



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

**“EL ALIMENTO NORMAL Y PALATABLE
COMO ESTRATEGIA DE RESINCRONIZACIÓN
DESPUÉS DE UN AVANCE DE FASE DE 6
HORAS DEL CICLO LUZ/OSCURIDAD
(JET- LAG)”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN
PSICOLOGÍA**

P R E S E N T A:

**G A B R I E L A
C E R V A N T E S G A L I C I A**



**DIRECTOR: DR. ALBERTO MANUEL ÁNGELES
CASTELLANOS.**

REVISORA: DRA. MARÍA A. CORSI CABRERA.

MÉXICO, D.F. 2013

ESTA TESIS FUE REALIZADA EN EL LABORATORIO DE CRONOBIOLOGÍA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL, BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. ALBERTO MANUEL ÁNGELES CASTELLANOS, DE LA FACULTAD DE MEDICINA. FINANCIADA POR PAPIIT: IN205809-2 y IN209712, CONACYT 82462.

AGRADEZCO LA BECA OTORGADA PARA EL APOYO Y REALIZACIÓN DE ESTE PROYECTO.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Alberto y Magdalena que siempre han estado apoyándome en mi crecimiento personal y profesional, por permitirme vivir esta experiencia y por alentarme a ser una persona emprendedora y sobre todo, libre.

A mi hermana Barbara por acompañarme desde el vientre de nuestra madre, por compartir y vivir momentos de alegría, diversión y enojo.

A mi hermana Jaqueline por su insistencia para que concluyera pronto mi tesis, por quererme y cuidarme siempre.

A mi hermano por ser el único varón y enseñarnos otros aspectos de la vida. También por los dos ángeles: Valentina y Santiago que me han dejado cuidar. A ellos por quererme y dejarme aprender a su lado.

A mis abuelos Joaquina y Luis por sus bendiciones, sus cuidados y su cariño.

A Diego por acompañarme a lo largo de mi experiencia en la Universidad y apoyarme en los momentos buenos y malos.

A Juan por guiar mi aprendizaje a través de la lectura.

A Luis por su apoyo brindado y su cariño.

Al Dr. Manuel al darme la oportunidad de conocer y aprender sobre la ciencia, por su apoyo y colaboración en este proyecto.

A la Dra. María Corsi por su colaboración y sus consejos brindados para mejorar este trabajo.

A la Dra. Laura Ubaldo por sus consejos brindados y por su colaboración en este proyecto.

Al Dr. Jairo Muñoz por sus oportunas observaciones.

A la Lic. Katia Rodríguez por sus observaciones.

A mi compañera Madahí por su apoyo.

Con cariño Gaby.

“Parece paradójico que la investigación científica- en muchos sentidos una de las actividades humanas más inquisitivas y escépticas- dependa de la confianza personal. Y sin embargo, el hecho es que sin confianza no puede funcionar la investigación”.

Arnold S. Relman (editor)
New England Journal of Medicine, 1983.

ÍNDICE

RESUMEN	7
ABREVIATURAS	8
ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE LOS RITMOS BIOLÓGICOS	9
INTRODUCCIÓN	10
<i>¿Qué es un ritmo biológico?</i>	10
<i>¿Qué se le estudia a un ritmo biológico?</i>	12
<i>Sistema circadiano</i>	13
OTROS SINCRONIZADORES	17
<i>El alimento como sincronizador</i>	18
<i>Sistema Metabólico- energético</i>	19
<i>Modelo experimental de sincronización al alimento</i>	19
<i>¿En busca del mecanismo de OSA?</i>	21
<i>El alimento como una señal motivacional</i>	25
<i>La rueda de actividad como una señal sincronizadora</i>	28
SINCRONIZACIÓN Y DESINCRONIZACIÓN DEL SISTEMA CIRCADIANO	31
<i>Alteraciones de los ritmos circadianos</i>	32
<i>Trabajo nocturno</i>	32
<i>Jet- lag</i>	33
<i>Estrategias de re-sincronización</i>	34
<i>Fototerapia</i>	34
<i>Melatonina</i>	36
<i>Alimento</i>	37
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	40
OBJETIVO GENERAL	41

Objetivos Específicos	41
<i>Objetivo 1</i>	41
<i>Hipótesis 1</i>	41
<i>Objetivo 2</i>	41
<i>Hipótesis 2</i>	41
METODOLOGÍA	42
<i>Animales y condiciones generales de bioterio</i>	42
<i>Diseño experimental (Modelo de “jet-lag”)</i>	42
<i>Grupos alimento y avance de fase</i>	42
<i>Grupos rueda y chocolate</i>	44
MÉTODOS Y TÉCNICAS GENERALES	45
<i>Inducción de Jet-Lag</i>	45
<i>Registro Conductual</i>	46
<i>Registro de Temperatura</i>	47
<i>Análisis estadístico</i>	48
RESULTADOS	49
<i>Alimento y avance de fase</i>	49
<i>Rueda y chocolate</i>	53
DISCUSIÓN	57
CONCLUSIONES	60
REFERENCIAS	62

