



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ALTERACIONES PRODUCIDAS
POR LA OBESIDAD EN EL RITMO
CIRCADIANO DE LA ACTIVIDAD
LOCOMOTRIZ EN EL RATÓN DE
LOS VOLCANES *Neotomodon
alstoni alstoni***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

LETICIA COLLADO LÓPEZ

TUTOR

Dr. Manuel Miranda Anaya

2009





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 esta 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.

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno

Collado
López
Leticia
21613292
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
302095746

2. Datos del tutor

Doctor
Manuel
Miranda
Anaya

3. Datos del Sinodal 1

Doctor
René de Jesús
Cárdenas
Vázquez

4. Datos del Sinodal 2

Doctora
Elsa Guadalupe
Escamilla
Chimal

5. Datos del Sinodal 3

Doctora
Silvia
Arteaga
Hernández

6. datos del Sinodal 4

M en C
Agustín
Carmona
Castro

7. Datos del trabajo escrito

Alteraciones producidas por la obesidad en el ritmo circadiano de la actividad locomotriz en el ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni alstoni*

DEDICATORIA

A quienes debo la vida, mis padres.

**Margarita Lopez Castillo
Cristóbal C. Collado Ibarra**

Por su apoyo incondicional, su tiempo, su amor y sobre todo por existir.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por Beca para Tesis de Licenciatura, PAPIIT IN202808.

A mi padre por su tiempo, paciencia y amor, por ser parte vital y fundamental de mi vida, por enseñarme la importancia de la vida y la negociación.

A mi madre por su cariño y tiempo, por los momentos de risas, por los juegos y consejos, simplemente por ser la mujer de mi vida.

A mi hermano Javi por ser mi cómplice y amigo incondicional.

A mi hermana Ivonne por el tiempo y comprensión.

A mi sobrina Sol, a pesar de ser nueva en mi vida me ha dado alegría para seguir.

A Dios por darme la vida, una hermosa familia y amigos sin igual.

A mi gran amiga Mónica por ser mi cómplice, casi mi hermana.

A mis amigos July, Sara, Jacob por el tiempo que hemos estado juntos, las charlas, los cafés y los buenos ratos.

A mis amigas Ady y Aremi, por el tiempo que hemos compartido juntas.

A Adriana Minor y Serch, por los consejos, la guía que me dieron al inicio de la carrera y por sigma.

A mis amigos de Ciencias Adrianita, Oscar, Silvia, Lupe y más... por los buenos ratos, los buenos tragos y los buenos amigos.

A mis profesores Jazmín (procariontes), Fernando (molecular I) y Rosa (plantas I) por el tiempo que me brindaron, la guía y las enseñanzas.

A toda la banda de Jóvenes Tulyehualco por los buenos amigos, Pame, Mario, Ivan, todos, por todo lo que he conocido y aprendido.

A mi amigo David por lo mucho que me ha regalado en tan poco tiempo.

Al Bioterio de la Facultad de Ciencias por el apoyo durante el trabajo.

Al M. en C. Agustín Carmona por el apoyo y guía durante el trabajo.

A mis sinodales por el tiempo que dedicaron y los comentarios.

A todas las personas que se me pasan pero que de manera directa o indirecta fueron parte importante para este trabajo.

Finalmente y no por eso menos importante, muy especialmente a mi asesor y amigo el Dr. Manuel Miranda por todo el tiempo y comprensión que me brindo, por los consejos y todo el apoyo.

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCIÓN	2
	Ritmos biológicos	2
	Generalidades sobre los ritmos circadianos	4
	Oscilación espontánea	4
	Compensación de temperatura	5
	Sincronización	6
	El sistema circadiano en mamíferos	6
	El núcleo supraquiasmático y los osciladores periféricos	7
	Regulación molecular del reloj circadiano en mamíferos	9
	Obesidad	11
	Factores biológicos que influyen en el desarrollo de la obesidad	12
	Control neuroendocrino de la regulación del apetito y saciedad	14
	Relación entre obesidad y el reloj circadiano	20
III.	ANTECEDENTES	22
	Biología de la especie <i>Neotomodon alstoni</i>	22
IV.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	27
V.	JUSTIFICACIÓN	28
VI.	HIPÓTESIS	28
VII.	OBJETIVO	29
	Objetivo general	29
	Objetivos particulares	29
VIII.	MÉTODO	30
	Obtención y cuidado de los animales	30
	Selección de animales y mantenimiento durante el registro de actividad	31
	Registro de actividad	32
	Protocolo Experimental	33
	Análisis de datos	34
IX.	RESULTADOS	36
	Registro crónico de actividad locomotriz en piso y respuesta al fotoperiodo	36
	Relaciones de actividad	45
	Comparación de la respuesta de ajuste ante el avance y el retraso de fase	50
X.	DISCUSIÓN	51
XI.	CONCLUSIONES	56
XII.	BIBLIOGRAFÍA	57

I. RESUMEN

Hoy en día la población mexicana ocupa los primeros lugares de obesidad en México, a pesar de que las causas exactas que desarrollan esta enfermedad se desconocen es considerada un desorden multifactorial en el que están involucrados distintos factores. La región ventromedial en el hipotálamo es la principal zona de control de la respuesta a la ingesta de alimento. Se ha visto que algunos desajustes en la regulación genética y neural de los ritmos circadianos están relacionados con el desarrollo de la obesidad. Se ha propuesto al ratón *Neotomodon alstoni* como un modelo para el estudio de la obesidad ya que en cautiverio, un alto porcentaje de estos animales desarrollan un fenotipo obeso. El presente trabajo tiene el objetivo de establecer las diferencias en las características del ritmo circadiano de actividad locomotriz entre animales adultos obesos y no obesos del ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni*. Los resultados obtenidos al comparar los ritmos de actividad locomotriz en animales normales con animales obesos fueron sometidos a un protocolo con un fotoperiodo 12:12 a cambios de avance de fase y de retraso además de una fase final de libre curso, mostraron que ambos grupos presentaron diferencias en la capacidad que muestran ambos grupos para ajustarse a estos cambios, además también se observaron diferencias en la duración del periodo del ritmo circadiano de actividad.

En el presente trabajo se concluye que el ratón *Neotomodon alstoni* en condición no obesa presenta actividad concentrada en la escotofase presentando un comportamiento nocturno, mientras que los animales obesos no concentran su actividad en la fase oscura reparten su actividad total durante todo el ciclo y concentrando la mayor actividad durante el final de la fase luminosa y principio de la fase oscura. Los animales OB machos y hembras presentan una disminución total de actividad y presentan periodos mayores a 24h. Los animales no OB reducen la duración de α en los días transitorios para ajustar por avance.

II. INTRODUCCIÓN.

Ritmos biológicos.

Los seres vivos, además de compartir distintos nichos ecológicos compartimos condiciones biogeofísicas que presentan variaciones cíclicas como consecuencia de los movimientos de rotación y traslación de la tierra; tales cambios se reflejan principalmente en los ciclos del día y la noche, las fases de la luna y las estaciones del año. Una de las adaptaciones obvias en los organismos es la capacidad de cambiar su comportamiento en un día (Aschoff, 1981). Resulta sumamente interesante como los seres vivos han creado mecanismos que les permiten anticiparse a cambios cíclicos ambientales, para poder explicar estos mecanismos internos, se han hecho analogías con el funcionamiento de un 'reloj' lo que implicaría un sistema de cronometría auto sostenido.

El reloj biológico permite que el comportamiento y la fisiología de los organismos enfrenten los desafíos asociados a los cambios diarios en el ambiente externo, esta es una sincronización temporal entre el organismo y el ambiente.

De igual importancia, pero quizás menos apreciado, es el hecho de que este reloj biológico tiene un papel semejante al de un conductor de orquesta sinfónica, quien proporciona la organización temporal interna y asegura que los cambios internos ocurran por la coordinación entre sí (Turek et al,2001). Mientras que los organismos vivos se organizan espacialmente, también se

organizan temporalmente para asegurarse que hay sincronización interna entre los innumerables sistemas bioquímicos y fisiológicos en el cuerpo (Pittendrigh, 1993).

Se podría definir a los ritmos biológicos, como los cambios cíclicos que experimentan los distintos procesos fisiológicos, y que ocurren regularmente en un intervalo de tiempo determinado. Dada la frecuencia del ritmo podemos distinguir tres clasificaciones de los ritmos:

Circadianos, presentan periodos cercanos a las 24 hrs (de 20 a 30 hs).

Infradianos, presentan periodos mayores a 30 hrs.

Ultradianos, presentan periodos menores a 20hrs.

Sin embargo, las características generales de los ritmos circadianos no siempre son compartidas por las otras dos clases de ritmos biológicos.

La capacidad de cada organismo para presentar diversos tipos de ritmos biológicos, se basa en la existencia de un 'reloj biológico'. En general este término engloba dos tipos distintos de osciladores, aquellos que son identificables como entidades físicas discretas y diferenciables del resto del organismo y otros que emergen como una propiedad resultante de la interacción de elementos interconectados en asas de retroalimentación negativa. La interacción de estos dos sistemas resulta en la adaptación del organismo a presiones ambientales cíclicas.

Generalidades sobre los ritmos circadianos.

Oscilación espontánea.

Muchos individuos en condiciones constantes de oscuridad, presentan ritmos endógenos con intervalos cercano de 23 a 26h (Jonson et al, 2004). Este intervalo es cercano a la duración de un día por lo que se les ha llamado circadianos; palabra del latín circa-alrededor y diem-día (DeCoursey, 2004).

Cuando un organismo es mantenido en un ambiente libre de señales temporales, es posible notar ritmos endógenos, es decir, espontáneamente presentes, que difieren ligeramente del que presenta en condiciones naturales, donde existen una gran diversidad de señales ambientales que presentan periodicidad.

El periodo del ritmo endógeno libre de señales externas es altamente predecible, y es conocido como periodo del ritmo en libre curso (o FRP por sus siglas en inglés *free-running period*). El símbolo que lo representa es la letra griega tau (τ) y es dependiente de una variedad de factores como, la especie a la que pertenece, la iluminación, la temperatura, los factores de desarrollo e incluso la historia del organismo previa a la observación del ritmo (Jonson et al, 2004). El τ puede presentar algunas variaciones pequeñas entre organismos de la misma especie sin embargo existen variaciones significativas entre especies distintas; de esta forma es factible determinar un periodo característico para cada especie.

La luz representa uno de los factores ambientales que pueden modificar a τ en la mayoría de las especies (Aschoff 1960). En las especies diurnas (peces, reptiles y aves) es posible observar un acortamiento de τ conforme aumenta la intensidad de la luz, mientras que lo opuesto sucede con las especies nocturnas; estas consideraciones son conocidas como la regla de Aschoff, sin embargo existen muchas especies que son la excepción a la regla, por ejemplo en las especies diurnas como nocturnas los mamíferos presentan un alargamiento de τ en respuesta al aumento de intensidad de la luz.

Compensación de temperatura.

Collin Pittendrigh en 1960 fué quien observó por primera vez en el ritmo de eclosión de la mosca de la fruta *Drosophila* el fenómeno de compensación de temperatura, en el cual τ se mantiene relativamente constante a pesar de los cambios que pudieran afectar la cinética de algunos procesos enzimáticos, lo que significa que existe compensación de los efectos de la temperatura que causan variación a nivel molecular. La relación que existe sobre la forma en que un proceso es afectado por la temperatura a una diferencia de 10°C, se mide mediante el índice del Q_{10} , ya que los índices de la mayoría de los procesos fisiológicos se duplican o se triplican aproximadamente con cada aumento de 10°C ($Q_{10}= 2$ o 3) en la temperatura, éste crearía dificultades severas para los relojes fisiológicos si estos reaccionaran de manera semejantemente (Brady, 1982) sin embargo esto no sucede con la medición del tiempo en el reloj, ya que

el valor del periodo en libre curso es muy cercano ante cambios ambientales de 10 o más grados centígrados.

Sincronización.

Todos los organismos vivos están expuestos a ciclos ambientales con periodos de 24 h como consecuencia de los ciclos del día y la noche. Resulta evidente que, para conservar un estimado esencial del tiempo local, el reloj interno debe sincronizarse al ciclo geofísico de 24h. Al reajuste diario con los ciclos ambientales se le conoce como sincronización (*entraining* en inglés), y podemos hacer una analogía con el ajuste que uno hace diario a un reloj, si está funcionando un poco rápido o lento. Algunos factores ambientales como los cambios de temperatura, la iluminación y la disposición de alimento entre otros, son capaces de modificar la fase del ritmo, estas señales son conocidas como sincronizadores o *zeitgeber* (del alemán zeit = tiempo, geber =dador, Brady y John, 1982).

Sin embargo, no todos los organismos son igualmente sensibles a los diversos *zeitgebers* y esto está en función del momento del día o la intensidad de la señal que se aplica al organismo. Cuando el *zeitgeber* es efectivo, la sincronización se da por avances o por retrasos de fase.

El sistema circadiano en mamíferos

En los mamíferos el reloj circadiano resulta un elemento esencial para la adaptación a su nicho temporal. La organización circadiana fisiológica,

metabólica y de comportamiento que proporciona el reloj en los mamíferos es compleja, sin embargo existe una estructura que ha sido ubicada como el marcapasos circadiano central, localizado en el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo anterior en el cerebro (Froy, 2007).

El núcleo supraquiasmático y los osciladores periféricos

El reloj de NSQ se compone de múltiples neuronas que funcionan como osciladores circadianos unicelulares, de tal modo que, cuando están sincronizados, generan las salidas circadianas coordinadas que regulan los ritmos manifiestos (Froy, 2007). El NSQ envía periódicamente las señales a los osciladores periféricos para prevenir la disminución de los ritmos circadianos en estos tejidos. Los mecanismos por los cuales el NSQ logra la sincronización interna, no están bien entendidos (Le Minh et al, 2001).

Así, el reloj circadiano central, llamado a menudo marcapasos, está situado en el NSQ y presenta características que lo diferencian como tal, primero, cuando se realiza una lesión en éste, el ritmo manifiesto se pierde. En segundo lugar, cuando es transplantado en animales arrítmicos el ritmo se recupera en el receptor y por último, el cultivo in vitro de este órgano manifiesta ritmos circadianos endógenos que persisten (Yamazaki et al, 2000). En cuanto a estructura, el NSQ está compuesto por dos cuerpos ovoides que contienen cerca de 16,000 neuronas y soportes celulares como glia, se encuentra situado arriba del quiasma óptico; existen algunas diferencias estructurales entre las

neuronas de la base y las neuronas de la corteza y aunque estas sean relativamente leves, las diferencias citoquímicas son muy pronunciadas, dando lugar a una estructura química altamente característica de la base y de la corteza del NSQ (DeCoursey, 2004).

Una gran variedad de cultivos de tejidos han mostrado presencia de oscilaciones circadianas, el sustento cíclico de estas oscilaciones probablemente dependa del NSQ (DeCoursey, 2004). Entre estos tejidos periféricos se han encontrado algunos tales como el hígado, intestino, y la retina (Yamazaki et al, 2000; Froy, 2007).

La oscilación del NSQ como marcapasos, no es exactamente de 24 h, por lo tanto, es necesario sincronizar al marcapasos circadiano cada día a ciclos de luz-oscuridad externa y para evitar el libre curso. La luz es el sincronizador más eficiente para sincronizar al NSQ (Quintero et al., 2003). La luz es percibida por la retina, en particular por las células ganglionares W y la señal se transmite vía el tracto retinohipotálamico del nervio óptico, (RHT) hacia el NSQ (Froy, 2007). El NSQ recibe la información, la interpreta y la transmite más lejos hacia los osciladores periféricos al NSQ, mediante conexiones neuronales o factores humorales de circulación. El NSQ proporciona su salida más intensa a la zona subparaventricular (SPZ) y núcleo dorsomedial del hipotálamo (DMH) que es necesario para organizar ritmos circadianos de la temperatura, del sueño, actividad locomotora, alimentación y producción de corticoesteroides (Saper et al, 2005).

