una suave punción en el extremo de la cola con una lanceta (30G), hasta obtener una gota de 1 μ L que se colocó directamente en la tira reactiva que posee el glucómetro (One touch-select plus flex). Los resultados se registraron directamente en la pantalla del visor digital del instrumento y se expresaron en mg/dL.

La recolección cuantitativa de orina y materia fecal de 24 horas se realizó usando 4 jaulas metabólicas (Nalgene) en la que se colocó a cada rata. **(Fig.4)**. En la semana previa, se realizó la habituación de las ratas al equipo y reducir la respuesta al stress. En todos los casos

el experimento comenzó a las 8 am de un día y finalizó a las 8 am del día siguiente. Se muestrearon simultáneamente 4 ratas, seleccionadas al azar de cada grupo. El animal tuvo libre acceso a la bebida y comida durante todo el experimento. Se colocaron 30 g de extrusado C o G y 50 mL de agua en cada mamadera. La bebida y comida se calcularon como las diferencias entre las cantidades iniciales y las finales. Los resultados de comida y materia fecal de 24 h se expresaron en gramos (g) y los registros de bebida y orina, en mililitros (mL).

Fig. 4. Jaula metabólica. (a) Cada rata perteneciente a alguno de los 4 grupos fue colocada en la jaula metabólica durante 24 h, con libre acceso a la comida y bebida. La materia fecal y la orina se recolectaron en tubos separados que se pueden observar en la base del recipiente principal. **(b)** Las 4 jaulas fueron colocadas en racks dentro de la sala de alojamiento.



3. Análisis estadístico:

Los datos se expresaron como media $\pm$ DS. La significancia se estableció en $p^* < 0,05$ para diferencias significativas y $p^{***} < 0.001$, para diferencias altamente significativas. Las variables independientes nominales fueron sexo, con dos niveles machos y hembras, y la variable dieta, con dos niveles, dieta C y dieta G. Todas las variables dependientes del estudio fueron analizadas previamente para conocer su estructura y distribución en probabilidad y para detectar posibles valores atípicos. Se realizó estadística descriptiva y se estudió la normalidad con el test de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad mediante la prueba de Levene. Los resultados indicaron que las variables cumplían con los requisitos de la estadística paramétrica necesarios para aplicar los ANOVA.

Para estudiar los datos longitudinales: peso corporal, consumo de comida y consumo de agua, se utilizó un ANOVA de dos vías con medidas repetidas (RM ANOVA) sobre el factor tiempo (semanas).

Para analizar las variables glucemia, concentración de triglicéridos, colesterol total, c-HDL, y c no-HDL, así como los datos obtenidos en la jaula metabólica (corte transversal previo al punto final) se utilizó la prueba de ANOVA de dos vías (sexo × dieta) con comparaciones múltiples *post hoc* con el test de Bonferroni o Tukey, cuando correspondía.

La correlación entre la glucemia y la concentración de triglicéridos en machos y hembras se analizó mediante el coeficiente de Pearson (r). Todas las variables se analizaron con el software SPSS v. 23.0 IBM (Armonk, NY) 2015 y se graficaron con Graph Pad Prism v. 8 (La Jolla, CA).

RESULTADOS

3.1. *¿Existen diferencias sexuales en el consumo de alimento y bebida y peso corporal, de ratas alimentadas con dieta C vs G?*

Según la bibliografía consultada (Galassi y Gullace, 2022; Mamani, 2020; Suckow et al., 2019), y confirmando esta información, se detectaron diferencias altamente significativas en los pesos corporales (** p -valor < 0.001 $F(9,27) = 33,92$) entre ambos sexos a partir de la semana 4, que coincide con el paso hacia la madurez sexual a los 45-50 días aprox. (**Fig. 5**). Las interacciones fueron no significativas. Los machos, independientemente de la dieta, tuvieron mayor peso corporal que las hembras, y esta diferencia se mantuvo hasta el punto final del experimento.