RESUMEN

Los individuos que se ven expuestos a cambios bruscos del ciclo luz-oscuridad (L-O), como los que se generan al realizar viajes transmeridionales, desarrollan el síndrome del jet-lag, caracterizado por cansancio, dificultad para dormir y pérdida de apetito, todo esto generado por un fenómeno conocido como desincronización interna. Por lo cual, se propuso explorar la utilización de alguna de estas manipulaciones: acceso al alimento normal por 12 horas; acceso a un alimento apetitoso (Chocolate, 5g), o actividad locomotora forzada en una rueda por 1 hora, todo esto para acelerar la re-sincronización de los ritmos de actividad locomotora y temperatura, después de un avance de fase de 6 horas (jet-lag). Se utilizaron ratas de la cepa Wistar. En una primera etapa se formaron 3 grupos, los cuales estuvieron 9 días en un ciclo L-O 12:12 con alimentación *ad-libitum* (línea base), posteriormente a cada grupo se le realizó un avance de fase de 6h del ciclo luz-oscuridad (6PA-LD) y al mismo tiempo, el horario de alimentación cambio, excepto para el grupo control que continuo con alimentación *ad-libitum*. El primer grupo experimental tuvo acceso al alimento en el horario de la fase de oscuridad del ciclo L-O de la línea base. El segundo grupo experimental tuvo acceso al alimento en la nueva fase de oscuridad del nuevo ciclo. El ritmo de actividad locomotora en el control, se re-sincronizó en 9 días y la temperatura en 8 días. En el primer grupo experimental, la actividad tardó más de 12 días en ajustarse al nuevo ciclo, la temperatura necesitó 11 días, en cambio, el segundo grupo experimental, tardó 4 días en re-sincronizar su actividad y 3 días la temperatura. En una segunda etapa para descartar que la re-sincronización se debiera a un efecto metabólico o por la actividad locomotora que genera la restricción de alimento, se formaron dos grupos, que estuvieron bajo las mismas condiciones de la línea base de los grupos anteriormente mencionados, después se les hizo un 6PA-LD, simultáneo al cambio. El primer grupo tuvo acceso a una rueda (una hora) mientras el segundo grupo tuvo acceso a 5g de chocolate, ambos al inicio de su nueva fase de oscuridad. El grupo de la rueda re-sincronizó en 9 días su actividad y en 10 días la temperatura; el grupo con chocolate, re-sincronizó en 4 días su actividad y en 5 días la temperatura. Se concluyó que si el alimento normal o apetitoso coincide con el inicio de la fase de oscuridad, la re-sincronización de ritmos circadianos es casi inmediata y que el mecanismo de este fenómeno no es metabólico.

ABREVIATURAS

(6PA-LD) Avance de fase de 6 horas del ciclo luz- oscuridad	(N-ZT) Nueva fase esperada
(AA) Actividad Anticipatoria al Alimento	(O-O) Oscuridad constante
(AL) <i>Ad- libitum</i>	(OSA) Oscilador Sincronizado al Alimento
(ARC) Núcleo Arqueado	(PVN) Núcleo Paraventricular del hipotálamo
(CCK) Colecistocinina	(RA) Restricción de acceso al alimento
(CPF) Corteza Prefrontal	(SE) Error estándar
(DMH) Núcleo Hipotalámico Dorso-medial	(SN) Sustancia Nigra
(GABA) Ácido gamma- amino butírico	(TGH) Tracto Geniculohipotalámico
(GCS) Ganglio Cervical Superior.	(TLD) Núcleo tegmental laterodorsal
(HIG) Hojuela Intergeniculada	(TPP) Núcleo tegmental pedúnculo pontino
(HL) Hipotálamo Lateral	(TRH) Tracto Retino Hipotalámico
(LC) Locus coeruleus	(VMH) Núcleo Ventromedial del hipotálamo
(L-O) Ciclo Luz- Oscuridad	(VTA) Área tegmental ventral
(n) Número de sujetos	(ZT) Zeitgeber time
(Nacc) Núcleo Accumbens	
(NPY) Neuropeptido Y	
(NSQ) Núcleo Supraquiasmático	
(NTS) Núcleo del Tracto Solitario	

ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE LOS RITMOS BIOLÓGICOS

Desde la antigüedad se ha tenido un interés por estudiar la relación que existe entre los seres vivos y las variaciones periódicas del ambiente (día- noche, estaciones del año). La principal adaptación de los organismos a estas señales externas cíclicas, es la generación de ritmos biológicos (Valdez, 2009).