Regulación molecular del reloj circadiano en mamíferos

En los mamíferos, el reloj molecular se expresa por mecanismos de transcripción – traducción, mismos que comparten las neuronas y las células periféricas del NSQ (Schibler et al, 2003). Muchos de los productos de los genes reloj funcionan como factores de transcripción, los cuáles poseen el dominio PAS (POR, ARNT, SIM) y hélice-vuelta-hélice básica (bHLH), respectivamente, en interacciones proteína-proteína y proteína-DNA. Todos estos factores funcionan dentro de asas de retroalimentación, que activan o reprimen respectivamente su propia expresión y constituyen en última instancia, una línea de regeneración transcritiva autónoma (Froy, 2007). Los cambios en la concentración de algunas proteínas como CLOCK, BMAL, CRY y PER; la localización subcelular, las modificaciones postraduccionales, y los retrasos en la transcripción y la traducción llevan a alcanzar ciclos de 24h (Dunlap, 1999; Panda et al 2002 y Reppert, 2002).

El mecanismo del reloj molecular es regulado por los genes clock, bmal1, per1, per2, per3, cry1 y cry2. En el ratón, el primer gen identificado fue el que codifica para la proteína CLOCK que es un factor de transcripción (Vitaterna et al, 1994).

CLOCK dimeriza con BMAL1 para activar la transcripción de CLOCK y BMAL1, luego el factor de la transcripción pAS-bHLH, activa la transcripción ligándose a E-box (5'-CACGTG-3') y E-box-like de la región promotor 2 (Reppert, Weaver 2002). BMAL1 puede también dimerizarse con un homólogo de CLOCK como NPAS2 para así activar la transcripción y sostener la ritmicidad

(Asher et al 2006.). Así, CLOCK:BMAL1 como heterodímero encuentran la secuencias de la E-box y median la transcripción de una gran cantidad de genes incluyendo los de retroalimentación negativa *per* y *cry*. Las proteínas PERs y CRYs dimerizan en el citoplasma y para estabilizar el dímero en el citoplasma, la proteína PER debe ser fosforilada por la Caseína cinasa I epsilon (CKI ϵ) (Dunlap 1999, Feillet, et al 2006; y Whitmore et al, 2000.), cuando PERs y CRYs dimerizan, se desplazan al núcleo donde van a inhibir su propia transcripción pues desplazan al dímero CLOCK y BMAL1 de su sitio de unión. Como resultado de la inhibición de CLOCK-BMAL1, los niveles de *per*, *cry* y *rev-erb α* disminuyen junto con los niveles de las proteínas PER, CRY y REV-ERB α . El dímero CLOCK-BMAL1 funciona también como promotor de transcripción de *Rev-erb α* cuyo producto reprime la expresión de *Bmal1*. La expresión *Bmal1* es regulado negativamente por *rEV-ERB α* del y regulado positivamente por *ROR α* (fig. 1).

El asa de autorregulación de la transcripción-traducción que abarcan los dímeros CLOCK-BMAL1 y PER-CRY constituye la base el reloj y generan ritmos de 24h en la expresión de los genes reloj, *per* y *bmal1* tienen oscilación fuertes en fases opuestas que mantienen correlacionan con sus funciones de represión (Froy et al, 2006). Todos los genes ya mencionados del reloj presentan ritmos de 24 h en las células.

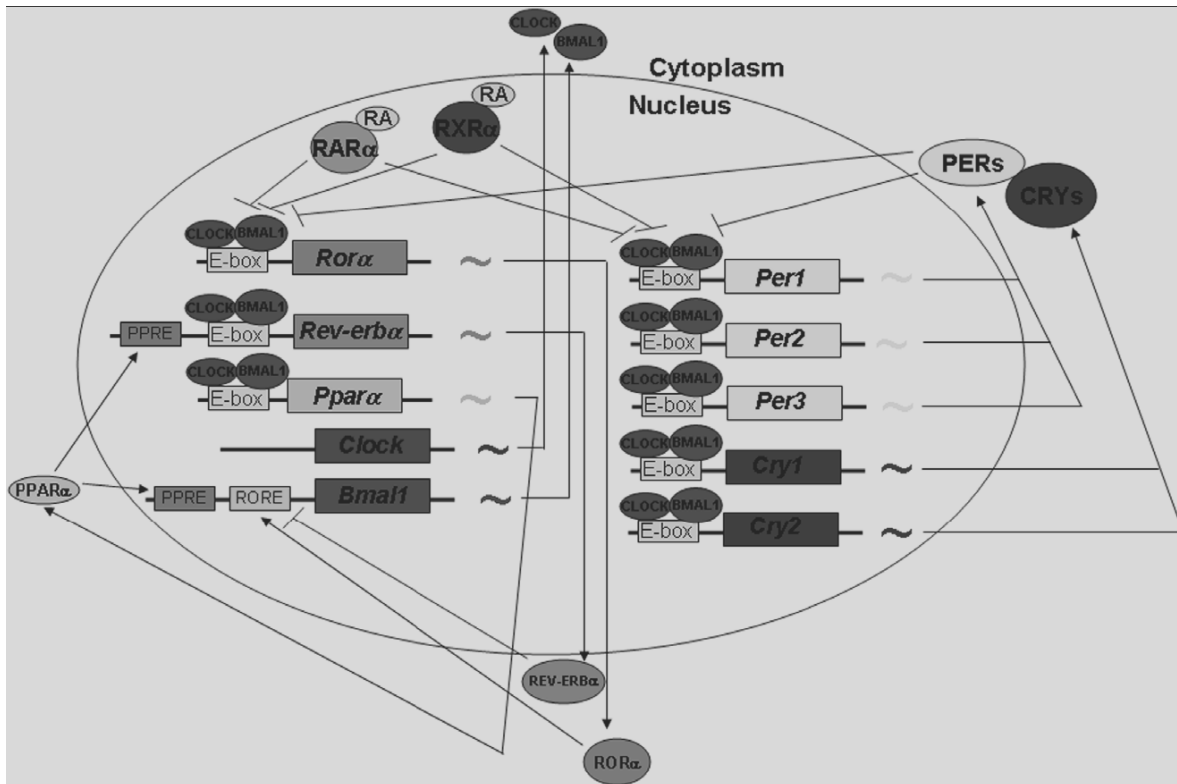


Fig 1. Reloj Molecular. Asas de retroalimentación (tomado de Froy 2007)

Obesidad.

Actualmente se desconocen las causas definitivas que ocasionan la obesidad, sin embargo ésta es considerada una enfermedad que está ligada a múltiples factores biológicos. Una de las explicaciones sobre el desarrollo de la obesidad se refiere a que esta patología es inducida por un balance positivo de energía derivado del incremento en la ingesta de alimento y decremento en el gasto energético, o ambos (Barranco et al. 2004). Bajo este contexto, la obesidad es un estado crónico del almacenaje excesivo de grasa, que va más

allá de las fluctuaciones naturales causadas por los cambios en disponibilidad de nutrientes en el ambiente (Berthoud y Morrison, 2008).

Factores biológicos que influyen en el desarrollo de la obesidad

Existen diversos factores que figuran como posibles causas de la obesidad, algunos como la genética del individuo y otros mecanismos que implican neurotransmisores y hormonas, aunados a condiciones ambientales que favorecen al desarrollo de la enfermedad tales como el incremento en la ingesta de alimento, la reducción de actividad locomotriz y aquellos factores que implican una reducción significativa del gasto energético.

Debido a su importancia biológica, la ingesta de alimento es controlada por un sistema altamente complejo pero los mecanismos de control neural se miran típicamente como sistemas de “entrada-integración-salida”. Cuando se ingiere alimento, los macronutrientes que han sido absorbidos se reparten, se almacenan de inmediato o forman parte del metabolismo en los varios tejidos donde son requeridos. El páncreas desempeña un papel especial en la circulación de combustibles y de ciertas hormonas gastrointestinales, que determinan la liberación de las hormonas pancreáticas como la insulina, glucagón, y polipéptidos pancreáticos, toda la señalización es integrada en el cerebro (Burcelin, 2005, Drucker y Nauck, 2006). Otros sensores de nutrientes se localizan en la vena porta y el hígado (Matveyenko y Donovan, 2006; Thorens y Larsen, 2004). El tejido adiposo tiene también un papel importante en el envío de señales al cerebro sobre la alimentación, el tejido adiposo se encarga de secretar hormonas como la leptina, la adiponectina, la resistina, y citocinas que

juegan papeles importantes en la regulación neural y periférica de la ingesta de alimento y del balance energético (Trayhurn et al, 2006).

El hipotálamo es un órgano que juega un papel crucial en el control de la ingestión de los alimentos y del balance energético. Algunas de las poblaciones neuronales dominantes se han identificado en el Núcleo Arqueado y muchos de los mecanismos moleculares de integración intracelular de varias hormonas y señales de nutrientes están actualmente bajo intensa investigación. Hasta ahora se desconocen detalles sobre cómo el cerebro en conjunto integra toda la información por dentro y fuera del cuerpo en respuestas biológicas adaptativas con respecto al comportamiento de la ingesta de alimento. Se reconoce que la red de los nervios responsable de la integración total no se limita al hipotálamo, sino que incluye partes importantes en el sistema límbico, corteza, cerebro medio y bulbo raquídeo (Berthoud y Morrison, 2008).

El cerebro debe detectar y responder una gran variedad de señales externas relacionadas con la disponibilidad de alimento. El cerebro también procesa un arsenal de señales internas que transportan la información sobre la presencia y el tipo de alimentos dentro de intestino, la cantidad de combustibles que circulan en la sangre y del nivel de energía almacenada como grasa. Aunque múltiples áreas en el cerebro están claramente implicadas, el hipotálamo ha recibido la atención primaria en la detección inicial de la circulación de las señales alimenticias. El aparato gastrointestinal tiene una comunicación intensa y de manera recíproca con el cerebro a través del sistema nervioso simpático, de las hormonas y del nervio vago que por medio de

aferentes vagales proporciona una inervación sensorial al aparato gastrointestinal (Berthoud et al, 2000). En este sentido, el sistema nervioso autónomo y entérico además del eje pituitario-endocrino, pueden considerarse una parte fundamental en el sistema de salida ya que modula la dirección gastrointestinal y el proceso metabólico de la alimentación así como la división y la oxidación de metabolitos, por lo que de esta manera co-determinan el nivel de señales en el lado sensorial del vínculo regulador (Berthoud y Morrison, 2008).

La genética de los individuos es otro de los factores biológicos fundamentales que se deben tomar en cuenta para poder entender como se desarrolla la obesidad, en la gran mayoría de los mamíferos, los genes no son la causa directa de la obesidad sin embargo existe cierta predisposición a su padecimiento (Friedman, 2003; Neel, 1962; Speakman, 2004).

Control neuroendocrino de la regulación del apetito y saciedad.

El cerebro procesa tanto señales que provienen del exterior como un conjunto grande de señales internas. Estas señales transportan la información sobre la presencia y el tipo de alimentos dentro del intestino, la cantidad de combustibles que circulan en la sangre y del nivel de energía almacenada como grasa (figura 2).

En el hipotálamo se encuentra el Núcleo Arqueado (ARC), que contiene neuronas con neuropéptido Y (NPY) y la agouti related protein (AgRP), las cuales son conductoras primarias en el manejo de la ingesta de alimento y

estimulan el apetito. Una lesión aguda de las neuronas de NPY/AgRP en animales adultos lleva a hipofagia y pérdida del peso corporal (Gropp et al, 2005). Las neuronas en las que se localizan la pro- opio-melanocortina (POMC) y el transcrito regulado por cocaína y metanfetamina (CART) disminuyen el apetito. POMC es una proteína con un precursor grande que se procesa en una variedad de productos más pequeños, como la hormona estimulante de los alfa melanocitos (α -MSH). Una infusión central del α -MSH o de su análogo estable II melanotan (MTII) produce una marcada supresión de la ingestión de alimento, mientras que la supresión genética de POMC da lugar a un fenotipo obeso (Krude, et al, 1998; Yaswen et al, 1999). De esta manera neuronas de POMC ejerce una influencia inhibitoria en la ingesta de alimento y sobre la regulación de la homeostasis energética. Un nuevo modelo sugiere que estas dos poblaciones de neuronas ejercen los efectos de barrera sobre la alimentación y el metabolismo energético, lo cual implica una regulación del peso corporal y desarrollo de los adipositos en niveles normales (Morton et al, 2006).

En diversos tejidos, existen señales que informan del estado de la reserva energética, como la insulina, procedente del páncreas, y la leptina, del tejido adiposo. En situación posprandial, ambos péptidos se liberan en la sangre y cruzan la barrera hematoencefálica, al llegar al Núcleo Arqueado inhiben las neuronas NPY/AGRP y estimulan las POMC/CART, con lo que deja de producirse el estímulo del hambre. En esta situación también se liberan otros péptidos anorexigénicos en el tracto gastrointestinal, como la colecistocinina (CCK), el polipéptido pancreático (PP), el polipéptido YY (PYY), el péptido

semejante a glucagon (GLP-1) y la oxintomodulina, y se inhiben los péptidos orexígenos, como la Ghrelina, de procedencia principalmente gástrica, para que predomine el estímulo de las neuronas POMC/CART en el hipotálamo (Druce MR et al, 2004)

Las dos poblaciones de neuronas en ARC del hipotálamo, son sensibles a un número importante de señales que indican la disponibilidad total de los combustibles que circulan en el plasma. Las neuronas que secretan ambos péptidos NPY/AgRP y POMC, expresan receptores para leptina y son regulados directamente por leptina. La selectiva supresión de los receptores del leptina dentro de las neuronas de POMC resulta en un fenotipo obeso, aunque el efecto sea mucho menos fuerte que la pérdida total de las neuronas POMC (Balthasar et al, 2005).

Los niveles bajos de leptina estimulan la ingesta de alimento y la reducción del gasto energético, mientras que niveles elevados de leptina suprimen la ingesta de alimento y estimulan el gasto energético. El mecanismo por el cual la leptina regula estas neuronas implica cambios en la expresión de genes y efectos en la membrana celular (Cowley et al, 2001; Schwartz et al, 1996; Schwartz et al, 1997; Spanswick et al, 1997). La leptina también es dirigida a otras vías intracelulares, una de las más importantes es la de Phosphoinositol 3-kinasa PI3K, esta vía ha resultado sumamente importante debido a que la pérdida de PI3K atenúa la inhibición inducida por leptina, de la ingesta de alimento, la regulación de la expresión del neuropéptido y del estímulo de la

actividad de sistema nervioso simpático (Morrison et al, 2005; Niswender et al, 2001; Rahmouni et al, 2003).

Las funciones comunes de la leptina y de la insulina son mediadas en parte por la señalización traslapada de las vías activadas por estas hormonas. En ambas se activa PI3K dentro de las neuronas hipotalámicas y requieren PI3K intacto para suprimir la ingesta de alimento. (Niswender et al, 2001).

Desde ambos tipos de neuronas del ARC, emergen axones hacia otras partes del hipotálamo como el núcleo paraventricular (PVN), el hipotálamo lateral (LH) y el área perifornical (PFA). Desde estas áreas, emergen estímulos eferentes por distintas vías que están todavía por aclararse y que, pasan por el núcleo del tracto solitario (NTS) y a través del nervio vago y del ganglio cervical superior, ponen en marcha o inhiben estímulos secretores y mecánicos en el tracto gastrointestinal, cerrando el circuito (fig. 2, Caixàs, 2006).