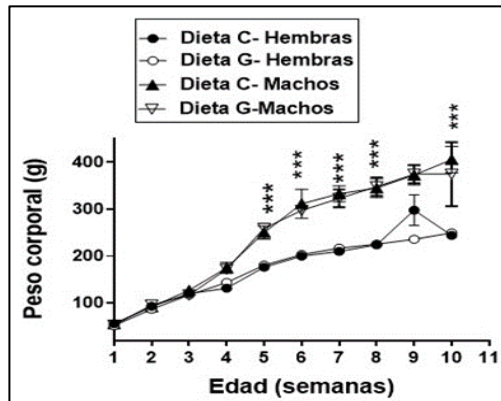


Fig.5. Gráfico de peso corporal (g) en función de la edad (semanas). Los símbolos representan los promedios semanales $\pm$ SD. Se consideraron altamente significativas las diferencias sexuales [***p-valor<0.001 (machos vs. hembras)]. Los machos pesaron más que las hembras. Observe que las diferencias aparecen al finalizar el período pre-adolescente.

Teniendo en cuenta los resultados relativos a los pesos de machos y hembras, decidimos analizar y graficar los consumos de comida y bebida en forma separada para cada sexo y así no tener que estandarizar los consumos por 100 g de peso.

Con respecto a los consumos de comida (**Fig.6**) observamos que, en paralelo con la ganancia de peso, tanto hembras como machos e independientemente de la dieta, comienzan a comer más a partir del inicio de la madurez sexual, en la semana 4, y este comportamiento se mantiene hasta el final del experimento. En la semana 10, tanto las hembras como los machos e independientemente de la dieta, alcanzan valores estables, respectivamente.

La comparación del consumo de comida entre las hembras alimentadas con dietas C o G (**Fig. 6, a**), observamos diferencias altamente significativas [$F(1, 9) = 22,81$, ***p<0.001]. Las hembras alimentadas con dieta C comen más que las alimentadas con dieta G. Esta diferencia se repite en el caso de los machos (**Fig. 6, b**), demostrando un mayor consumo en los animales con dieta C vs. G [$F(1, 9) = 15,87$, ***p<0.001].

La comparación de la bebida (**Fig. 6, c**) en las hembras no mostró diferencias significativas por efecto de la dieta, pero sí por efecto del tiempo (* $p > 0.05$), paralelizando con el mayor consumo de comida y peso corporal, como era previsible. Las diferencias por efecto de la dieta en los machos (**Fig. 6, d**) fue altamente significativa solamente en las semanas 1 y 4, G vs C [$F(1, 18) = 8,11$, *** $p < 0.001$] y luego desaparecieron, manteniendo el consumo una tendencia creciente, correlativa con el aumento de comida y peso.

Las ANOVAS RM no detectaron efectos de la interacción en todos los casos, indicando que los efectos principales de la dieta fueron los mismos a lo largo de las semanas.