En el año 325 a.C., Andróstenes da una de las primeras descripciones de ritmos biológicos en plantas, detallando el movimiento periódico de las hojas y pétalos de la planta *Tamarindus indicus* (Dunlap y *et al.*, 1994).

En 1729, Jean Jacques d' Ortous DeMairan notó que una planta de su jardín (probablemente *Mimosa púdica*), abría sus hojas durante el día y las cerraba durante la noche. Se preguntó si se trataba de alguna relación con la luz, por lo cual, decidió colocarla en un armario oscuro y la observó (Figura.1). Encontró que seguía abriendo y cerrando sus hojas con el mismo horario que mostraba en el jardín (Moore *et al.*,1982).

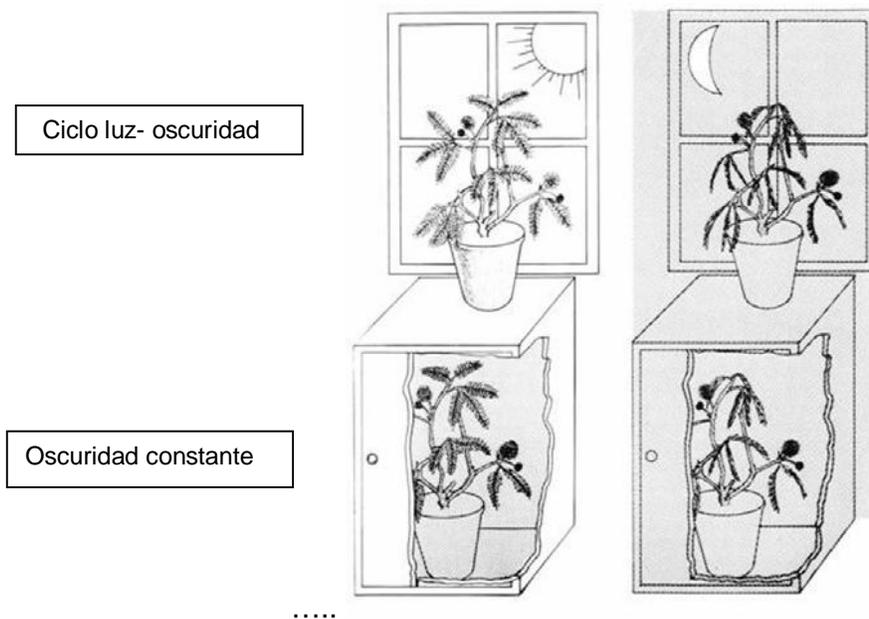


Figura 1. Imagen de una planta sensitiva (*mimosa púdica*). Las hojas de la planta se mantienen extendidas durante el día, tanto en el interior (abajo izquierda como en el exterior (arriba izquierda) del armario. En cambio, en la noche la planta pliega sus hojas en ambas situaciones (derecha). (Tomada de Moore *et al.*, 1982).

Henri-Louis Duhamel (1758) no creía que una planta alejada de señales externas (influencia de la luz) fuera capaz de mantener el movimiento de sus hojas. Para comprobar lo anterior Duhamel selecciona un cuarto donde no atravesara un rayo de luz, donde colocó a la planta en su interior. Al paso de unos días, se sorprendió al ver que la planta continuaba su ciclo de aparente actividad y reposo. Repitió el experimento, pero ahora colocó a la planta en un tubo de cuero que no permitía el paso de la luz encontrando los mismos resultados (citado en Gruart *et al.*, 2002). El siguiente paso de Duhamel fue determinar si la temperatura era el estímulo que provocaba los movimientos de la planta. Dicho experimento, lo realizó en un invernadero en el que la temperatura se mantuvo constante, descubrió que incluso así, la planta continuaba abriendo y cerrando sus hojas. A partir de estos hechos, concluyó que el movimiento de las hojas no depende de la luz, ni de la temperatura del medio ambiente.

En 1832, Agustín Piramus DeCandolle confirmó los hallazgos de DeMairan y Duhamel, además demostró que el movimiento de las hojas de las plantas tampoco depende de la humedad del medio ambiente (citado en Gruart *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos por dichos autores demostraron que las variaciones rítmicas de algunas plantas se mantienen aún en ambientes constantes de oscuridad (O-O), temperatura y humedad, es decir, sin señales externas que indiquen el paso del tiempo. Se comprobó que los llamados ritmos biológicos responden a señales externas pero se generan en el propio organismo (origen endógeno) (Pittendrigh, 1981).

INTRODUCCIÓN

¿Qué es un ritmo biológico?

Los organismos vivos se enfrentan a variaciones cíclicas ambientales como la alternancia día/noche, cambios en la temperatura ambiental, la disponibilidad de alimento, entre otros. Esto implica un reto adaptativo que requiere la optimización de respuestas, de modo que el poder anticipar ante estos cambios

asociados al tiempo se vuelve indispensable (Stephan, 1992; Ángeles-Castellanos *et al.*, 2007). En consecuencia los organismos han desarrollado mecanismos para una mejor adaptación al ambiente y para garantizar la coordinación oportuna de actividades como la alimentación, el sueño y la coordinación de mecanismos fisiológicos y bioquímicos (Jud *et al.*, 2005). El resultado de esto, es la generación de ritmos biológicos.