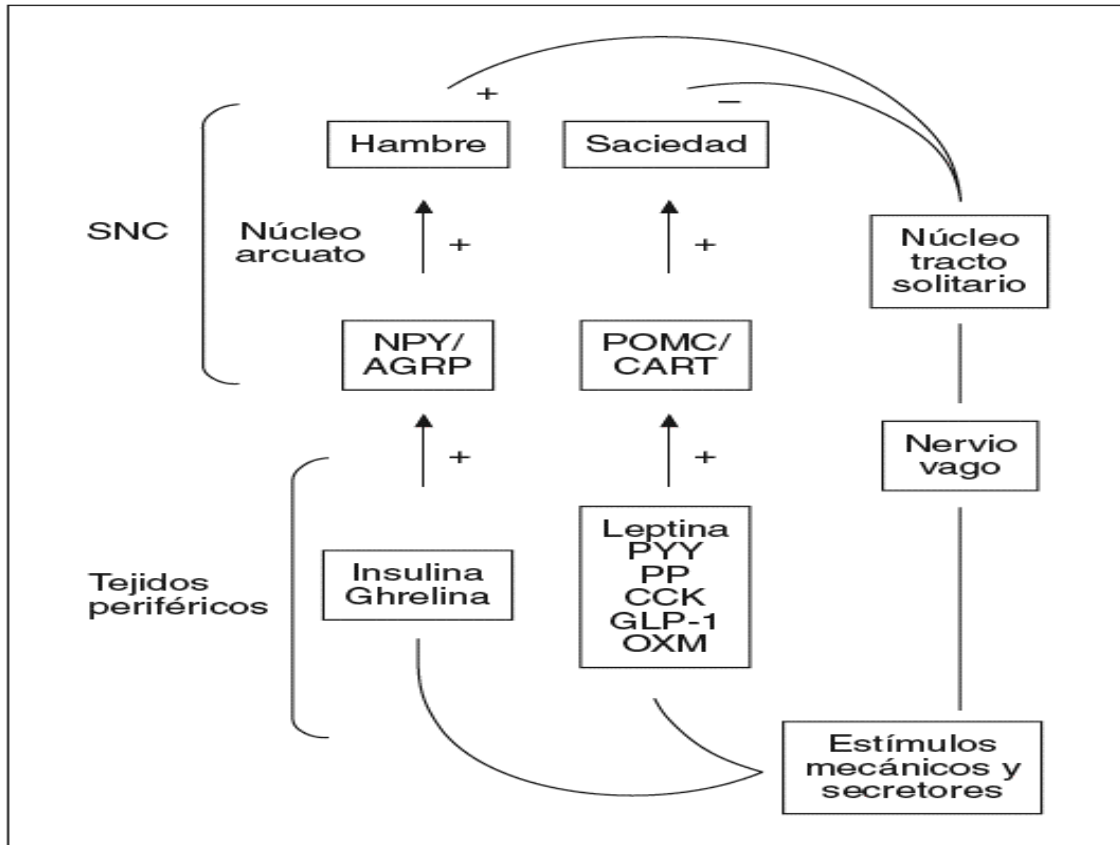


Fig. 2 Esquema de los mecanismos de regulación del apetito. NPY: neuropéptido Y; AGRP: agouti related protein; POMC: proopiomelanocortina; CART: cocaine and amphetamine-regulated transcript; PYY: polipéptido YY; PP: polipéptido pancreático; CCK: colecistocinina; GLP-1: glucagon-like peptide-1; OXM: oxintomodulina (tomado de Caixàs, 2006).

Otras señales son recogidas de los tejidos periféricos por medios hormonales, por ejemplo la Insulina, la cual es secretada por las células β pancreáticas, estas además producen amilina y tienen capacidades glucosensitivas, estas hormonas son secretadas en función de la disponibilidad de la glucosa. La insulina actúa directamente en el hipotálamo y otras áreas del cerebro, y la amilina actúa para disminuir la ingesta de alimento y el vaciado gástrico (Lutz et al, 2001; Young , 2005). La Grelina es secretada en

la mucosa del estómago, estimula el apetito inhibiendo la actividad vagal aferente. El receptor de Grelina se expresa cerca de un subconjunto de neuronas aferentes vagales en los ganglios nodulares y regula la expresión de otros receptores del péptido (Asakawa et al, 2001; Burdyga et al, 2006; Date et al, 2002). El péptido semejante a glucagón (Glucagon-like peptide-1 GLP-1) es secretado por las células L en el yeyuno, es el producto del gene del proglucagón que también es expresado en las células del páncreas, participa en la supresión del apetito (Barranco, et al 2004). El Peptido Tyrosina Tyrosina (PYY) es un péptido producido en el íleon y el cólon. Cuando el PYY se libera a la circulación, los primeros dos aminoácidos son separados rápidamente por acción de una enzima, dando por resultado PYY₃₋₃₆. Este producto tiene funciones dentro de la disminución del apetito en respuesta a la ingesta de alimento (Eberlein et al, 1989). El Glucagón es producido en el páncreas (GP) este actúa sinérgicamente con la CCK e inhibe el apetito causando efectos de saciedad a través del estímulo de la producción de glucosa hepática (Barranco et al, 2004).

En relación al hipotálamo, existe un nuevo enfoque para entender la señalización intracelular y cuales son los caminos que sirven para integrar señales generadas por nutrientes, hormonas, y demás señales que informan al cerebro sobre el entorno interno.

Relación entre obesidad y el reloj circadiano

El reloj circadiano comparte los mismos componentes moleculares en las neuronas del NSQ y en los tejidos periféricos, tales como el hígado, el intestino, y la retina. El NSQ, recibe la información de la luz a través de los ojos y transmite esta información al resto del cuerpo para sincronizar la fisiología al ambiente (Ruitter et al, 2006).

La relación entre la alimentación, el metabolismo, y el tiempo circadiano comenzó a ser de interés cuando se observó la mutación de los genes de reloj (*clock*, *bmal1*) producían ratones con obesidad, hiperfagia y homeostasis anormal de la glucosa (Rudic et al, 2004; Turek et al, 2005). Los componentes del reloj regulan directamente genes que controlan el comportamiento y el metabolismo, mientras que el metabolismo altera inversamente la expresión de los genes del reloj. Esta relación molecular recíproca se refleja en fisiología y comportamiento, pues la alimentación tiene influencia sobre la fase del reloj y resulta un elemento importante en el ajuste de ciertos ritmos circadianos, como el de actividad locomotriz (Moynihan et al, 2007). También la disfunción del reloj circadiano está asociada a menudo a enfermedades metabólicas, tales como obesidad, la Diabetes mellitus y la hipertensión.

Se ha visto que el reloj circadiano interviene en el control de la transformación de los alimentos y la homeostasis energética; además también regula la expresión y/o la actividad de las enzimas implicadas en el uso del colesterol, aminoácidos, lípidos, glucógeno y metabolismo de la glucosa. Así mismo, muchas hormonas tales como la insulina, el glucagón, la adiponectina, la

leptina y la grelina, presentan oscilaciones circadianas. La arritmia circadiana está implicada en el desarrollo del cáncer, del síndrome metabólico y de la obesidad. El metabolismo y la ingesta de comida también afectan al sistema circadiano. La restricción de calorías ajusta la fase del NSQ, mientras que las comidas sincronizadas ajustan los osciladores periféricos. Además, el estado oxido-reducción celular, dictado por el metabolismo del alimento, y varios alimentos, y hormonas como la leptina e insulina, puede producir desfases en los ritmos circadianos. La fracción de transcripciones expresadas de forma cíclica en cada uno de los tejidos periféricos se extiende en el 5% al 10% del total la población y la gran mayoría de estos genes son tejido-específicos (Froy, 2007).

Entre otras patologías provocadas por alteraciones de los genes reloj, también incluyen la dislipidemia, a la resistencia de insulina y la predisposición a la aterosclerosis. El receptor nuclear de Rev-erb α desempeña un papel importante en la sincronización apropiada del reloj. Rev-erb α también regula el metabolismo de los lípidos, la adipogénesis y la inflamación vascular. Además Rev-erb α interactúa con otros receptores nucleares implicados en homeostasis de la energía. Por lo tanto Rev-erb α puede servir como vértice de señales metabólicas y circadianas (Duez y Staels, 2008).

La función del sistema de control de la alimentación está modulada por factores tales como los ritmos circadianos, el género, el ciclo reproductivo, y la etapa relativa de vida útil. La alimentación está íntimamente relacionada al ciclo sueño- vigilia a través del ritmo circadiano (Vanitallie, 2006). Hoy en día es

notorio que la actual forma de vida urbana trae consigo graves alteraciones fisiológicas, desde el simple hecho de que disminuye la duración del sueño y se proporciona más oportunidades de comer, la privación relativa del sueño puede favorecer el desarrollo de la obesidad a través de otros mecanismos.

III. ANTECEDENTES

Las enfermedades relacionadas con la obesidad son problemas de salud de gran incidencia en el mundo industrializado y se consideran entre las principales causas de mortalidad en nuestro país. Actualmente el incremento en la cantidad de personas obesas es un problema de salud de primera importancia. Se estima que para el 2010, habrá aproximadamente de 8 a 14 millones de personas mayores de 35 años que padecerán esta condición (Villa et al, 2004).

La incidencia de obesidad en la población mexicana para el 2001 fue de 1.8% en hombres y de 6.7% en mujeres entre 20 y 65 años de edad (Sánchez et al, 2001). Resulta muy interesante conocer nuevos modelos biológicos que permitan un estudio comparativo de tan importante problema de salud dentro de la población mexicana.

Biología de la especie, *Neotomodon alstoni*.

Neotomodon alstoni, comúnmente llamado el ratón de los volcanes, fue descrito por primera vez en 1898 por Merriam. Este roedor se encuentra clasificado actualmente dentro del orden Rodentia, familia Muridae y subfamilia

Sigmodontinae (Chávez, 2005; Carmona-Castro, 2006); sin embargo su clasificación taxonómica ha sido discutida ampliamente debido a las características que comparte con el género *Peromyscus* (Villalpando et al, 2000).

El ratón de los volcanes es una especie endémica de México, habita exclusivamente en el Eje Neovolcánico Transversal (Villalpando et al., 2000), se ubica entre los 18° y 22° latitud Norte con un rango altitudinal que oscila entre los 2,600 a 4,500 m sobre el nivel del mar (Luis et al, 2000). *N.alstoni*, habita al Oeste del alto Río Balsas (Río Atoyac), en los Estados de Puebla, Tlaxcala, Distrito Federal, Morelos y Michoacán (Davis y Follansbee, 1945). Su hábitat se compone principalmente por bosque mixto de pino y encino en las partes bajas; y asociaciones de pino y abeto en las partes más altas. Otro elemento importante es la presencia en su sotobosque de gramíneas amacolladas, conocidas como zacatón, este conjunto de elementos resulta en una característica primordial del hábitat de esta especie, ya que es entre el zacatón donde construye sus madrigueras.

Las características fenotípicas de *Neotomodon alstoni* constan de un pelaje con una coloración variada dependiendo de la cada zona del cuerpo, en general presenta tonos entre grises y negruzcos en la parte dorsal y coloraciones mas claras hacia la zona ventral aunque el color varía según la estación del año a café castaño opaco. En las hembras adultas el peso promedio es de adultos presentan pesos promedios en las hembras adultas tienen un peso promedio de 53.2 g y llegan a medir 21.12 cm de longitud total y

11.89 cm de longitud corporal; los machos pueden pesar en promedio 48.2 g. y llegan a medir 21.08 cm y 11.75 cm de longitud total y corporal, respectivamente (Estrada, 1978). La especie se caracteriza por sus tamaño mediano y su cola relativamente corta en comparación a miembros del género *Peromyscus* (Chávez, 2005).

N. alstoni presenta hábitos nocturnos, tiene un inicio de actividad al atardecer y termina cerca de la media noche, con un máximo entre las 8 y las 9 de la noche (Davis; Follansbee, 1945). Su dieta se basa principalmente en plantas herbáceas, también consume algunos frutos como fresas y zarzamoras, en la temporada de lluvias, granos y capulincillo a finales del año; a su dieta se pueden sumar algunos Artrópodos así como hormigas y larvas de lepidópteros. Algunas investigaciones concluyen que las diferencias observadas en los residuos estomacales de los ratones de las diferentes regiones, depende en gran medida de variaciones ecológicas y estacionales (Chávez, 2005; Álvarez et al, en 1993).

La reproducción de ésta especie se da tanto en condiciones naturales y en cautiverio, se reproduce durante todo el año, con una mayor tasa de natalidad de abril a septiembre. Los ciclos estrales tienen una duración promedio de 4.5 días y se presentan varias veces al año. El periodo de gestación varía entre 25 a 35 días y las camadas son de 3 crías en promedio. El período de lactancia es de 20 a 30 días. Algunos estudios muestran que puede tratarse de una especie monogámica en la cual los machos exhiben cuidado parental (Luis et al, 2000). La esperanza de vida en este ratón es de aproximadamente 5 años.

Neotomodon alstoni ha sido utilizado como modelo biológico en investigaciones de genética, estudios de morfometría, ecología y aspectos taxonómicos. Esta especie no se encuentra en peligro de extinción y su distribución es relativamente amplia. Existen poblaciones abundantes en áreas naturales protegidas como los parques nacionales Popo-Izta y Nevado de Toluca (Chávez, 2005).

Estudios en el laboratorio han demostrado que puede ser un nuevo animal de experimentación, ya que exhibe una extraordinaria docilidad, facilidad de adaptación a las condiciones ordinarias de laboratorio, y una fertilidad y longevidad apreciablemente más prolongadas al comparar éstas con las que manifiestan otros roedores comúnmente usados en el laboratorio (Granados y Hoth, 1989; Villapando et al, 2005; Fuentes-Granados, 2008). Por sus características en cautiverio, se ha propuesto a *N alstoni* como un modelo para el estudio de la obesidad, esteatosis hepática y síndrome metabólico, ya que en cautiverio, estos animales desarrollan un fenotipo obeso en un alto porcentaje, (Carmona-Castro, 2006). Los ratones obesos de *N alstoni*, presentan una concentración sérica elevada de triglicéridos, lipomas y esteatosis hepática, así como intolerancia a la glucosa y una hiperinsulinemia significativa durante la hiperglucemia postprandial. (Carmona-Castro, 2006). *N. alstoni* ha sido también usado como un modelo para el estudio electroencefalográfico del sueño (Ayala-Guerrero, et al 1998). Estudios preliminares mostraron que los ratones obesos que presentan, hiperleptinemia tienen también una estructura del ritmo de actividad locomotriz irregular. Asimismo, los animales obesos presentan una

estructura polifásica en los estados de vigilancia que sugieren síntomas semejantes a los que existen en la somnolencia diurna observada en humanos obesos. Estudiar las consecuencias que tiene la obesidad en distintas funciones fisiológicas reguladas circádicamente en un modelo natural como *N alstoni*, puede ser de gran utilidad en el conocimiento de esta enfermedad y las distintas aproximaciones para su tratamiento.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe una relación entre los mecanismos de regulación del reloj circadiano y el control del comportamiento de ingesta de alimento y del metabolismo. Por una parte, hay evidencias de que ratones mutantes del gen *clock*, son animales que desarrollan obesidad, (Williams y Schwartz, 2005; Turek et al, 2005). La alteración en el mecanismo molecular del reloj circadiano en adipocitos, puede potenciar la acumulación de grasa y en consecuencia conducir a la obesidad (Bray y Young, 2005; Moinihan et al, 2007; Froy 2007; Zvonic et al, 2007).

En mamíferos obesos, se observan patrones irregulares de actividad y de sueño que parecen indicar una falta de control del sistema circadiano. Diversas hormonas tales como la leptina y la grelina, que participan en los mecanismos de regulación de la ingesta de alimento, tienen un efecto significativo sobre la fase circadiana del NSQ el cual tiene una estrecha relación con los núcleos hipotalámicos que participan en las funciones que regulan la ingesta de alimento y la homeostasis energética a través del Núcleo Arcuato. Por lo anterior es posible que desórdenes alimentarios traigan consigo consecuencias que influyan sobre la regulación circadiana (Buijs et al 2006; Yanielli et al, 2007).

A partir de estas consideraciones resulta necesaria la búsqueda de modelos animales que permitan comprender mejor la relación entre el reloj circadiano y la obesidad.