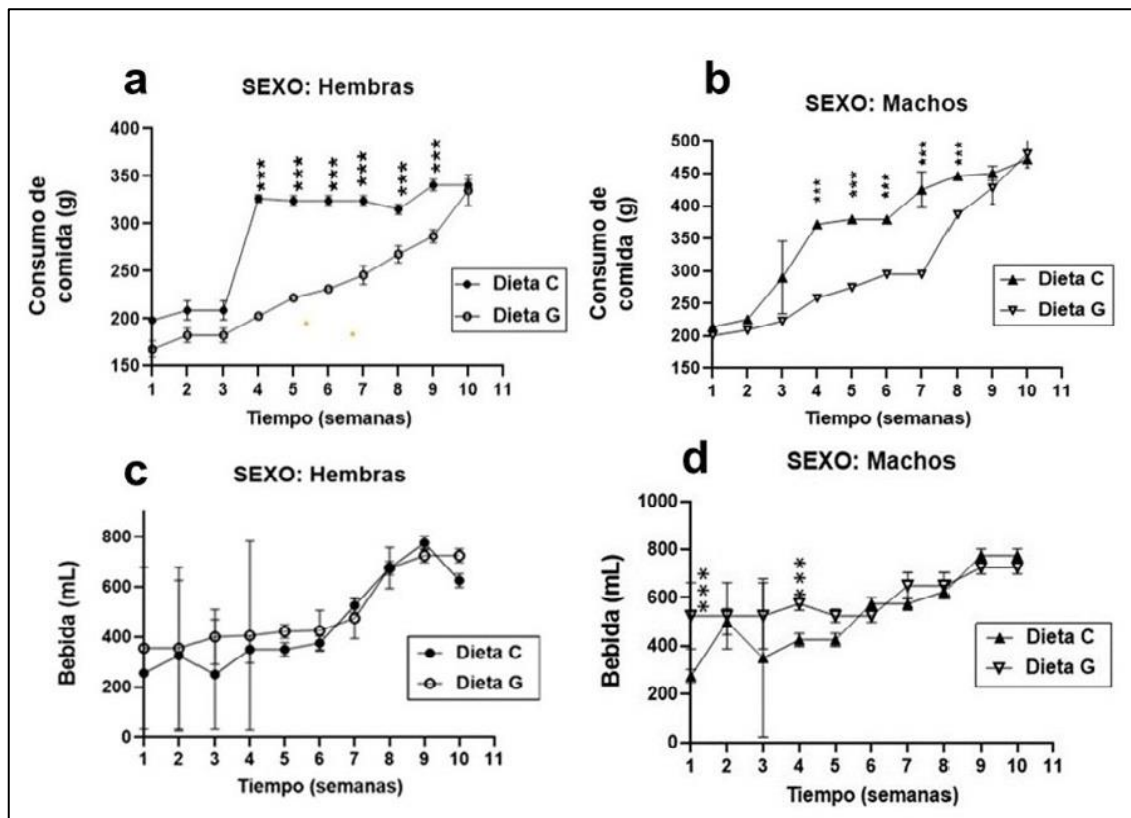


Fig.6. Parámetros físicos. Consumos semanales de comida y bebida. Se promediaron los valores semanales del consumo de comida (g) y de bebida (mL) para cada grupo y se graficaron por separado. Los símbolos representan los promedios semanales $\pm$ SD. (**a**) las hembras de la

*dieta C consumen más alimento que las alimentadas con dieta G (** $p < 0.001$); (b) los machos alimentados con la dieta C consumen más que los que comen la dieta G (** $p < 0.001$); (c) las hembras C vs. G no muestran diferencias significativas en la bebida; (d) Los machos, a excepción de las primeras semanas (** $p < 0.001$) no muestran diferencias significativas en la bebida. En todos los casos, los consumos muestran una tendencia a incrementarse con el paso de las semanas y se estabilizan alrededor de la semana 10 cuando los animales tienen 3 meses de edad y son considerados adultos jóvenes.*

3.2. ¿Existen diferencias sexuales en los niveles de glucemia y perfil lipídico en respuesta a cada dieta? ¿Existe algún grado de asociación entre los triglicéridos y la glucemia, en cada sexo? ¿Las dietas tienen el mismo efecto sobre el perfil lipídico, en cada sexo?

La ANOVA de sexo x dieta no detectó ni efectos principales del sexo ni de la dieta, tampoco interacción (**Fig. 7, a**). Sin embargo, el análisis de la variable dependiente “TG”, resultó en una interacción significativa del sexo y la dieta [$p < 0.05$, ($F_{1,16} = 6.42$)] indicando que el sexo modula el efecto de las dietas según el nivel del factor (**Fig. 7, b**). Las comparaciones múltiples post-hoc de Tukey mostraron diferencias altamente significativas de las hembras alimentadas con dieta C vs machos (** $p < 0.001$) y de las hembras alimentadas con dieta G vs. machos que comen C ($p < 0.05$). Ésto indica que hay diferencias sexuales en la concentración de TG: los machos tienen mayores niveles de TG séricos que las hembras. También demuestra que las dietas tienen distinto efecto según de qué sexo se trate: las mayores diferencias se encontraron entre hembras vs. machos alimentados con dieta C.

Para testear la hipótesis de independencia, se plantearon estudios de correlación de glucemia vs. TG, CT, c-HDL y c-no HDL, todas variables cuantitativas. En todos los casos, no hubo asociación significativa, por lo tanto, se las consideró variables independientes, a excepción de “glucemia” vs “TG”, con glucemia como variable explicativa del nivel de TG en

ambos sexos. (**Fig. 7, c y d**). El análisis de correlación, en el caso de los machos, dio un coeficiente r de Pearson significativo [$*p < 0.05$, $r = 0.68$ (IC95% = 0,08485 - 0,9165)], indicando que existe un 68% de asociación positiva entre ambas variables. En el gráfico (**c**) se puede observar que a medida que aumenta la glucemia también aumentan los niveles de TG en una relación aprox. lineal. En el caso de las hembras (**d**), ambas variables no mostraron correlación.