Un ritmo biológico es la recurrencia de un fenómeno biológico en intervalos regulares de tiempo (Aschoff, 1981). Se encuentran en todos los organismos desde hongos, bacterias, insectos hasta mamíferos: como roedores o el hombre, y tienen un carácter hereditario, es decir, no son aprendidos (Rose, 1992; Aréchiga, 2003).

Los ritmos biológicos se han clasificado en tres grupos de acuerdo con la frecuencia de su oscilación (Gruart *et al.*, 2002):

- **Ultradianos:** son ritmos de alta frecuencia que se presentan más de una vez en un día, es decir, su período es menor de 24 horas. Dentro de esta clasificación se puede observar la frecuencia cardíaca, la actividad neuronal etc.
- **Infradianos:** ritmos de baja frecuencia, es decir, requieren más de un día para que se repitan, por ejemplo, el ciclo menstrual de la mujer.
- **Circadianos** (circa= cerca; dies=día; cercano al día): se presentan aproximadamente cada 24 horas y se ajustan a las variaciones cíclicas del día y la noche, las cuales están determinadas por el movimiento de rotación de la tierra. La temperatura corporal es un ejemplo de este ritmo, nuestra temperatura aumenta antes de que la temperatura ambiental alcance valores máximos y disminuye antes de que la temperatura ambiental alcance los valores mínimos.

¿Qué se le estudia a un ritmo biológico?

Un ritmo presenta momentos de máxima expresión y momentos de mínima expresión, por lo que se utiliza una onda para describir a los ritmos biológicos.

Para evaluar los ritmos biológicos se toman en cuenta una serie de características que describe la onda: período, amplitud, acrofase, mesor, fase, relación de fase y frecuencia (Gruart *et al.*, 2002; Ángeles Castellanos, 2004; Salgado; 2009; Valdez, 2009, Figura.2).

- **Acrofase** es el momento del día en el que la variable presenta su valor máximo.
- **Amplitud** es la intensidad de la variable que registramos, que se obtiene de la diferencia que existe entre el valor máximo (acrofase) y el valor mínimo (valle) de un ciclo.
- **Fase** se refiere al momento (hora, día o mes) en que ocurre un hecho característico dentro del ciclo.
- **Frecuencia** es el número de ciclos con el mismo período que se repite en una unidad de tiempo.
- **Mesor** es el promedio de todos los valores observados de un ciclo.
- **Período** es el tiempo que tarda un fenómeno en repetirse nuevamente, se genera por el reloj biológico.
- **Relación de fase** se refiere a la comparación de dos ritmos distintos: biológicos, o uno biológico y uno ambiental. Por ejemplo, la temperatura corporal y el ciclo sueño-vigilia. Despertamos cuando empieza a aumentar la temperatura, mientras que nos sentimos cansados y somnolientos cuando la temperatura corporal desciende.

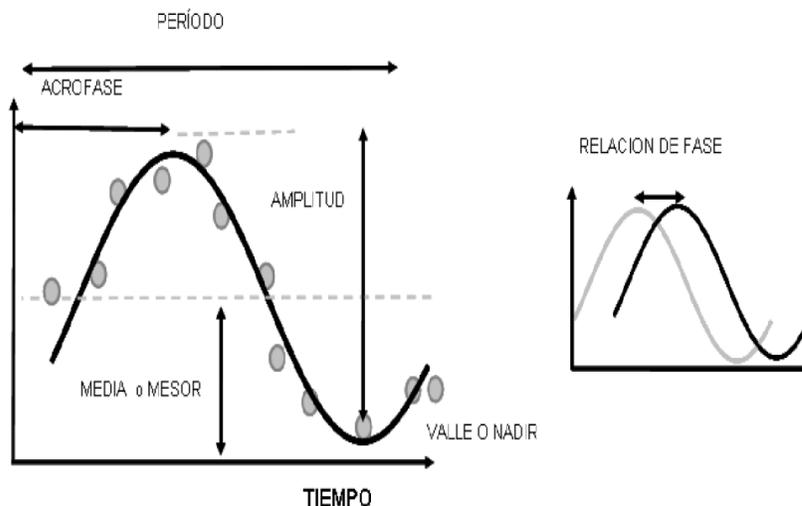


Figura 2. Representación gráfica de los parámetros característicos de un ritmo. A la izquierda, se utiliza un ajuste de una serie temporal a una función sinusoidal (cosinor). A la derecha se representa la comparación de dos ritmos distintos por sus acrofases. (Tomada de Salgado, 2009)

Sistema circadiano

Para lograr estas adaptaciones temporales el organismo cuenta con el sistema circadiano que se encarga de la medición del tiempo y de transmitir estas señales a diversas estructuras.