V. JUSTIFICACIÓN

El reloj circadiano afecta el comportamiento y el metabolismo, mientras que éstos últimos también afectan al primero. La alimentación influye claramente el tiempo circadiano, la ingestión de nutrientes (alimento) resulta un elemento importante en el ajuste de ciertos ritmos, como el de actividad locomotriz. (Moynihan et al, 2007). Se ha observado que la colonia del Ratón de los Volcanes *Neotomodon alstoni* que existe en el Bioterio de la Facultad de Ciencias presenta alta tendencia al desarrollo de obesidad, por lo que lo hace ideal para estudiar las posibles diferencias en la estructura del ritmo de actividad y la sincronización entre organismos normales y obesos.

VI. HIPÓTESIS

Si la obesidad induce trastornos en el sistema de regulación circadiana, entonces las características del ritmo de actividad locomotriz en condiciones constantes y en condiciones de sincronización por avances y retrasos, serán significativamente distintas entre los ratones obesos y los ratones normales.

VII. OBJETIVOS

Objetivo general

Establecer las diferencias en las características del ritmo circadiano de actividad locomotriz entre animales adultos obesos y no obesos en el ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni*.

Objetivos particulares.

- Establecer diferencias y semejanzas fundamentales entre ratones no obesos y obesos en:
 - Periodo y significancia del ritmo en libre curso en OO,
 - Transitorios a un avance y a un retraso de fotoperiodo de 6 h, relación de fase con el zeitgeber después de los avances y los retrasos y periodo en libre curso. Además se considera el promedio de actividad en fase estable, acrofase y cociente del promedio de actividad en L/O

VIII. MÉTODO.

Obtención y cuidado de los animales.

Se utilizaron 27 animales, de los cuales fueron 7 hembras no obesas (control), 8 hembras obesas (OB), 8 machos no obesos (control) y 4 machos obesos (OB).

Las hembras OB fueron animales nacidos en del Bioterio de la Facultad de Ciencias (BFC), mantenidas en jaulas individuales alimentados con nutricubos (Rodent Lab Chao) *ad libitum* y solución de sacarosa al 30%.

Las hembras y los machos control fueron animales capturados en campo en colectas realizadas entre los kilómetros 40 45 de la carretera federal a Cuernavaca Mor. cerca al poblado de Parres ubicada al sur de la ciudad de México. Para la colecta se utilizaron trampas Sherman para roedores pequeños y hojuelas de avena como cebo, las trampas fueron colocadas por la tarde y recogidas a la mañana siguiente. Los animales colectados fueron llevados de inmediato al BFC donde fueron desparasitados, sexados y mantenidos en aclimatación bajo las condiciones del BFC con temperatura entre 18-22°C y ciclo L/O 12:12. Los machos obesos fueron obtenidos de las colectas en campo y durante el periodo de aclimatación de meses recibieron alimento *ad libitum* y una solución de sacarosa al 30%.

Selección de animales y mantenimiento durante el registro de actividad.

La selección de los sujetos experimentales para el proyecto fue con base al peso, las hembras control, con un peso inicial entre 46-52g y los machos control con un peso inicial entre 45-49g; las hembras OB con un peso inicial mayor a los 67g y los machos OB con un peso mayor a los 60g, este parámetro fue tomado con respecto a los pesos promedios que presenta esta especie en vida silvestre.

Durante el registro de actividad locomotriz cada individuo fue mantenido en una caja individual, las hembras OB se mantuvieron en acuarios de vidrio de 30cm x 18cm x 20cm con base de maya, mientras que el registro para los machos y hembras control se mantuvieron en cajas de acrílico de las siguientes dimensiones en la base inferior 28cm x 18.5cm en la base superior 23.5cm x 33.5cm con altura de 15.5cm, cada caja contó con una cama de viruta de madera de un espesor aproximado a un centímetro (Fig 3).

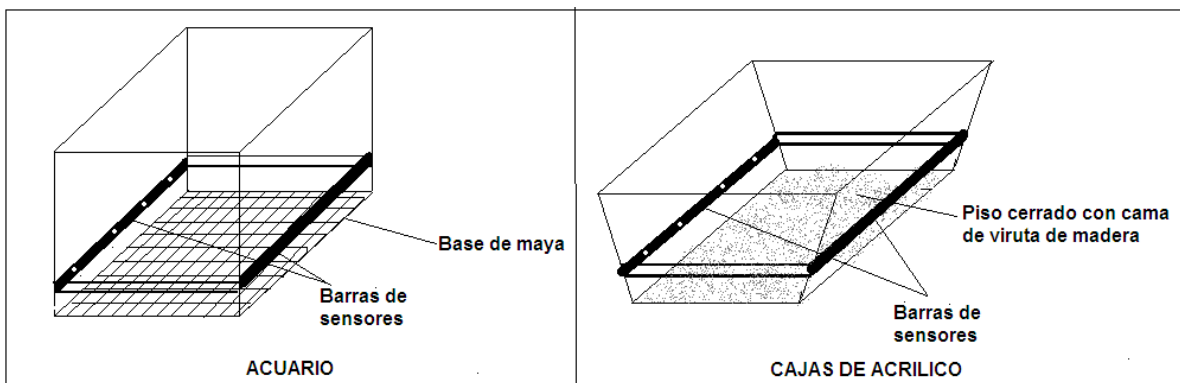


Figura 3. Se muestran los dos tipos de cajas donde se llevaron a cabo los registros de actividad. Las barras oscuras indican la posición de la fila de sensores infrarrojos.

Los animales control recibieron alimento (nutricubos) controlado a 8g por día y agua natural *ad libitum*, el mantenimiento de aseo, recambio de agua y alimento se realizaba una vez cada semana cuando menos tratando de interrumpir lo menos posible el registro.

Los animales obesos recibieron alimento y solución de sacarosa al 30% *ad libitum*. Esta solución se recambiaba cada 3er día para evitar que los organismos consumieran agua fermentada, el mantenimiento de aseo y recambio de alimento se realizaba una vez cada semana para interrumpir lo menos posible el registro.

Registro de actividad.

Se utilizaron 2 gavetas de madera de 140 x 85 x 40 cada una cuenta con 4 divisiones las cuales mantienen condiciones de iluminación y extracción de aire independiente como se muestra en la Figura 4. Se colocaron dos animales de manera individual cada uno en su respectivo acuario o caja de acrílico equipado con un sistema de sensores infrarrojos que consta de un par de barras que se colocan de manera paralela en los costados de las cajas o acuarios y que envían una señal cada ocasión que el animal interrumpe, debido a su desplazamiento en piso, esta señal es recogida y capturada por una computadora de escritorio que guarda estas señales cada 10 min. El sistema de registro fue diseñado en el laboratorio y desarrollado por el ing., Fernando Salinas de la URIDES, Facultad de Psicología, la captura de datos y control del

sistema de registro fue hecho mediante el programa ACTIBIO, también diseñado en la Facultad de Psicología para fines específicos de este tipo de registro.

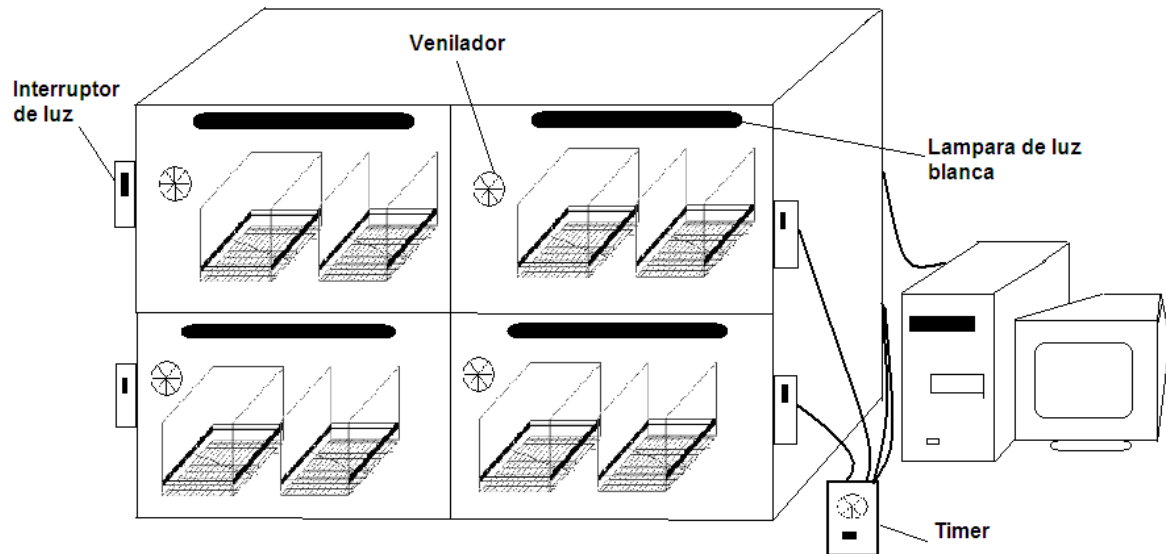


Fig. 4 Sistema de registro y gabinete donde se contuvieron de manera independiente cada uno de los organismos usados en este trabajo. Se muestra que el contenedor principal, tiene cuatro cámaras con capacidad de dos cajas de registro cada una. Cada gabinete cuenta con iluminación y ventilación independientes.

Protocolo Experimental.

La Figura 5 muestra un diagrama de flujo básico para este protocolo. El registro consta de 3 cambios, 2 de cambio de horario dando lugar al avance y al retraso y el tercero para mantener a los animales en oscuridad constante, los animales son pesados y mantenidos en un fotoperiodo L/O 12:12 durante 15 días aproximadamente, posteriormente se realiza un avance de fase de 6 horas manteniendo el fotoperiodo L/O 12:12. El día que se programa el cambio los animales son pesados por segunda ocasión, este horario se mantiene durante 15 días más, luego se hace un nuevo ajuste ahora en sentido de retraso por seis horas, se pesa por tercera ocasión a los animales y se mantienen en este

fotoperiodo L/O 12:12 por 15 días más. Una vez finalizado este último periodo, los animales son pesados por cuarta y última ocasión y se mantienen en condiciones de oscuridad constante (con luz roja tenue de aproximadamente 2 lx, (la cual que no modifica el periodo del ritmo endógeno de los animales debido a su baja intensidad). por un periodo de 15 días. Los tiempos utilizados en cada cambio son aproximados debido a que se ajustan de acuerdo con lo observado mediante los datos que arroja el registro en curso.

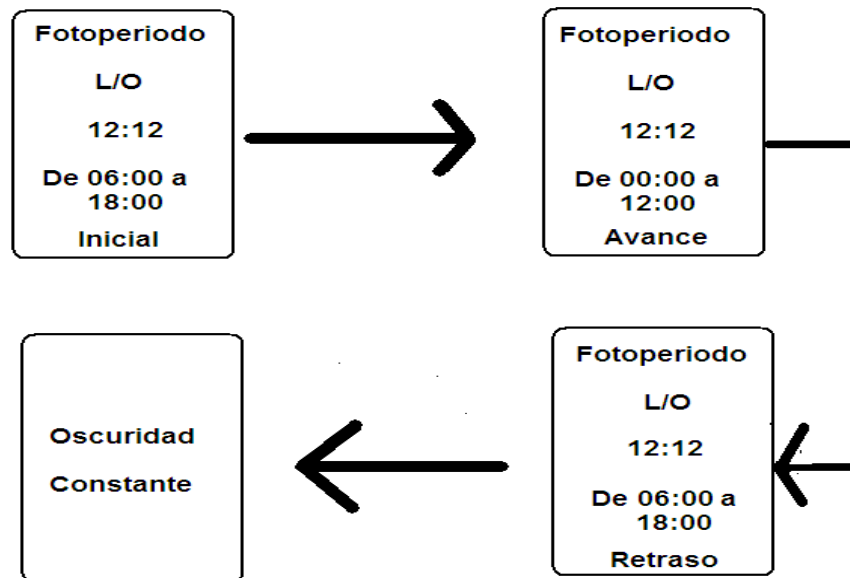


Fig. 5 Diagrama del protocolo experimental.

Análisis de datos

Los datos colectados durante todo el registro, fueron procesados por el programa DISPAC (IFC UNAM) y ACTIVIEW (Minimitter, CA, USA) mediante los cuales se obtuvieron actogramas dobles (de esta forma se facilita el análisis visual de los datos) para llevar el monitoreo y el control de la sincronización de los animales.

Se obtuvieron además, periodogramas y curvas de actividad promedio para cada individuo en cada uno de los cambios de horarios durante el experimento en base a esto se realizaron los cálculos de las siguientes variables: promedio de actividad total, promedio de actividad en la escotofase y fotofase, el valor de la acrofase, y el valor del periodo.

La relación de fase y el número de transitorios se calculó visualmente, a partir de los actogramas y periodogramas impresos. Para ello se utilizó tanto el inicio como el fin de actividad, con el fin de evitar los efectos positivo y negativo de enmascaramiento sobre la conducta locomotriz.

La matriz de datos se elaboró con el programa Excel y las pruebas estadísticas se realizaron con el programa Statistica, se aplicaron pruebas de significancia de T para variables independientes.

IX. RESULTADOS.

Registro crónico de actividad locomotriz en piso y respuesta al fotoperiodo.

En la figura 6 se muestra un Actograma de doble gráfica que muestra la estructura del ritmo de actividad locomotriz que es característica de los machos control. Se puede notar la respuesta que este grupo tuvo tanto al avance como al retraso de fase, así mismo las características del ritmo en libre curso. A la derecha del actograma se encuentra la curva de actividad promedio en fase estable para cada uno de los segmentos (inicial, avance, retraso y oscuridad). Los animales fueron sometidos a un fotoperiodo 12:12, el cual se mantuvo tanto en el avance como en el retraso, la figura 6A muestra en los primeros días como la sincronización a este fotoperiodo se da con facilidad. La actividad es principalmente nocturna aunque se observa que existe actividad dispersa en la fase diurna. Cuando se realiza el avance de fotoperiodo, el animal modifica tanto la amplitud y duración de lo que podemos reconocer como α y es claro como la duración de alfa disminuye considerablemente durante los primeros días transitorios y conforme va alcanzando la sincronización la duración de alfa se restablece; durante el retraso no ocurre el acortamiento de alfa además de que si observamos el Actograma para el inicio de actividad no hay días transitorios de ajuste, sin embargo es posible observarlos en el fin de la actividad; este grupo de animales les toma más tiempo la sincronización por avances que por

retrasos. El ritmo en libre curso se observa con un periodo promedio de 23.6 ± 0.14 h.