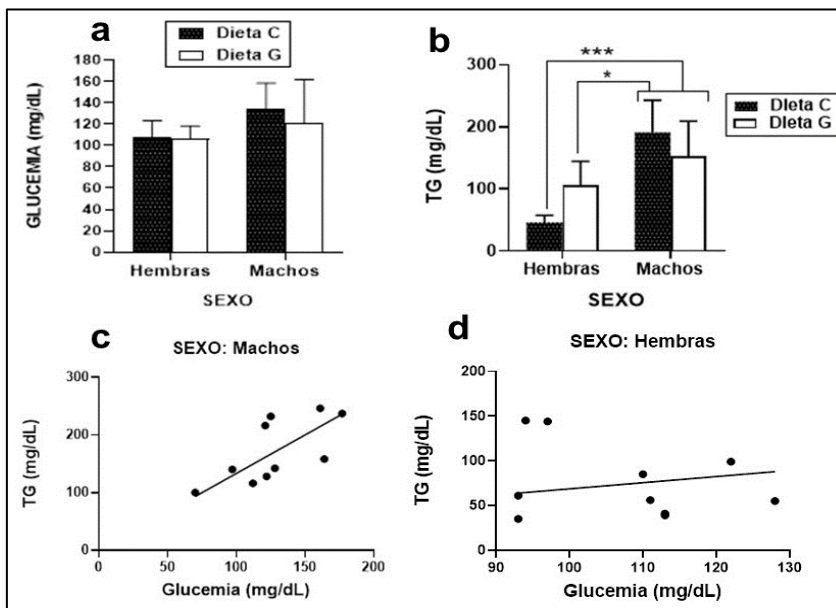


Fig.7. Parámetros bioquímicos y estudio de la asociación de TG vs glucemia para ambos sexos. **(a)** Machos y hembras no muestran diferencias sexuales ni efectos de la dieta en la respuesta glucémica (*ns*). **(b)** Los machos tienen mayores niveles de TG séricos que las hembras ($***p < 0.001$) detectándose las mayores diferencias con las hembras alimentadas con la dieta C. Los valores en a y b se representan como medias $\pm$ SD. **(c y d)** Correlaciones de TG vs Glucemia. Solamente se detectó una asociación positiva significativa en los machos del 68% ($*p < 0.05$).

El colesterol total, CT (**Fig. 8, a**) se analizó con ANOVA de dos factores: sexo x dieta. No se detectaron efectos principales ni interacción significativos ($*p > 0.05$). El c-HDL (**Fig. 8, b**)

mostró diferencias sexuales altamente significativas, independientemente de la dieta [*** $p < 0.001$ ($F(1, 16) = 17,1$)] (**Fig. 8, c**). El c-no HDL, que incluye el c-LDL, mostró diferencias sexuales altamente significativas [*** $p < 0.001$, $F(1, 16) = 18,82$]. Las comparaciones múltiples mostraron que las diferencias aparecieron entre las hembras alimentadas con G vs. los machos.