El sistema circadiano está constituido por tres elementos:

1. **Reloj biológico:** se define como aquel que tiene la capacidad de generar una organización temporal rítmica en el organismo, así como de imponer un período y una fase a los procesos internos.

En la actualidad se sabe que el Núcleo Supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo (consiste en un par de núcleos): es el reloj biológico o marcapasos central en los mamíferos (Figura.3). Está localizado en la región antero-ventral del hipotálamo inmediatamente arriba del quiasma óptico (Mistlberger, 2011). Se compone de aproximadamente 10000 a 15000 neuronas, de las cuales, la mayoría generan y mantienen oscilaciones circadianas autosostenidas en su actividad eléctrica (Welsh *et al.*, 1995), en la captura de glucosa (Schwartz *et*

al., 1987) y en la expresión de genes (Yamaguchi *et al.*, 2003), características que lo definen como reloj, además se dividen en dos regiones una ventral y otra dorsal. La región ventral o retinorecipiente contienen el polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) y péptido liberador de gastrina (GRP). Esta región recibe información directa de la retina a través del tracto retinohipotalámico (TRH) y de la hojuela intergeniculada (HIG) a través del tracto genículo hipotalámico (TGH), así como del núcleo del rafe medial. La región dorsal tiene neuronas que contienen arginina-vasopresina (AVP). Entre sus funciones está la de generar y transmitir el ritmo hacia el cerebro.

El NSQ es el responsable de imponer ritmo a los procesos biológicos, bioquímicos, fisiológicos y conductuales. Por ejemplo, del ritmo circadiano de temperatura corporal y ritmos circadianos hormonales del organismo (Ángeles-Castellanos *et al.*, 2007).

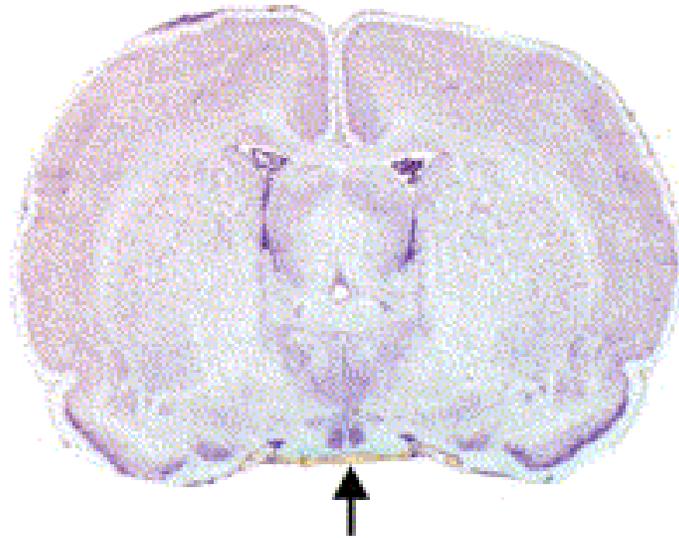


Figura 3. Corte coronal con tinción de Nissl, muestra el cerebro anterior de la rata, incluyendo los dos pares de NSQ (Flecha) (Tomada de Schwartz, 2009).

Para demostrar que el NSQ es el reloj maestro en los mamíferos. Se han realizado varios modelos experimentales como lesiones y estimulación eléctrica en estos núcleos (Tabla. 1), observando que algunos ritmos circadianos conductuales y fisiológicos se veían alterados, como el ritmo de corticosterona que se pierde (Moore y Eichler, 1972). Otro ejemplo es en la actividad locomotora que presenta un patrón arrítmico en hamsters adultos sin NSQ,

después de hacer un trasplante del NSQ de un hámster mutante con un período más corto que el circadiano, el ritmo de actividad locomotora se restauró con el período de los donantes (Ralph *et al.*, 1990). Estos hallazgos permitieron concluir que el NSQ es el reloj maestro.

Tabla 1. Evidencias de que NSQ es el marcapasos circadiano. Tomada de Moore y Card.

Tipo de evidencia	Observación.
Vías que participan en la sincronización.	El TRH y TGH participan en la sincronización y terminan en el NSQ.
Lesiones.	Lesiones en el NSQ causan pérdida permanente de los ritmos circadianos.
Estimulación.	La estimulación eléctrica en el NSQ produce avances de fases similares a los efectos de la luz.
Actividad metabólica.	La captación de 2- desoxiglucosa en NSQ exhibe un ritmo circadiano que se desarrolla antes de otros ritmos.
Electrofisiología.	La actividad multi-unitaria de las neuronas del NSQ persiste cuando está aislado. Las neuronas individuales registradas in vitro muestran un ritmo en su tasa de disparo.