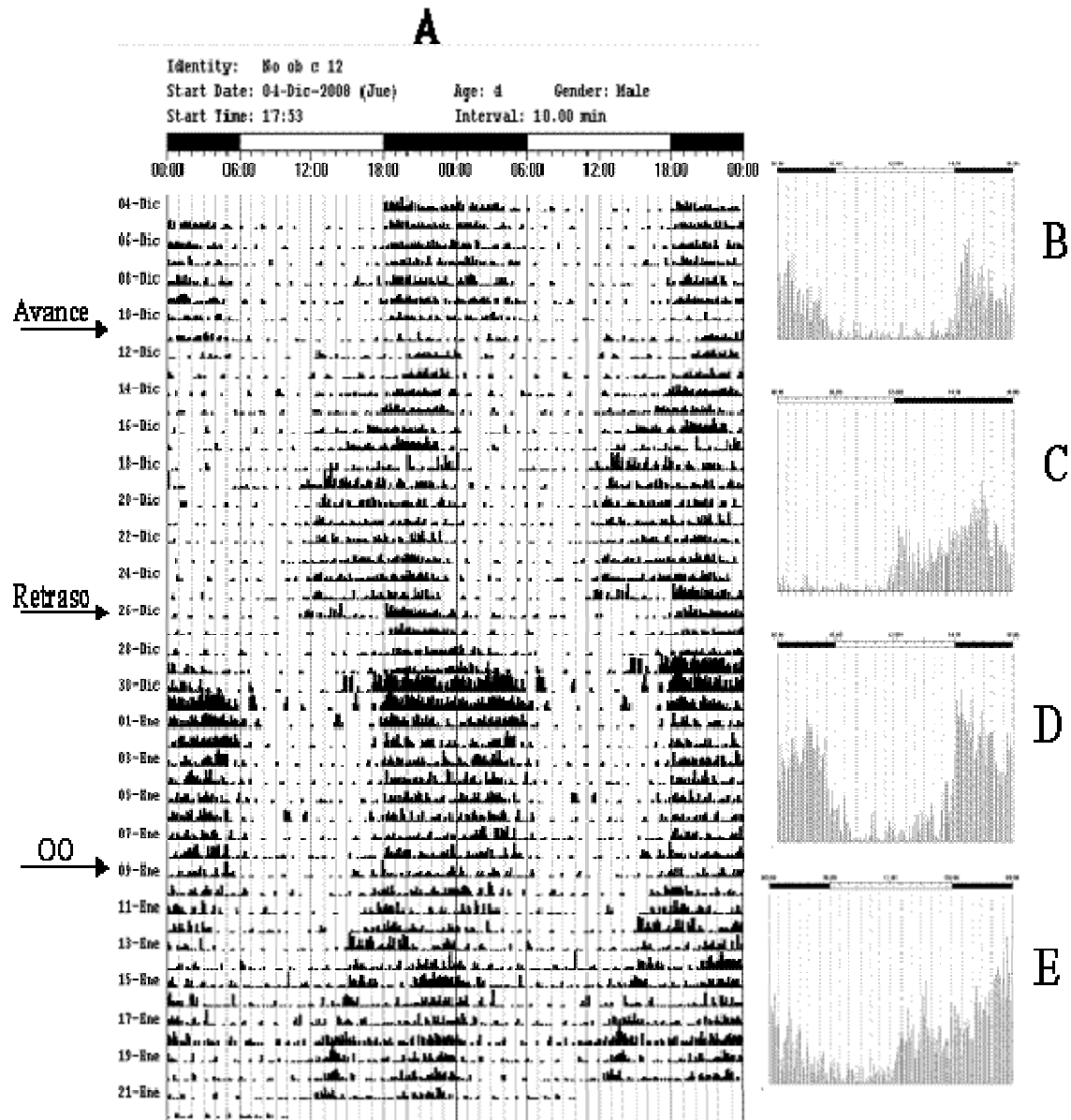


Figura 6. Se muestra en A un Actograma de doble gráfica que representa la actividad locomotriz en piso promedio de un grupo de ratón de los volcanes **machos** que sirvió como **control** experimental. La barra superior indica las fases de luz(sección blanca) y oscuridad (sección oscura) en el horario inicial del protocolo , los números a la izquierda señalan los días de duración del registro y las flechas indican la fecha en la que se realizaron los cambios de horario durante el protocolo. A la derecha B, C, D y E son las respectivas curvas de actividad promedio correspondientes a cada cambio durante el protocolo. la actividad principal se da en la fase oscura y es claro como se da un acortamiento en la duración de α en los día de transición al ajuste del avance.

En la figura 7 se observa la actividad correspondiente a un macho OB representativo de este grupo, se puede ver como la mayor actividad se da en la escotofase durante todo el protocolo, sin embargo se debe resaltar que la actividad en este grupo se encuentra notablemente dispersa, no obstante la mayor parte de la actividad se encuentra en la escotofase, además de que se presentan segmentos cortos de actividad muy intensa durante α . Se pueden observar 10 días de transición de inicio de actividad para ajustar al avance y solo 6 para ajustar a el retraso, a este grupo el ajuste al avance tomó más días de transición. Durante la fase de libre curso muestra un ritmo muy marcado donde presenta un periodo promedio de $24.13 \pm 0.06h$; sin embargo la actividad que se observa durante todo el ciclo es constante.

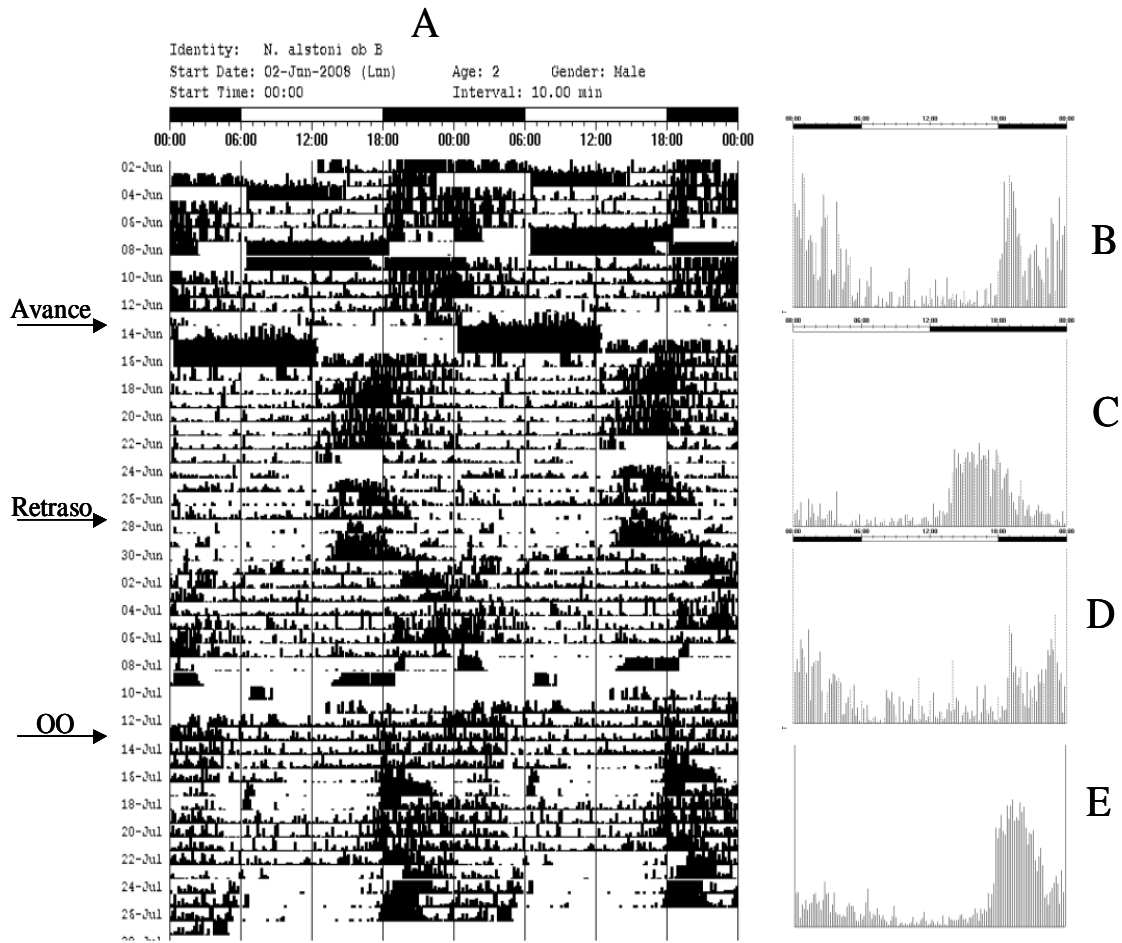


Figura 7. Se muestra en A un Actograma de doble gráfica que representa la actividad locomotriz en piso promedio de un grupo de ratón de los volcanes **macho OB**. La barra superior indica las fases de luz(sección blanca) y oscuridad (sección oscura) en el horario inicial del protocolo los números a la izquierda señalan los días de duración del registro y las flechas indican la fecha en la que se realizaron los cambios de horario durante el protocolo. A la derecha B, C, D y E son las respectivas curvas de actividad promedio correspondientes a cada cambio durante el protocolo.

En la figura 8 se observa un actograma que corresponde a una hembra control que muestra el promedio de este grupo, es posible observar que el animal se sincronizó rápidamente al fotoperiodo establecido, sin embargo, durante cada cambio es posible observar como se da una disminución en la duración de alfa el los días de transición y en cuanto sincroniza restablece su duración. Si observamos tanto el actograma como las curvas promedio correspondientes podemos observar como la actividad se encuentra principalmente en la escotofase y aunque es posible observar actividad en la fotofase esta es mínima. Es posible observar también como a este grupo de animales les toma mas tiempo la sincronización por avances que por retrasos.

La actividad durante el libre curso, en este caso se observa un ejemplo de cómo las hembras control mostraron periodos en promedio de $23.95 \pm 0.13h$.

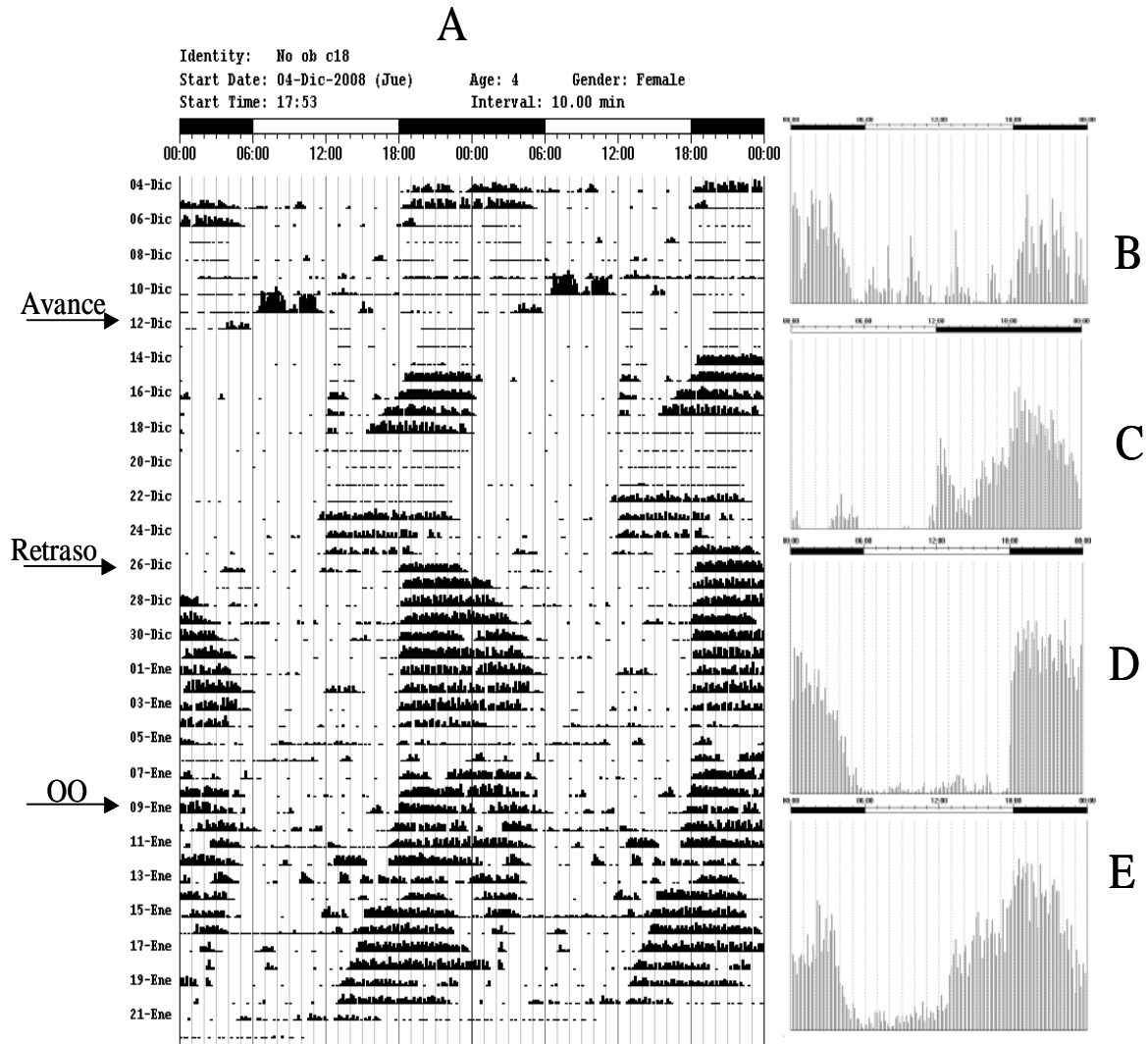


Figura 8. Se muestra en A un actograma de doble gráfica que representa la actividad locomotriz de un ratón hembra control. La barra blanca superior indica las fases de luz y oscuridad (sección oscura) en el protocolo inicial, los números a la izquierda señalan los días de duración del registro y las flechas indican la fecha en la que se realizaron los cambios de horario durante el protocolo. A la derecha B, C, D y E son las respectivas curvas de actividad promedio correspondientes a la fase estable después de cada cambio del protocolo. Claramente se nota como la duración de α disminuye en la fase de transición de ajuste al avance.

En las figuras 9 y 10 se da una muestra de la variabilidad que se pudo observar en las hembras OB, la figura 9A y las curvas promedio (9B, 9C, 9D y 9E) muestran lo complicado que es identificar una fase de mayor actividad o inclusive de inicio, es posible notar que hay un ligero aumento de actividad hacia

el final de la fotofase e inicio de la escotofase; sin embargo, no es tan marcado como en los otros grupos, se pueden reconocer también las fases estables y como le cuesta trabajo sincronizar tanto por avances como por retrasos; durante la fase de libre curso es muy notorio como la actividad disminuye de manera considerable y el periodo que muestra este organismos es en promedio de $25.33 \pm 0.9h$.

En la figura 10 se observa otro caso de hembra OB es posible observar en el Actograma como en las curvas promedio que hay actividad considerable tanto en luz como en oscuridad, sin embargo se observa un ritmo muy limpio que muestra un organismo nocturno completamente, durante la primera fase del protocolo es posible observar como la mayor actividad tiende hacia el inicio de la escotofase encontrando no solo en esta fase sino durante todo el protocolo un periodo de actividad muy intenso en esta zona. Se puede observar también como a este organismo le cuesta menos trabajo sincronizar por retrasos que por avances.

Durante la fase de libre curso se puede observar un ritmo muy limpio ligeramente mayor a 24 horas, sin embargo, es notorio como la actividad total disminuye durante esta última fase para ambos casos presentados.