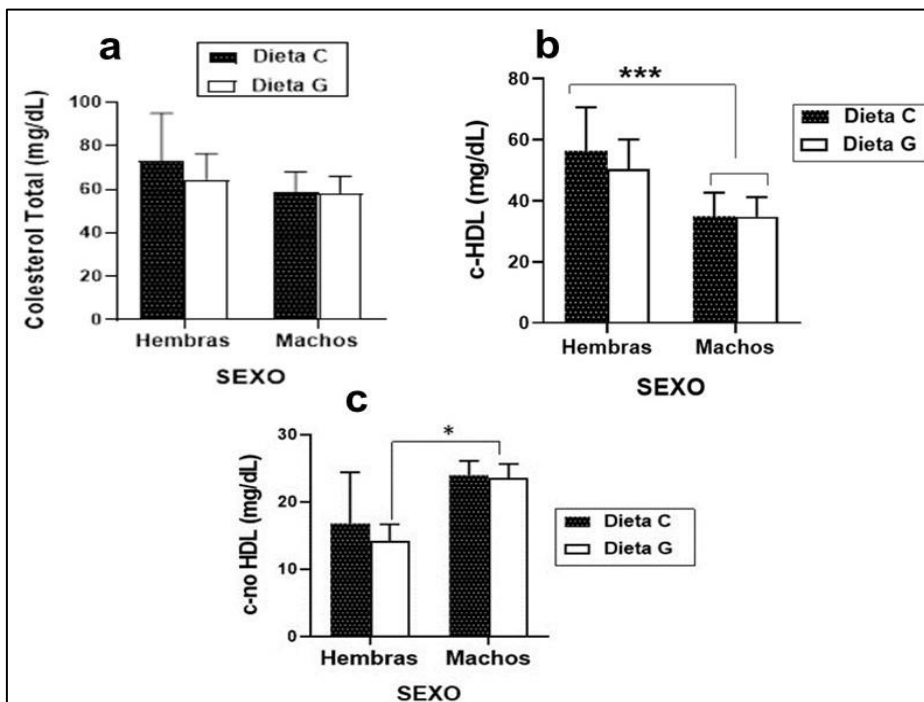


Fig.8. Perfil Lipídico. Los valores se representan como medias $\pm$ SD. **(a)** No se detectaron ni diferencias sexuales ni diferencias significativas producidas por el tipo de alimento, en los niveles de CT. **(b)** Existen diferencias sexuales altamente significativas (*** $p < 0.001$) en los niveles de c-HDL. **(c)** La dieta G no tiene el mismo efecto en ambos sexos (* $p < 0.05$).

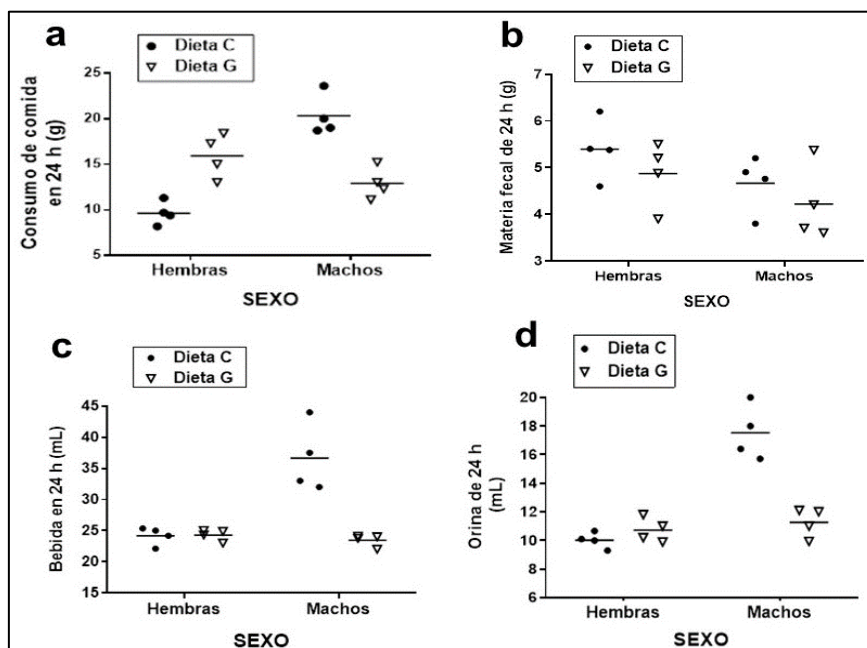
3.3. ¿Las dietas afectan la conducta alimentaria diaria? ¿El sexo actúa como un factor modulador?

Las jaulas metabólicas nos permitieron evaluar los consumos diarios de comida y agua y la producción de orina y materia fecal. Los resultados se analizaron con ANOVAS de dos factores, sexo x dieta. Cuando evaluamos los registros de comida (**Fig.9, a**), detectamos

diferencias altamente significativas por efecto de la interacción, es decir que la dieta no actúa de la misma manera en los niveles del factor sexo [*** $p < 0.001$, $F(1, 12) = 48,36$]. Cuando se realizaron comparaciones múltiples con el test de Tukey, se observaron diferencias muy significativas entre hembras C vs G (** $P < 0.01$). Las hembras alimentadas con G comen más durante 24 h que las C. En los machos, se da la situación contraria, los alimentados con C comen más que los que comen G (*** $p < 0.001$). Las que menos comieron fueron las hembras alimentadas con C vs. el resto de los animales (*** $p < 0.001$).

Pese a las diferencias detectadas en el consumo de comida, la producción de materia fecal (**Fig.9, b**) no fue correlativa y no se encontraron diferencias significativas ni por efecto del sexo ni por la dieta.

Los ANOVAS de sexo x dieta mostraron efectos altamente significativos de la interacción para la bebida [*** $p < 0.001$, $F(1, 12) = 20,9$] y para la orina [*** $p < 0.001$, $F(1, 12) = 34,1$]. (**Fig.9, c y d**). Las interacciones indican que las dietas tienen distintos efectos en los niveles del sexo. Los machos alimentados con la dieta C vs. el resto de los animales fueron los



que más bebieron y, en consecuencia, más orinaron. En ambos gráficos se observa la misma tendencia.