La expresión de ciertos genes es importante en la generación y mantenimiento de la actividad rítmica del reloj. Al comienzo del día circadiano las proteínas producto de genes reloj *clock* y *Bmal1*, se unen formando heterodímeros, iniciando la transcripción de los genes reloj *Periodo* (*Per1-3*) y *Criptocromo* (*Cry1-2*). Posteriormente son los complejos formados por las proteínas de *PER* y *CRY*, que se acumulan en el núcleo de la célula para inhibir su propia transcripción a través de la acción de los complejos formados por *CLOCK* y *BMAL1*. La reactivación de estos genes para reiniciar un nuevo ciclo, ocurre horas más tarde después de que *PER* y *CRY* se degradan en el núcleo (Mendoza, 2009).

2. **Vías de sincronización (aférentes):** La retina se conecta de manera directa con la región ventral de los núcleos supraquiasmáticos por medio del TRH, esta vía transmite información al reloj acerca de la presencia o ausencia de luz, así como del nivel de iluminación que está presente a cada momento. El tracto retinohipotalámico también se conecta con la HIG la cual proyecta a los núcleos supraquiasmáticos. Otras vías con proyecciones al NSQ provienen de los núcleos del rafe que se encuentran en el tallo cerebral (Valdez, 2009; Figura.4).

3. **Vías de salida (eferentes):** a través de estas se expresan los ritmos. El núcleo supraquiasmático proyecta al área preóptica del hipotálamo, esta vía eferente se encarga de modular los ritmos circadianos de temperatura corporal, la ingestión de agua y la conducta sexual (Moore-Ede *et al.*, 1982). Otra vía eferente es la conexión del NSQ a la glándula pineal. El NSQ se conecta con el núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN), del cual salen fibras nerviosas que siguen por el cordón interomediolateral de la médula espinal hasta el ganglio cervical superior, de ahí surgen nuevas fibras que se conectan con la glándula pineal (Valdez, 2009).

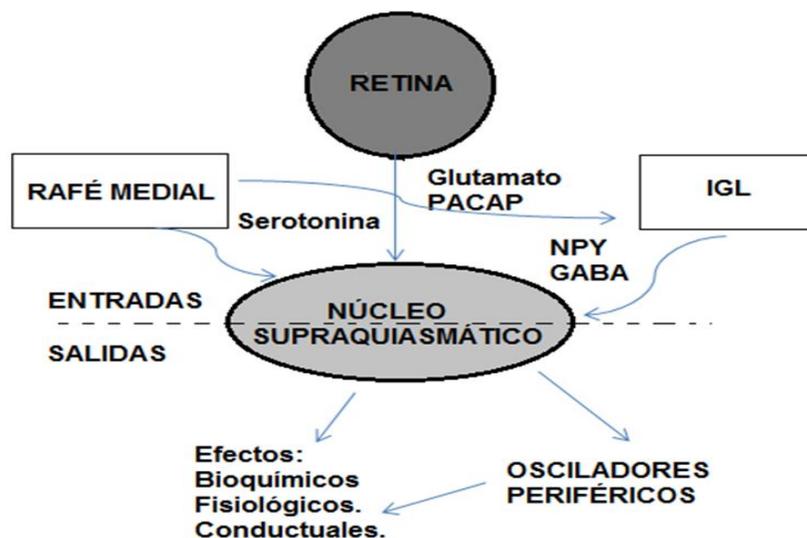


Figura 4. Representación esquemática de las vías de entrada del NSQ. La vía aferente viene directamente de la retina (vía retino o RHT) y utiliza glutamato y péptido activador de adenilato ciclasa de la pituitaria (PACAP), como neurotransmisores más importantes que transmiten información fótica al reloj. Dos vías de transmisión no fóticas al NSQ: las fibras aferentes de NPY y GABAérgicas, desde la hojuela intergeniculada del tálamo y desde el rafe del cerebro medio las serotonérgicas (Modificada de Yannielli y Harrington, 2004).

OTROS SINCRONIZADORES

Como se mencionó anteriormente el ciclo luz-oscuridad (L-O) es la principal señal temporal para el sistema circadiano, esta señal es un “sincronizador” ó zeitgeber (del alemán “Zeit= tiempo” y “geber=dador”). El cual describe una señal ambiental que indica el transcurso del tiempo en forma periódica, que se presenta regularmente y es predecible; capaz de afectar el período y la fase del reloj biológico (Ángeles- Castellanos, 2004; Salazar *et al.*, 2006). Sin embargo, se conocen otros sincronizadores no fóticos como la hora de alimentación, el ejercicio (actividad física) y las interacciones sociales (Gruart, *et al.*, 2002), que adquieren un papel importante en los organismos. Estos estímulos no fóticos pueden ejercer un control de fase y pueden modular la respuesta del NSQ a la entrada fótica (Holmes y Mistlberger, 1999).