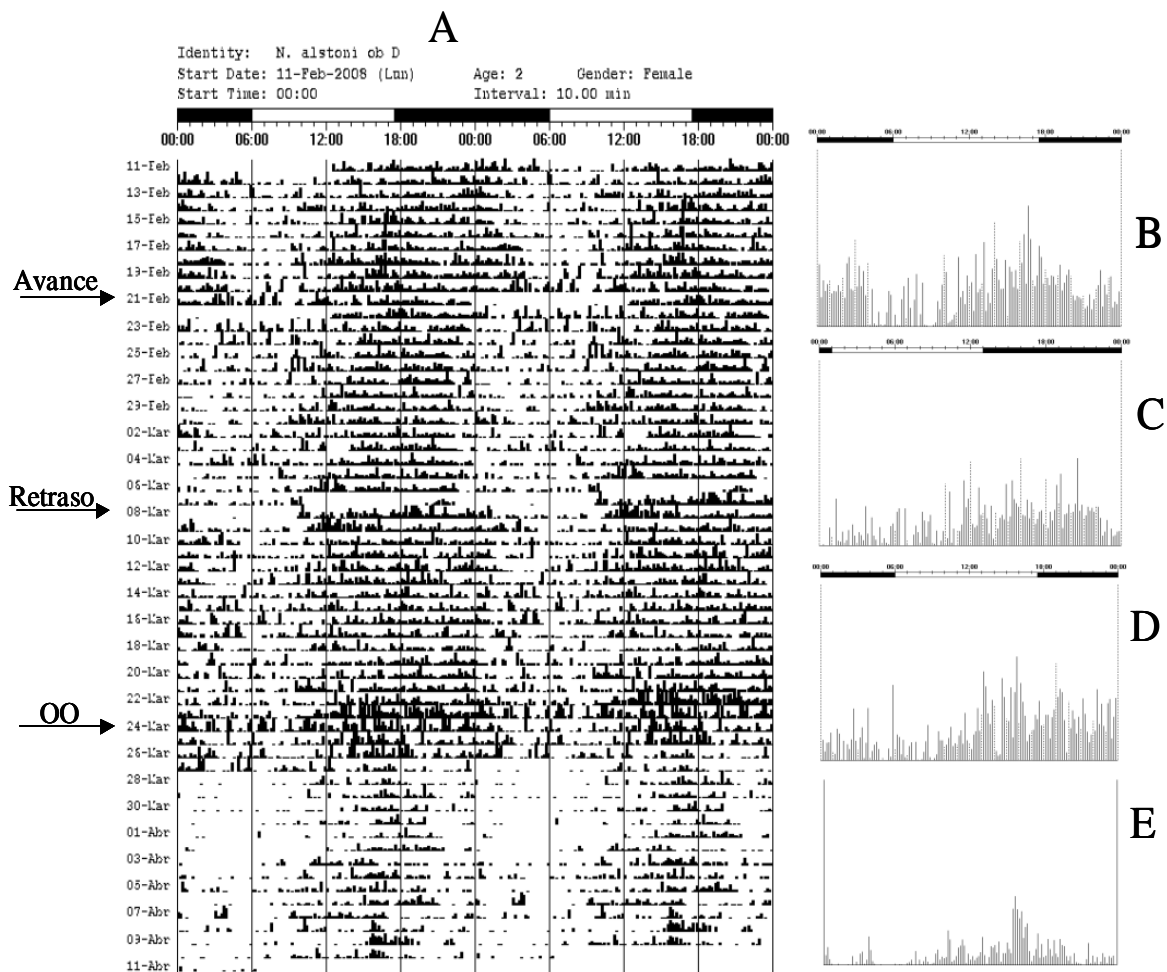


Figura 9. Se muestra en A un actograma de ratón **hembra OB**. La barra superior indica las el ciclo LO inicial del protocolo , los números a la izquierda señalan los días de duración del registro y las flechas indican la fecha en la que se realizaron los cambios de horario durante el protocolo. A la derecha B, C, D y E son las respectivas curvas de actividad promedio en fase estable. Nótese como la actividad se encentra repartida a lo largo de todo el ciclo y el ritmo es poco claro.

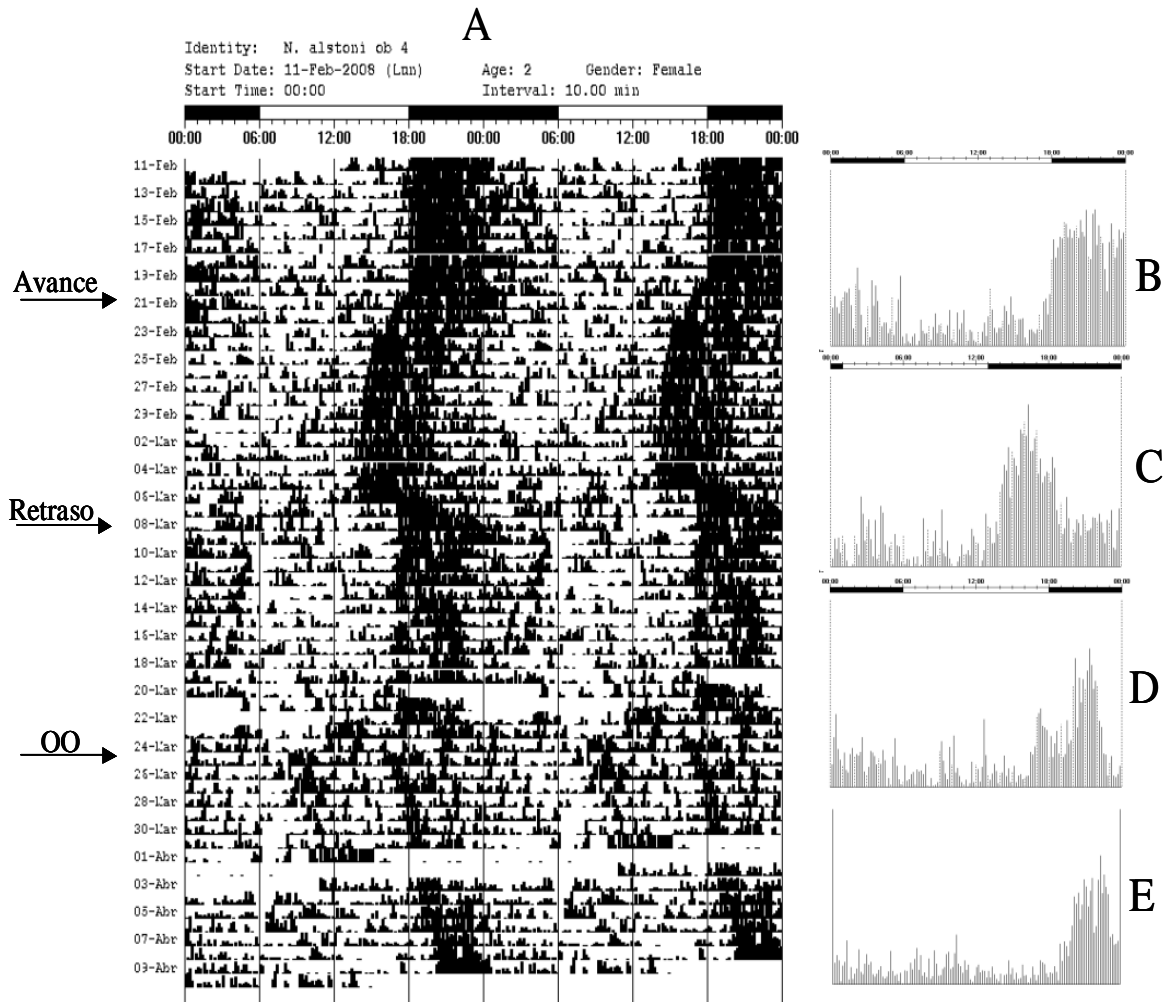


Figura 10. Se muestra en A un actograma de un ratón **hembras OB**. A la derecha B, C, D y E son las respectivas curvas de actividad promedio correspondientes a cada cambio durante el protocolo. En comparación con Fig 9. la fase principal de actividad es mucho mas clara sin embargo es muy notorio como hay actividad durante todo el ciclo.

Relaciones de actividad

En la figura 11 se presentan tres gráficas donde se muestra en cada una un comparativo de la actividad locomotriz (bins por 10 minutos) para cada una de las condiciones experimentales en cada fase del protocolo. En la gráfica se compara la actividad promedio durante la fase diurna o nocturna según el fotoperiodo. Los datos son tomados de al menos cinco días del ritmo en fase estable con el ciclo LO.

Se observa como los machos control mantienen la mayor parte de la actividad en la escotofase no así para los machos obesos que durante la primera parte del protocolo la mayor actividad se encuentra en la fotofase. Después de tanto el avance como el retraso, la actividad total se reparte en ambas fases quedando ligeramente mayor para la oscuridad. Para el caso de las hembras control, el patrón de actividad es similar a los machos control que presentan mayor actividad durante la escotofase y mantienen ésta tendencia durante todo el protocolo, para las hembras OB es posible observar como la actividad está ligeramente cargada hacia la escotofase sin embargo se nota una marcada reducción de la actividad total conforme avanza el protocolo además de que tiende a repartir la actividad en ambas fases.

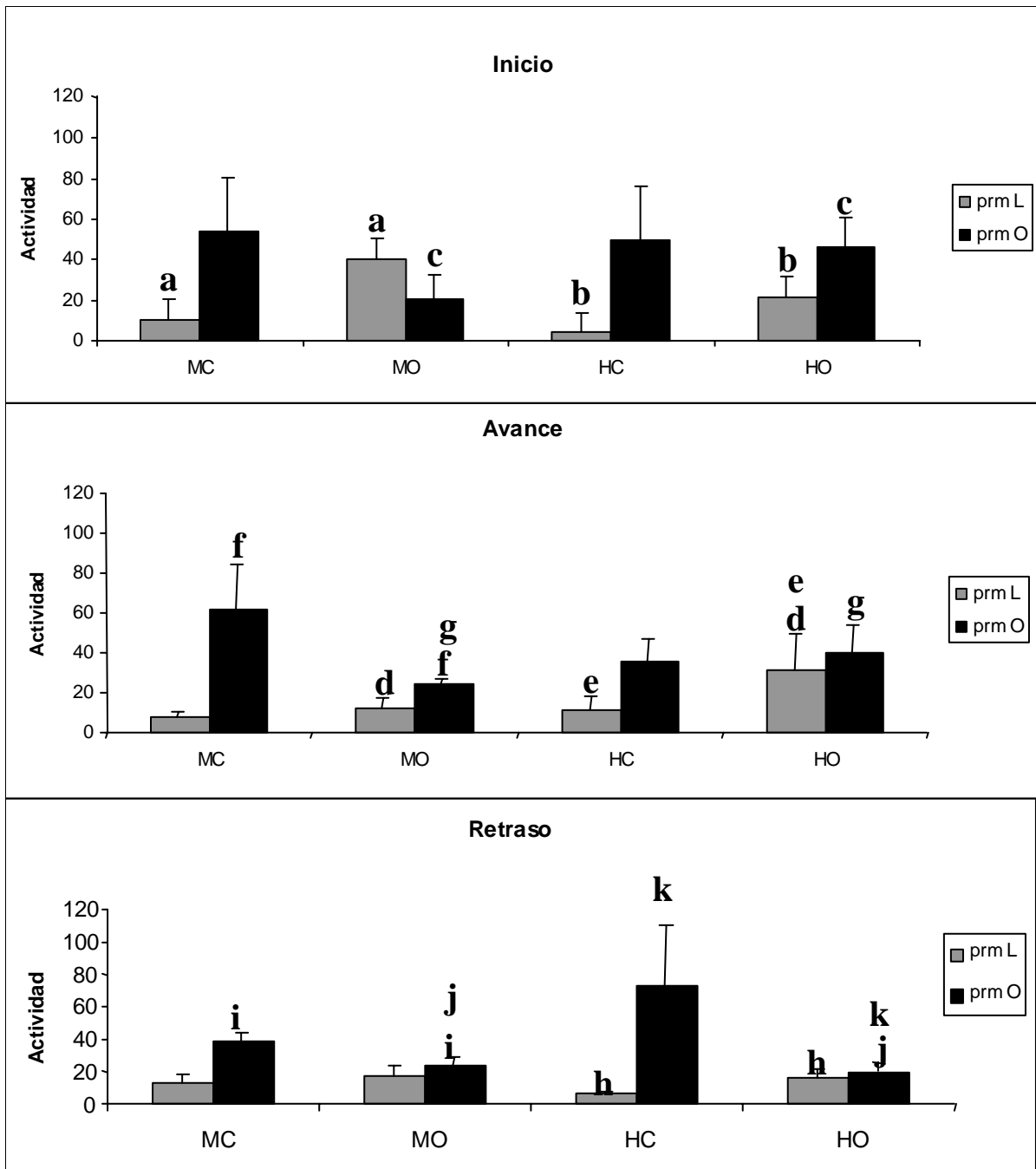


Fig. 11 Promedio de actividad en Luz y en Oscuridad para cada una de las condiciones en los distintos cambios del protocolo experimental. Las letras minúsculas colocadas sobre las barras indican que son significativamente diferentes, con una $P= 0.05$. MC= machos control, MO= machos OB, HC= hembras control, HO= hembras OB. prm L= promedio de actividad en luz. prmO= promedio de actividad en oscuridad.

En la figura 12. El análisis de la actividad promedio total entre machos controles y machos OB, indica que los machos controles presentan actividad mayor a los machos OB, existen diferencias significativas entre la actividad promedio de la fase de avance.

En las hembras no es posible distinguir diferencias tan marcadas, las hembras control presentan menor actividad durante la fase inicial y el avance sin embargo es notable como la actividad va aumentando después de cada cambio y para la fase de retraso y libre curso la actividad aumenta considerable mente existiendo diferencias significativas entre el control y los obesos.

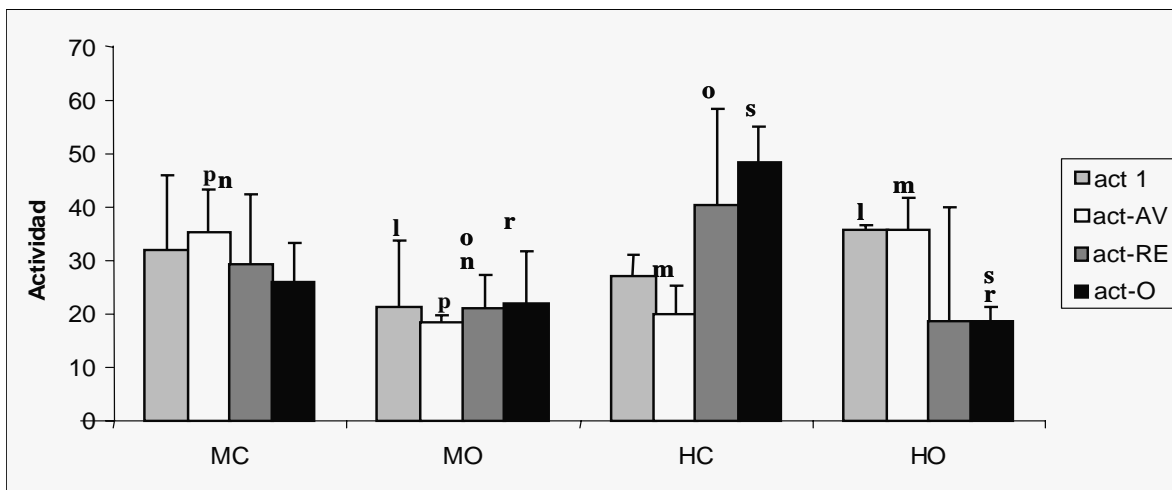


Figura 12 Promedio de actividad total en cada uno de los cambios del protocolo \pm el error estándar, Las diferencias significativas están marcadas con letras minúsculas colocadas sobre las barras, con una $p = 0.05$. MC=machos control, MO= machos OB, HC= hembras control, HO= hembras OB. Act 1=actividad en fase inicial, act-AV= actividad en fase del avance, act-RE= actividad en fase del retraso, act-O= actividad en oscuridad constante.

En la figura 13 se muestra el valor del periodo en libre curso OO para cada una de las condiciones experimentales. Los machos controles presentan periodos con valor menor a 24h mientras que los machos OB presentan

periodos con valor mayor a 24h, encontrando diferencias significativas entre estos grupos. En el caso de las hembras control también los valores son cercanos a 24h, sin embargo, las hembras OB presentan periodos largos 25.43 ± 0.7 . Además de que la variabilidad que existe en este grupo en cuanto a periodo es mayor que en los otros grupos. Para los valores de periodo obtenidos mediante Dispac en machos OB el 66% del ritmo en libre curso fue significativo, mientras que en todos los controles (100%) fue significativo. En las hembras OB 37% fue significativo y las hembras control 66% fue significativo.