Fig.9. Registros de comida, bebida, orina y materia fecal con la jaula metabólica. Las líneas horizontales representan los promedios de 24 h. y los símbolos representan los valores individuales obtenidos de las 4 ratas de cada grupo. **(a y b)** Se observó que las dietas C o G tienen efectos sexo-específicos. Las hembras G comen más que las alimentadas con C y los machos alimentados con C comen más que los alimentados con G, sin embargo no se detectaron diferencias significativas en la producción de materia fecal. **(c y d)** Se detectaron interacciones altamente significativas ($***p<0.001$) producidas por los efectos combinados del sexo y la dieta. Los machos alimentados con la dieta C vs. el resto de los animales fueron los que más bebieron y orinaron.

4. DISCUSIÓN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la respuesta alimentaria y fisiológica a dos tipos de alimentos comerciales y analizar el rol del sexo en dicha respuesta.

Nuestros resultados coincidieron con lo informado en otros trabajos (Mamani, 2020; Suckow et al., 2019) relativo a los cambios físicos y fisiológicos que se producen cuando los animales transitan hacia la madurez sexual, y su estabilización a partir de los 3 meses de edad, que es cuando se los considera un adulto joven. Esto fue confirmado por las diferencias sexuales observadas en los pesos corporales a partir de los 45-50 días aproximadamente y, en paralelo, esta evolución fue acompañada por un incremento en los consumos de comida y bebida, como esperábamos.

Nuestro hallazgo más relevante, en términos prácticos, fue observar que los animales alimentados con dieta C, comían el doble que los alimentados con la dieta G.

Lamentablemente, el alimento G no tiene en su etiqueta información relativa a la concentración energética y energía metabolizable, pero sí la tiene el alimento C (EM/Kg): 2900/3100 KCal. Descartamos que exista una preferencia por la dieta C teniendo en cuenta que los tratamientos fueron asignados aleatoriamente, pero suponemos que los componentes de la dieta G tenían mayor valor nutritivo, energía metabolizable y posiblemente producían mayor saciedad. En un estudio realizado por Johnson y Collier (1987) se demostró que la cantidad de Kcal/día estuvo relacionada con el promedio de la densidad calórica de la comida disponible. Otro hallazgo interesante fue que la ingesta de cualquier alimento disminuía si la densidad calórica de una comida alternativa incrementaba (Espinoza et al., 2019). Consistente con esto, es posible que los sujetos ajusten el tamaño de su ingesta en respuesta a la variación calórica del alimento. Esta conducta alimentaria posiblemente se relacione con la necesidad de mantener la homeostasis en el balance energético (Lopez-Espinoza et al., 2008). Además, cuando se paraleliza con la evolución de los pesos corporales, se observa que no hay diferencias dietarias, pero sí sexuales, como ya se mencionó. En este sentido, nos faltó conocer la composición del extracto etéreo que contiene la fracción grasa total del alimento. Cuando observamos el porcentaje de proteínas, grasa, fibra y de humedad vemos que difieren apenas en 1%, pero ¿cuán significativa puede ser esta diferencia aparentemente tan baja en términos nutricionales?

Con respecto al consumo de agua, su influencia en la ingesta de comida no es tan clara, y quizás, exista alguna relación con la humedad del alimento, teniendo en cuenta que los líquidos son consumidos frecuentemente con la comida. En este sentido las diferencias sexuales son las que explicaron el aumento en la bebida, pero no la dieta.

Si bien desaparecen las diferencias en los pesos e ingestas de comida y agua a las 10 semanas, no sabemos cuál sería el comportamiento alimentario de estos animales más allá del

punto final de los experimentos, por lo cual nos surgen algunas preguntas: ¿las diferencias se mantienen, pero son menores? ¿Las diferencias desaparecen por completo? ¿es un efecto que aparece solamente en el período adolescente y actúa de forma sexo-específica? (De Oliveira et. al., 2018; Odum, 2004)

Con respecto a los parámetros fisiológicos que estudiamos, nos pareció interesante observar una correlación positiva estadísticamente significativa entre la glucemia y el nivel de TG, que mostró ser sexo-específica. En este estudio no analizamos la respuesta insulínica a la ingesta, pero es sabido que el aumento de glucemia constituye una señal positiva para la síntesis y liberación de Insulina desde el páncreas, que tiene efecto hipoglucémico. A su vez, el aumento de los niveles séricos de insulina promueve la síntesis de lípidos (Paniagua et al., 2008). No obstante, los otros componentes del perfil lipídico (CT, c-HDL y c-no HDL) fueron totalmente independientes de la glucemia.