En ausencia de un sincronizador las funciones internas de los organismos continúan su relación temporal, esta capacidad interna es denominada ritmo en corrimiento libre o “free running”, por ejemplo, cuando un organismo se mantiene en ausencia del ciclo luz-oscuridad y los individuos se mantienen en oscuridad constante, se siguen generando ritmos con un período de aproximadamente 24 horas (Figura.5).

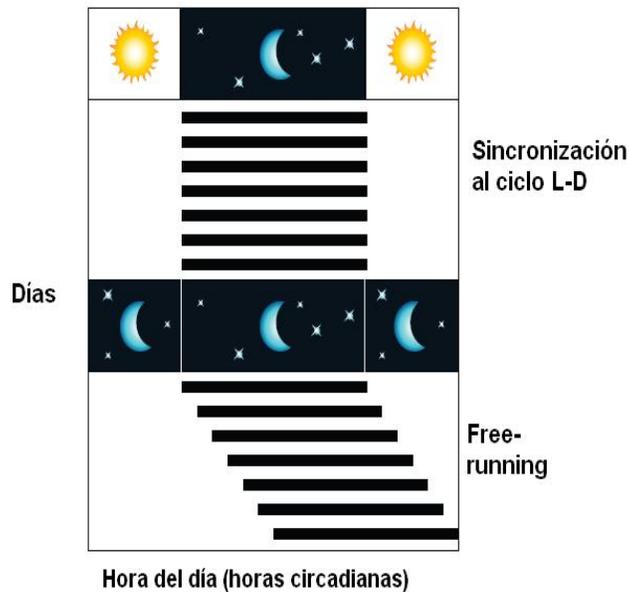


Figura 5. Sincronización de un ritmo circadiano al ciclo luz-oscuridad. Bajo estas condiciones los ritmos circadianos ajustan su período endógeno al del sincronizador. En la figura, el actograma representa un ritmo de actividad locomotora con un ciclo L-O de 24 horas. Al modificar su ciclo de L-O a oscuridad constante (representado por la barra negra en el centro del actograma), el ritmo circadiano comenzará con su período endógeno. Nótese que el inicio de la actividad locomotora bajo condiciones O-O coincide con el comienzo del ciclo L-O anterior, indicando que el zeitgeber afectó la sincronización de la oscilación circadiana (Modificada de Golombek y Rosenstein, 2010)

El alimento como sincronizador

La alimentación es un evento muy importante y necesario para la supervivencia y la salud de todos los organismos. La disponibilidad de alimento en las diferentes especies varía de acuerdo al ambiente en el que viven. Por lo tanto, el ambiente impone los momentos en los que se puede tener acceso al alimento (Escobar y Ángeles- Castellanos, 2007), y esta conducta de alimentación se caracteriza por presentar un ritmo circadiano en muchas especies, entre ellas, los roedores (Boulos y Terman, 1979).

El primero en demostrar la importancia del alimento fue Augusto Forel (1910), en un grupo de abejas que se presentaba a su terraza todos los días durante el desayuno. Después de varios días de observación se percató que las abejas se encontraban ahí antes de empezar a desayunar, es decir, se anticipaban al alimento. Días después decidió no salir a desayunar a la terraza, encontrando

que las abejas se presentaban durante varios días y a la misma hora a pesar de que el alimento no estaba presente (Escobar y Ángeles- Castellanos, 2007).

A este sistema que responde al alimento se le ha denominado “ Oscilador Sincronizado al alimento” (OSA), probablemente esta formado por dos sistemas: uno metabólico y otro motivacional (Rodríguez, 2007).

Sistema Metabólico- energético

Al hablar de metabolismo energético nos referimos al conjunto de procesos y reacciones físico-químicas implicadas en la obtención y transformación de la energía a partir de la ingesta de alimentos, para el mantenimiento de las funciones vitales de las células (Solomon y Martínez, 2006).

Las vías metabólicas según Benyon (1999) se clasifican en:

1. **Anabolismo:** es la síntesis de moléculas complejas a partir de otras más simples. Por ejemplo proteínas a partir de aminoácidos. Las reacciones sintéticas requieren de energía que proviene de la hidrólisis de ATP.
2. **Catabolismo:** es la degradación o ruptura de moléculas complejas ricas en energía; (proteínas, carbohidratos y grasas) en otras más simples como CO₂ (carbono) o H₂O, para liberar energía. Por ejemplo, las reservas almacenadas en forma de grasa, pueden utilizarse en ayunos para la adquisición de energía y la regulación energética del organismo.

Modelo experimental de sincronización al alimento

Cuando el alimento se restringe a dos horas diarias en roedores en el paradigma de restricción al acceso al alimento (RA), el balance energético de los organismos, presenta un estado de catabolismo durante las horas previas al alimento seguido por un estado anabólico posterior a la ingestión. La

alternancia diaria de esta dinámica metabólica, pudiera ser la señal interna de sincronización (Escobar *et al.*, 2001).