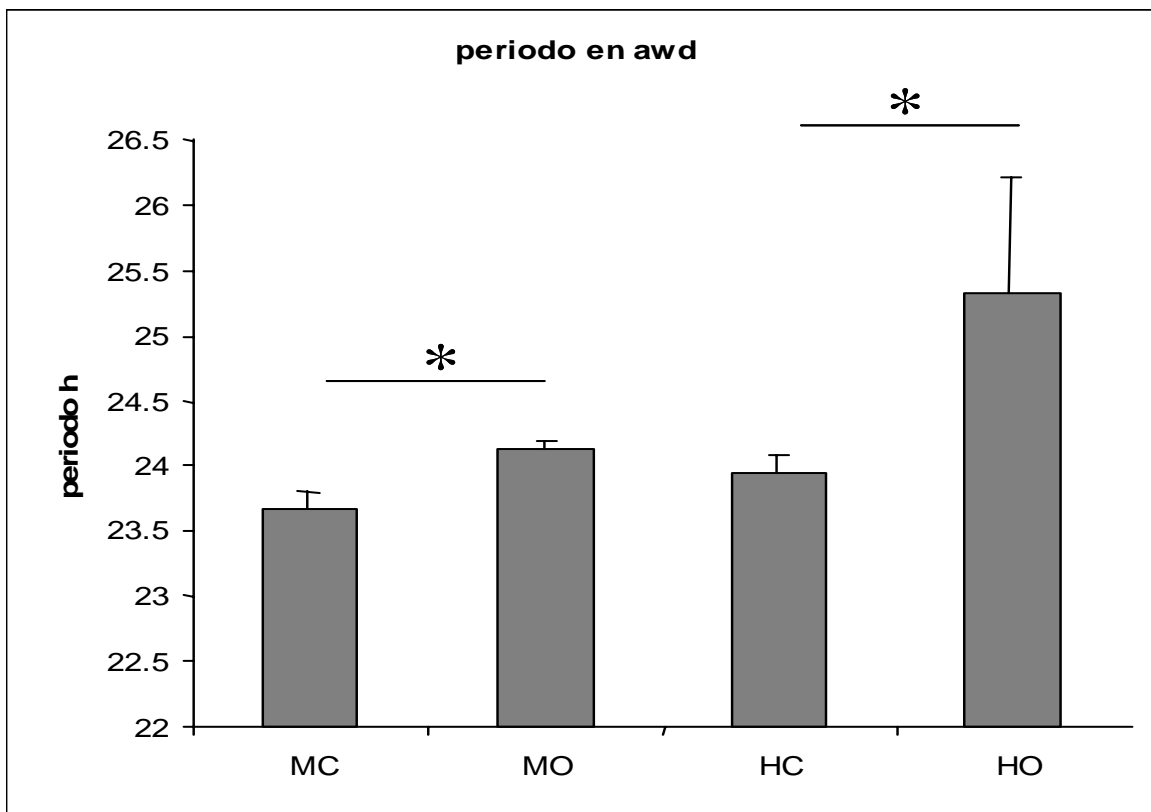


Figura 13. Valor del periodo en libre curso $OO \pm$ el error estándar representado por el asterisco sobre la barra horizontal MO/MN con una $p = 0.05$. MC=machos control, MO= machos OB, HC= hembras control, HO= hembras OB

En la figura 14 se presenta una comparación del promedio de actividad total durante el ritmo en libre curso entre cada grupo de animales, es posible observar como ambos controles presentan mayor actividad que los animales en condición de obesidad, se encuentran diferencias significativas entre la actividad de las hembras control con respecto a las obesas

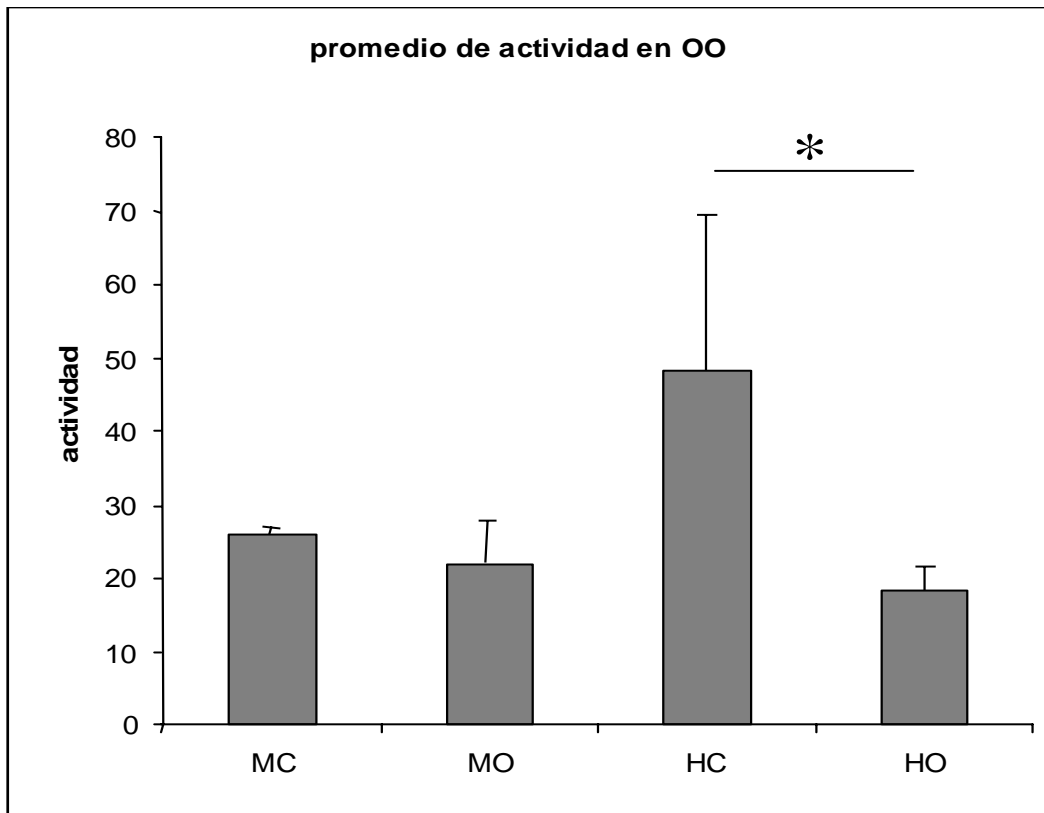


Fig. 14 Valor del Promedio de actividad en libre curso OO \pm el error estándar representado por el asterisco sobre la barra horizontal HO/HN con valor de $p = 0.05$. MC=machos control, MO=machos OB, HC= hembras control, HO= hembras OB

Comparación de la respuesta de ajuste ante el avance y el retraso de fase

En la figura 15 se puede observar el número de ciclos transitorios al avance de 6 h y al retraso de 6h después de sincronización estable.

En general a las hembras controles les tomó mas tiempo ajustarse al cambio por medio de avances que retrasos, sin embargo el numero de días transitorios fue menor en las hembras control para ajustarse al retrasos mientras que las hembras OB presentan en general mas facilidad para ajustar por avances ya que durante el ajuste al retraso la variación de días de transición fue muy grande.

En los machos en ambos grupos el número de transitorios para ajustar al avance fue mayor que el ajuste al retraso, existen diferencias significativas que muestran que los machos OB tardan más para lograr la sincronización.

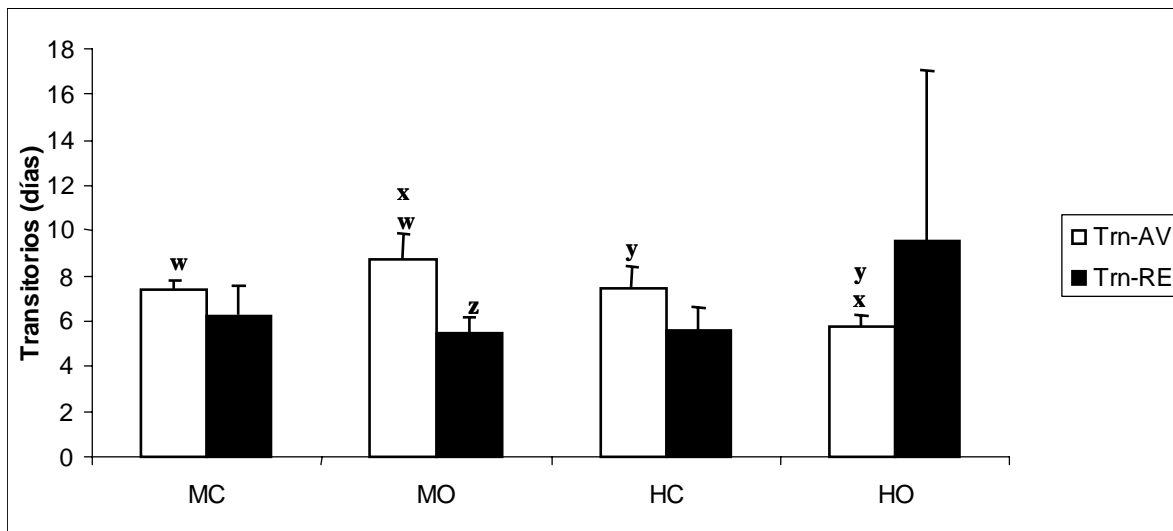


Figura 15. Número de transitorios para el ajuste por avance y retrasos \pm el error estándar. Las diferencias significativas están marcadas con letras minúsculas colocadas sobre las barras, con una $p = 0.05$. MC=machos control, MO= machos OB, HC= hembras control, HO= hembras OB

X. DISCUSIÓN.

La condición de obesidad representa una serie de cambios en distintos niveles de organización, podemos hablar de cambios fisiológicos tales como variaciones a niveles hormonales que aunadas a condiciones ambientales como la disponibilidad del alimento que se consume, la cantidad y tipo de actividad que se realiza podrían mostrar diferencias conductuales importantes que ayuden al estudio de la obesidad como una patología y cómo esta modifica o afecta las características del ritmo de actividad locomotriz.

Durante el presente trabajo, se realizaron registros de actividad locomotriz del ratón de los volcanes. Los registros obtenidos corresponden a actividad locomotriz libre, es importante mencionar que se evitó el uso de la rueda debido a que su uso provocaría una disminución en el peso de los animales obesos y se homogenizó el registro tanto para los grupos control como para los obesos.

En trabajos anteriores en que se analizaron registros de actividad locomotriz en *N. alstoni*, se observó que los registros con rueda de actividad muestran un ritmo circadiano conspicuo y muestran, con claridad las, fases del inicio y términos actividad (α) y la fase de reposo (ρ), (Samario Román, 2008). Mientras que en registros de actividad sin rueda es posible observar brotes dispersos de actividad en la que correspondería a la fase de reposo, este dato resulta de gran utilidad ya que es posible notar algunas diferencias en distintos fotoperiodos (Fuentes-Granados, 2008).

Debido a que en las condiciones de registro usadas resulta difícil determinar el inicio y término exacto de actividad, los parámetros de α y ρ no se

cuantificaron, sin embargo, se utilizaron los valores de promedio de actividad locomotriz en fotofase y escotofase, así como el promedio total de actividad total.

Los actogramas obtenidos muestran diferencias importantes entre organismos del grupo OB y los del grupo control. El grupo control muestra en general una mayor facilidad para ajustarse al fotoperiodo tanto para avances como para retrasos del ciclo, mientras que a los OB les toma de inicio más tiempo el ajuste. Esta diferencia da lugar a la interpretación que la condición de sobrepeso que tiene el grupo OB podría influir sobre la capacidad de sincronización que sucede en otras especies de ratones en los que se ha demostrado que la obesidad debido a una dieta rica en grasas, afecta la capacidad de sincronización (Mendoza et al, 2008).

Las figuras 7 y 9, En que se muestran actogramas representativos de los grupos de machos y hembras control respectivamente. En estos es posible ver como al ajuste de avance, los animales muestran una tendencia de acortar la duración de la fase activa durante los días de transición restableciéndola cuando han alcanzado la sincronización.

Cuando comparamos el grupo de machos control contra el grupo de machos OB, se observan diferencias tanto en los actogramas como en las curvas de actividad promedio. Particularmente la mayor actividad se concentra durante la escotofase encontrando alguna actividad dispersa durante la fotofase; sin embargo, para los machos OB se parece repartir esta actividad durante ambas.

Es poco frecuente capturar animales obesos en campo, el desarrollo de obesidad en esta especie parece ser un factor desarrollado por las condiciones en cautiverio (Carmona, 2006), los ratones obesos en vida libre estarían comprometidos en cuanto a la eficiencia para obtener alimento, debido a la competencia con animales que presentan mayor actividad; sin embargo la variabilidad en la cantidad de actividad que muestran en la fase diurna disminuiría la competencia ya que ocupan un nicho temporal distinto al de organismos normales, aunque los dejaría expuestos a depredadores diurnos. La obesidad entonces representa una desventaja para los organismos que la desarrollan, en cuanto a sus interacciones ecológicas.

El caso de las hembras control es semejante con respecto a los machos control, sin embargo, el caso de las hembras OB es un caso particular con respecto a los otros grupos ya que este presenta una gran variación con respecto a los resultados obtenidos, las figuras 9 y 10 son muestra de ello, en este grupo encontramos organismos que se mantuvieron con un ritmo completamente dividido mostrando actividad importante durante todo el ciclo mientras que otros mostraron ritmos muy limpios con una actividad principal hacia el final de la fotofase e inicio de la escotofase.

En cuanto los transitorios de ajuste al avance y al retraso los machos presentan mayor facilidad al ajuste por retrasos que por avances, sin embargo, los machos OB presentan de manera significativa más dificultad al ajuste por avances y el ajuste más fácil por retrasos, en cuanto a las hembras control estas muestran mayor facilidad al ajuste por avance que por retrasos, para las

hembras OB se da una situación particular ajustan más rápido por avances en comparación con el control de manera significativa, sin embargo, en el ajuste por retraso la variación es tal que no es posible establecer una tendencia, ya que hay organismos que lo hacen en un par de días, mientras que otros no alcanzan a sincronizar durante toda la fase, las hembras OB en comparación con los machos OB ajustan significativamente más rápido por avances. A la fecha, no hay suficientes evidencias que indiquen el por qué de esta diferencia de género, sin embargo, se sabe que el ciclo estral puede influir tanto en la estructura del sueño como en la del ritmo de actividad (Basterfield et al, 2009).

Algunas teorías postulan que para la medición del fotoperiodo, en los roedores nocturnos existen dos osciladores circadianos separados, pero mutuamente acoplados, que generan los ritmos conductuales: un oscilador de tarde vinculado con el inicio de la actividad y que se sincroniza con el atardecer, y un oscilador de mañana relacionado con el término de la actividad y que sincroniza con el amanecer (Pittendrigh y Daan, 1976). La relación de fase entre estos osciladores codifica la longitud del día y cambia la banda de actividad (Inagaki, et al, 2007). El ratón de los volcanes es un roedor nocturno con lo cual esperaríamos entonces, que tuviera un comportamiento de acuerdo a estas suposiciones de tal forma que los transitorios que se observan en los actogramas podrían ser resultado del reajuste de fases entre estos dos osciladores. Los ciclos transitorios a un ajuste de fotoperiodo también representan la forma en que el NSQ, son capaces de corregir la fase de los osciladores periféricos (Yamazaki et al, 2000). Al grupo de alteraciones que se

producen en este ajuste interno de fases se le conoce como Jet Lag (Waterhouse J. *et al* 2004)

Respecto a los valores del periodo del ritmo en libre curso, es importante mencionar que los organismos control presentaron periodos menores a 24h mientras que los organismos OB presentan periodos mayores a 24h (24.8 ± 0.63 h), con diferencias significativas, las hembras OB fueron las que presentan los periodos de ritmo más largos (25.43 ± 0.7 h). Lo anterior parece estar relacionado con la deficiencia en el ajuste a los avances o retrasos de horario, aunque se esperaría que por los valores de periodo, los retrasos en el fotoperiodo fueran favorecidos por periodos endógenos largos.

El presente trabajo arroja datos sobre las diferencias entre las respuestas conductuales en los ajustes a cambios de fotoperiodo y estructura en el ritmo de actividad entre ratones machos y hembras así como entre las condiciones de obesidad y peso normal. Es importante resaltar que los datos obtenidos en este trabajo reflejan la importancia de la especie para estudios sobre las consecuencias fisiológicas de la obesidad sobre los ritmos circadianos.