Mientras que el CT no presentó diferencias sexuales ni se modificó por efecto de la dieta, detectamos diferencias sexuales en los niveles de c-HDL. Esta lipoproteína es la encargada del transporte retrógrado del colesterol endógeno y lípidos remanentes de otras lipoproteínas hacia el hígado para su depuración y reciclado. Las hembras presentaron, en promedio, mayores concentraciones que los machos. Presumimos que se deben a los efectos de los estrógenos (Brown, 2010). Actualmente, las numerosas evidencias demostraron que existen diferencias sexuales y sexo-específicas, relacionadas con los ciclos ováricos, las hormonas esteroides gonadales, la preñez y la lactancia, en el control alimentario. Por esta razón, la complejidad en la homeostasis alimentaria es mayor en las hembras que en los machos, especialmente por el impacto de los estrógenos (Asarian and Geary, 2013). En este trabajo no evaluamos el ciclo estral y, en consecuencia, no podemos plantear una correlación

de este parámetro con el nivel circulante de estrógenos, ni hacer presunciones sobre la etapa estral que predominó (o no) en los grupos de hembras.

Por último, cuando estudiamos los consumos diarios de comida y bebida con la jaula metabólica, observamos que las dietas C/G tienen efectos diferentes en ambos sexos relativo al consumo de comida: las hembras que comen G vs. C comen más y esta relación se invierte en los machos. Por otra parte, los machos alimentados con dieta C beben y orinan casi el doble que el resto de los animales. Este efecto de la dieta fue modulado por el sexo y, posiblemente se relacione con la composición mineral del alimento y el balance electrolítico de las ratas macho.

El aislamiento de la rata en las jaulas metabólicas produce una inevitable respuesta al stress, apenas disminuida por una previa habituación (Giral et al., 2022). Por lo tanto, este comportamiento alimentario pudo estar más determinado por los efectos del stress que por el tipo de dieta y modulado por el sexo. Además, se debe considerar que la respuesta al stress genera una activación de las neurohormonas que regulan el eje hipotalámico-hipofisiario-adrenal y/o la liberación desde la neurohipófisis de la hormona anti-diurética o arg. Vasopresina (Eriksson et al., 2004). Deberíamos proponer en el futuro hacer un estudio más profundo para determinar si el stress que produce el alojamiento restringido, impacta más en las hembras que en los machos.

5. CONCLUSIONES:

El presente trabajo nos permitió conocer algunos aspectos de la respuesta alimentaria de nuestros animales de laboratorio a dos dietas comerciales, una de las cuales es la que consumimos habitualmente mientras que la otra, no. Esto nos permitió tomar ciertas decisiones con respecto a los beneficios de utilizar en el futuro una combinación de ambas dietas en función de la edad madurativa de los animales y del sexo. Hemos detectado

diferencias sexuales y también que las dos dietas tienen efectos diferentes en ambos sexos, al menos en algunos parámetros. Los animales consumen más alimento C que G, no obstante, en la adultez alcanzan el mismo peso corporal que los alimentados con G. Esta respuesta indica que el período más sensible a la hora de elegir uno u otro alimento son los primeros 3 meses, a partir del cual, se estabiliza y, por lo tanto, no habría ninguna preferencia en comprar un producto o el otro. Además, deberemos tener en cuenta que el costo de ambos es diferente. Con respecto a los parámetros fisiológicos que se midieron, el más afectado por el tipo de dieta fue el perfil lipídico, en particular los TG, modulado por el sexo. En este sentido, sería deseable poder contar con información más detallada de la composición de la fracción grasa de cada producto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Asarian, L., & Geary, N. (2013). Sex differences in the physiology of eating. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 305(R1215–R1267). <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00446.2012>

Becker, J. B., Prendergast, B. J., & Liang, J. W. (2016). Female rats are not more variable than male rats: A meta-analysis of neuroscience studies. *Biology of Sex Differences*, 7(34). <https://doi.org/10.1186/s13293-016-0087-5>