XI. CONCLUSIONES

- I. En el ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni* la condición de obesidad afecta la capacidad de sincronización de estos animales, el género influye de manera importante viéndose más afectadas las hembras.
- II. La actividad que presenta el ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni* se observa de manera concentrada en la escotofase presentando un comportamiento nocturno, mientras que los animales obesos no concentran su actividad en la fase oscura repartiendo su actividad total durante todo el ciclo y concentrando la mayor actividad durante el final de la fase luminosa y principio de la fase oscura.
- III. Los animales OB machos y hembras presentan una disminución total de actividad y presentan periodos mayores a 24h.
- IV. Los animales no OB reducen la duración de α en los días transitorios para ajustar por avance.
- V. Los machos no OB, machos OB y hembras no-OB presentan la característica de ajustar mas rápido al retraso que al avance, mientras que las hembras OB presentan gran dificultad al ajuste al retraso y mayor facilidad de ajuste del avance en comparación con las hembras no OB y machos OB.
- VI. El ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni* es un buen modelo para el estudio de la obesidad desde el plano de los ritmos circadianos.

XII. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, T. Y Mayo-Aceves, E. 1993. Contribución al conocimiento de los hábitos alimenticios del ratón de los volcanes, *Neotomodon alstoni alstoni*. Acta Zool. Mex. 59: 1-51.
- Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Nijima A, Fujino MA, Kasuga M. 2001. Ghrelin is an appetitestimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. Gastroenterology 120:337–45
- Asher, G. Schibler, U. 2006. A CLOCK-less clock, Trends Cell Biol. 16: 547–549.
- Aschoff, J. 1981. Free-running and entrained circadian rhythms. In: Handbook of Behavioral Neurology Volumen 4 : Biological Rhythms, Aschoff, J. (ed). Plenum, New York, pp 81-93.
- Ayala-Guerrero F, Vargas-Reyna L, Ramos JI, Mexicano G. 1998. Sleep patterns of the volcano mouse (*Neotomodon alstoni alstoni*). Physiol Behav 64(4):577-80.
- Balthasar N, Dalgaard LT, Lee CE, Yu J, Funahashi H, Williams T, Ferreira M, Tang V, McGovern RA, Kenny CD, Christiansen LM, Edelstein E, Choi B, Boss O, Aschkenasi C, Zhang CY, Mountjoy K, Kishi T, Elmquist JK, Lowell BB. 2005. Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. Cell 123:493–505
- Barranco González J., Gómez Santos Ma. Del R., Chavarría Arcienega S. 2004. Fisiopatología de la Obesidad. En: González Barrancon J. 2004. Obesidad. México : McGraw Hill. pp 53-77.
- Basterfield L, Lumley LK, Mathers JC. 2009. Wheel running in female C57BL/6J mice: impact of oestrus and dietary fat and effects on sleep and body. Int J Obes (Lond). Jan 13. pp 212-8
- Berthoud H-R, Blackshaw LA, Brookes SJ, Grundy D. 2004. Neuroanatomy of extrinsic afferents supplying the gastrointestinal tract. Neurogastroenterol. Motil. 16(Suppl. 1):28–33.
- Berthoud H-R, Neuhuber WL. 2000. Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. Auton. Neurosci. 85:1–17
- Berthoud, H. R. y Morrison C. 2008. The Brain, Appetite, and Obesity. Annual Review of Psychology, Vol. 59, January.
- Brady, John. 1982. LinkBiological timekeeping. Cambridge University, pp 14-16

- Bray MS y Young ME. 2007. Circadian rhythms in development of obesity: potential role for the circadian clock within the adipocyte. *Obes Rev* 8: 169-81.
- Burcelin R. 2005. The incretins: a link between nutrients and well-being. *Br. J. Nutr.* 93(Suppl.1):S147–56.
- Burdyga G, Varro A, Dimaline R, Thompson DG, Dockray GJ. 2006. Ghrelin receptors in rat and human nodose ganglia: putative role in regulating CB-1 and MCH receptor abundance. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 290:G1289–97
- Caixàs A. 2006. Mecanismos de regulación del apetito y síndrome de Prader-Willi. *Endocrinología y Nutrición.* 53 (03):174-18. pp 174 - 180
- Carmona-Castro, A. 2006. Obesidad, esteatosis hepática y parámetros sanguíneos en el ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) mantenido en cautiverio. Tesis de Maestría Facultad de Ciencias, UNAM México D.F. Febrero.
- Chávez, C. B. 2005. Ratón de los volcanes. En: Cevallos, G y Oliva, G. (coords). *Los mamíferos silvestres de México.* FCE, CONABIO. México, DF 1986.
- Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cerdan MG, Diano S, et al. 2001. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 411:480–84
- Daan, S. and Pittendrigh. 1976. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents, 3. Heavy water and constant light: homeostasis of frequency?- *J. comp. Physiol.* 106. pp 267-290.
- Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Nijijima A, Matsuo H, Kangawa K, Nakazato M.* 2002. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology* 123:1120–28
- Davis W. B. & Follansbee, L. A. 1945. The mexican volcano mouse, *Neotomodon.* *J. Mammal.* 26:401-441.
- DeCoursey, PJ. 2004. Overview of Biological Timing from Unicells to Humans. En: Dunlap JC, Loros JJ y DeCoursey, PJ Eds. *Chronobiology biological timekeeping.* Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, U.S.A.402 pp
- Drucker DJ, Nauck MA. 2006. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* 368:1696–705
- Druce MR, Small CJ, Bloom SR. 2004. Minireview: gut peptides regulating satiety. *Endocrinology.*145: 2660 5.

- Duez H, Staels B. 2008. Rev-erb alpha gives a time cue to metabolism. *FEBS Lett.* Jan 9;582(1):19-25.
- Dunlap J.C. 1999. Molecular bases for circadian clocks, *Cell* 96: 271–290.
- Eberlein GA, Eysselein VE, Schaeffer M, Layer P, Grandt D, et al. 1989. A new molecular form of PYY: structural characterization of human PYY (3-36) and PYY(1-36). *Peptides* 10:797–803.
- Estrada Lugo, E. 1978. Estudio sobre la reproducción del ratón de los Volcanes (*Neotomodon alstoni*) silvestre y nacido en el laboratorio (F1 y F2). Tesis profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, D. F. 96p.
- Feillet, C.A. Ripperger, J.A. Magnone, M.C. Dulloo, A. Albrecht, U. Challet, E. 2006. Lack of food anticipation in *Per2* mutant mice, *Curr. Biol.* 16: 2016–2022.
- Friedman JM. 2003. A war on obesity, not the obese. *Science* 299:856–58
- Froy, O. Chapnik, N. Miskin, R. 2006. Long-lived alphaMUPA transgenic mice exhibit pronounced circadian rhythms, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 291: E1017–E1024
- Froy O. 2007. The relationship between nutrition and circadian rhythms in mammals. *Front Neuroendocrinol* 28: 61–71. (Epub)
- Fuentes Granados C. Efecto del fotoperíodo de días cortos y días largos en el tamaño y morfología testicular del ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*, Merriam, 1898). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM .México 2008. 77p
- Granados H y Hoth J. 1989. Estudios sobre la biología del ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*). XVI. Comparación de la capacidad reproductora de hembras silvestres en el laboratorio, siguiendo tres sistemas de apareamiento. *Arch Invest Méd (Méx)* 20: 95-05.
- Gropp E, Shanabrough M, Borok E, Xu AW, Janoschek R, Buch T, Plum L, Balthasar N, Hampel B, Waisman A, Barsh GS, Horvath TL, Bruning JC. 2005. Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding. *Nat. Neurosci.* 8:1289–91
- Inagaki, N., Honma, S., Ono, D., Tanahashi, Y. And Honma, K. 2007. Separate oscillatin cell groups in mouse suprachiasmatic nucleus couple photoperiodically to the onset and end of daily activiti. *PNAS.* 104 (18): 7664-7669.
- J. Hum. Genet. 14:353–63 Speakman JR. 2004. Obesity: the integrated roles of environment and genetics. *J. Nutr.* 134:2090–105S.
- Jonson, C. H., Elliott, J., Foster R., Honma, K. y Kronauer, R. 2004. Fundamental Properties of Circadian Rhythms . En: Dunlap JC,. Loros

- JJ y. DeCorsey, PJ Eds. Chronobiology biological timekeeping. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, U.S.A.402 pp
- Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Gruters A. 1998. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat. Genet.* 19:155–57.
- Laposky AD, Bradley MA, Williams DL, Bass J, Turek FW. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008. Sleep-wake regulation is altered in leptin-resistant (db/db) genetically obese and diabetic mice. Dec;295(6):R2059-66. Epub 2008 Oct 8.
- Le Minh N., Damiola F., Tronche F., Schutz G., Schibler U.. 2001. Glucocorticoid hormones inhibit food-induced phase-shifting of peripheral circadian oscillators, *EMBO J.* 20: 7128–7136.
- LutzTA, Mollet A, Rushing PA, Riediger T, Scharrer E. 2001. The anorectic effect of a chronic peripheral infusion of amylin is abolished in area postrema/nucleus of the solitary tract (AP/NTS) lesioned rats. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 25:1005–11
- Luis, J., A. Carmona, J. Delgado, F. Cervantes, R. Cárdenas. 2000. Parental Behavior of the Volcano Mouse, in captivity. *Journal of Mammalogy*, 81 (2): 600-605.
- Matveyenko AV, Donovan CM. 2006. Metabolic sensors mediate hypoglycemic detection at the portal vein. *Diabetes* 55:1276–82.
- Mendoza J, Pévet P, Challet E. *J Physiol.* 2008. High-fat feeding alters the clock synchronization to light. Dec 15;586(Pt 24):5901-10. Epub 2008 Oct 20.
- Morrison CD, Morton GJ, Niswender KD, Gelling RW, Schwartz MW. 2005. Leptin inhibits hypothalamic Npy and AgRP gene expression via a mechanism that requires phosphatidylinositol3-OH-kinase signaling. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 289:E1051–57
- Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. 2006. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443:289–95
- Moynihan Ramsey K, Marcheiva B, Kohsaka A, Bass J. 2007. The clockwork of metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 27:219–40
- Moynihan Ramsey K, Marcheiva B, Kohsaka A, Bass J. 2007. The Clockwork of Metabolism. *Annu Rev Nutr E pub.* Apr 12.
- Neel JV (1962) Diabetes mellitus: a 'thrifty' genotype rendered detrimental by 'progress'. *American Journal of Human Genetics* 14,.pp 353–362.

- Niswender KD, Morton GJ, Stearns WH, Rhodes CJ, Myers MG Jr, Schwartz MW. 2001. Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature* 413:794–95
- Panda, S. Hogenesch, J.B. Kay S.A. 2002. Circadian rhythms from flies to human, *Nature* 417 329–335.
- Pittendrigh, C. S. 1993. Temporal organization: Reflection of a darwinian clock-watcher. *Annu.Rev. Physiol.* 55: 17-54.
- Quintero J.E., Kuhlman S.J., McMahon D.G.. 2003. The biological clock nucleus: a multiphasic oscillator network regulated by light, *J. Neurosci.* 23: 8070–8076.
- Rahmouni K, Haynes WG, Morgan DA, Mark AL. 2003. Intracellular mechanisms involved in leptin regulation of sympathetic outflow. *Hypertension* 41:763–67
- Reppert, S.M., Weaver D.R. 2002. Coordination of circadian timing in mammals, *Nature* 418: 935–941.
- Rudic RD, McNamara P., Curtis AM, Boston RC, Panda S., Hogenesch JB, and Fitzgerald G.* 2004. BMAL1 and CLOCK, two essential components of the circadian clock, are involved in glucose homeostasis. *PLoS Biol.* 2:e377
- Ruiter M, Buijs RM, Kalsbeek A. 2006. Hormones and the autonomic nervous system are involved in suprachiasmatic nucleus modulation of glucose homeostasis. *Curr Diabetes Rev.* May;2(2):213-26.
- Samario Román J. S. Caracterización del ritmo circadiano de actividad locomotriz en el ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni alstoni*. Tesis de Licenciatura México 2008. 56p.
- Sánchez-RL, Berber A, Fanghanel G. 2001. Incidencia de obesidad en una población mexicana. *Rev Endocrinol Nutr;* 9 (2): 60-66
- Saper C.B., J. Lu, T.C. Chou, J. Gooley. 2005. The hypothalamic integrator for circadian rhythms, *Trends Neurosci.* 28: 152–157
- Schibler, U. Ripperger, J. Brown S.A. 2003. Peripheral circadian oscillators in mammals: time and food, *J. Biol. Rhythms* 18: 250–260.
- Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG. 1996. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J. Clin. Invest.* 98:1101–6
- Schwartz MW, Seeley RJ, Woods SC, Weigle DS, Campfield LA, et al. 1997. Leptin increases hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. *Diabetes* 46:2119–23
- Spanswick D, Smith MA, Groppi VE, Logan SD, Ashford ML. 1997. Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. *Nature* 390:521–25

- Thorens B, Larsen PJ. 2004. Gut-derived signaling molecules and vagal afferents in the control of glucose and energy homeostasis. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 7:471–78.
- Trayhurn P, Bing C, Wood IS. 2006. Adipose tissue and adipokines—energy regulation from the human perspective. *J. Nutr.* 136:1935–39S.
- Turek F. W, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, et al. 2005. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science* 308:1043–45
- Turek F. W., Takahashi J. S., and Moore R. Y. 2001. *Circadian clocks*. New York Kluwer Academic. Plenum 770p
- Vanitallie T. B. 2006. Sleep and energy balance: interactive homeostatic systems. *Metabolism* 55:S30–35.
- Villa, A.R., Escobedo, M.H. y Méndez-Sánchez, N. (2004). Estimación y proyección de la prevalencia de obesidad en México a través de la mortalidad por enfermedades asociadas. *Gac Med Mex.*, 140(S2), 21-26.
- Villalpando, I., H. Villafan-Monroy, D. Aguayo, A, Zepeda-Rodriguez, H. Granados-Espitia. 2000. Ultrastructure and motility of the caudal epidymis spermatozoa from the volcano mouse (*Neotomodon alstoni alstoni* Merriam, 1898). *Journal of Experimental Zoology*, 287 (4): 316-326.
- Villapando I, Ramirez M, Zepeda-Rodriguez A, Castro AC, Cardenas-Vazquez R, Vilchis F. 2005. The Harderian gland of the Mexican volcano mouse *Neotomodon alstoni alstoni* (Merriam 1898): a morphological and biochemical approach. *J Exp Zool A Comp Exp Biol* 303(1):13-25.
- Vitaterna, M.H. King, D.P. Chang, A.M. Kornhauser, J.M. Lowrey, P.L. McDonald, J.D. Dove, W.F. Pinto, L.H. Turek, F.W. Takahashi J.S. 1994. Mutagenesis and mapping of a mouse gene, *Clock*, essential for circadian behavior, *Science* 264 719–725.
- Waterhouse J. y DeCorsey, P. J. 2004. The relevance of circadian Rhythms for Human Welfare. En: Dunlap JC, Loros JJ y DeCorsey, PJ Eds. *Chronobiology biological timekeeping*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, U.S.A. 402 pp
- Whitmore, D. Cermakian, N. Crosio, C. Foulkes, N.S. Pando, M.P. Travnickova, Z. Sassone-Corsi, P. 2000. A clockwork organ, *Biol. Chem.* 381 793–800.
- Yamazaki, S., R. Numano, M. Abe, A. Hida, R.I. Takahashi, et al. 2000. Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* 288:682-685.
- Yaswen L, Diehl N, Brennan MB, Hochgeschwender U. 1999. Obesity in the mouse model of pro-opiomelanocortin deficiency responds to peripheral melanocortin. *Nat. Med.* 5:1066–70

Young A. 2005. Inhibition of gastric emptying. *Adv. Pharmacol.* 52:99–121

Zvonik S, Floyd ZE, Mynatt RL, Gimble JM. 2007. Circadian rhythms and the regulation of metabolic Tissue Function and Energy Homeostasis. *Obesity* 15(3) 539-43