Brown, L. M., & Clegg, D. J. (2010). Central effects of estradiol in the regulation of adiposity. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 122(1–3), 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2009.12.005>

Canadian Council on Animal Care. (2020). *CCAC guidelines: Rats*. <https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Rats.pdf>

De Oliveira, J. C., Gaspar de Moura, E. G., Miranda, R. A., Praxedes de Moraes, L. F., Barella, L. F., Santos da Conceição, E. P., Mello Gomes, R., Ribeiro, T. A., Malta, A., Peixoto Martins, I., da Silva Franco, C. C., Lisboa, P. C., & de Freitas Mathias, P. C. (2018). Low-protein diet in puberty impairs testosterone output and energy metabolism in male rats. *Journal of Endocrinology*, 237, 243–254.

Eriksson, E., Royo, F., Lyberg, K., Carlsson, H. E., & Hau, J. (2004). Effect of metabolic cage housing on immunoglobulin A and corticosterone excretion in faeces and urine of young male rats. *Experimental Physiology*, 89(4), 427–433.

<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2004.027656>

Espinoza, E., García, J., Carrillo, A., & Martínez, H. (2019). Eating behavior and caloric regulation in rats: Effects of the caloric content in liquids. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 45(2), 223–241. <https://doi.org/10.5514/rmac.v45.i2.75564>

Galassi Geréz, P. F., & Gullace, F. A. (2022). *Reproducción en animales de laboratorio. 1° parte: Rata-ratón* [Material de cátedra]. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

Giral, M., Armengol, C., & Gavalda, A. (2022). Physiologic effects of housing rats in metabolic cages. *Comparative Medicine*, 72(5), 298–305. <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-22-000026>

Hau, J., & Van Hoosier, G. L. (Eds.). (2003). *Handbook of laboratory animal sciences: Essential principles and practices* (Vol. 1, 2nd ed.). CRC Press.

Johnson, D. F., & Collier, G. H. (1987). Caloric regulation and patterns of food choice in a patchy environment: The value and cost of alternative foods. *Physiology & Behavior*, 39(3), 351–359.

Jones, B. (1951). Sex differences in the growth of young rats and survival of adult rats fed protein-deficient diets. *Journal of Nutrition*, 44(3), 465–475.

<https://academic.oup.com/jn/article-abstract/44/3/465/4727617>

López-Espinoza, A., Galindo, A., Martínez, A., Díaz, F., Aguilera, V., De la Torre-Ibarra, C., & Cárdenas, A. (2008). Feeding regulation in presence of changes in nutritional content of food in rats. *Psicología*, 16(2), 22–28.

Mamani, J. J. (2020). Parámetros fisiológicos y metabólicos de la rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*). *Revista Médica Basadrina*, 14(2), 64–68.

<https://doi.org/10.33326/26176068.2020.2.1016>

Márquez Montes, R., Altúzar Carpio, I., Villanueva Carrillo, G., & Palacios Po, G. (2010). Evaluación biológica de alimentos nutricionalmente mejorados en ratas Wistar. *Lacandonia*, 4(2), 53–61.

National Institutes of Health. (2011). *Guide for the care and use of laboratory animals* (8th ed.). The National Academies Press.

Odum, J., Tinwell, H., Tobin, G., & Ashby, J. (2004). Cumulative dietary energy intake determines the onset of puberty in female rats. *Environmental Health Perspectives*, 112(15).

Paniagua, J. A., Romero, M. I., Sánchez, M. E., Valverde-Esteba, A., Ruano-Fuentes, F., & Pérez-Jiménez, F. (2008). Efecto de tres modelos de dieta en la respuesta de glucosa e insulina, perfil lipídico y función endotelial en individuos con resistencia a la insulina. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 20(2), 55–63.

Sánchez-Garrido, M. A., Castellano, J. M., Ruiz-Pino, F., García-Galiano, D., Manfredi-Lozano, M., León, S., Romero-Ruiz, A., Diéguez, C., Pinilla, L., & Tena-Sempere, M. (2013). Metabolic programming of puberty: Sexually dimorphic responses to early nutritional challenges. *Endocrinology*, 154(9), 3387–3400. <https://doi.org/10.1210/en.2012-2157>

Suckow, M., Hankenson, F. C., Wilson, R., & Foley, P. (2019). *The laboratory rat* (3rd ed.). <https://vetbooks.ir/the-laboratory-rat-3rd-edition/>