También se sabe que bajo RA, el alimento modifica la actividad locomotora, generando un fenómeno llamado “Actividad anticipatoria al alimento” (AA) que consiste en un incremento de la actividad locomotora y de búsqueda, dos o tres horas antes de la hora de llegada del alimento (Escobar *et al.*, 2001), el cual persiste después de la ablación del NSQ. Además modifica procesos fisiológicos asociados al balance energético y la digestión, como un aumento en disacaridasas duodenales; enzimas que hidrolizan los disacáridos, cambios en la motilidad duodenal antes del acceso del alimento y cambios en los ritmos de mitosis en el tubo digestivo (Stephan y Becker, 1989).

La restricción de alimento sincroniza la actividad locomotora y la temperatura en roedores, así como la oscilación de genes reloj en muchos osciladores periféricos como el hígado, páncreas, corazón, riñón y estómago. El hígado es uno de los osciladores periféricos que se ajusta inmediatamente a la hora de alimentación (Schibler *et al.*, 2003), otras estructuras que responden son el riñón, corazón y páncreas (Hara *et al.*, 2001) por lo cual el alimento es un potente sincronizador de osciladores periféricos, sin embargo, parece que no es el sincronizador más efectivo para el NSQ (Damiola *et al.*, 2000).

Se ha reportado que cuando se lesiona el NSQ en ratas se pierden muchos ritmos circadianos, pero no todos; ya que en condiciones de sincronización al alimento se presenta un aumento de temperatura y de corticosterona sérica antes de la hora de la comida (Stephan, 1992). Por tanto, este sistema que responde al alimento, es funcional y anatómicamente distinto al marcapasos circadiano que responde a la luz.

Se realizó un estudio en el que ratas con lesión del NSQ (Figura.6) fueron expuestas a diferentes duraciones de acceso al alimento (4 a 12 horas). Cuando tuvieron acceso a 4 horas de alimentación las ratas desarrollaron AA dentro de los primeros 10 días. Cuando el alimento tuvo una duración de 4 a 10 horas la cantidad y duración de la AA no se vio alterada, en cambio, cuando los

alimentos se entregaron durante 12 horas, la AA se vio disminuida. Sin embargo, mostraron algún patrón de AA en los diferentes tiempos de alimentación. Los últimos tres días del experimento no tuvieron acceso al alimento, encontrando un patrón de actividad cercano al tiempo de acceso a los alimentos, con una duración de aproximadamente 4 a 8 horas (Stephan y Becker, 1989). Esto último demuestra el impacto del acceso al alimento modificando la actividad conductual.

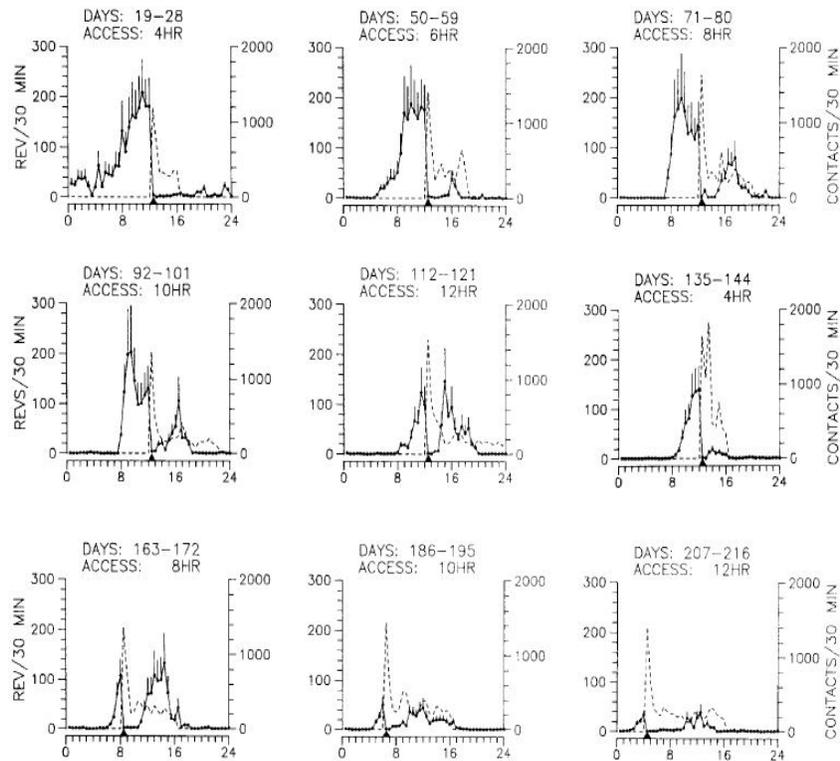


Figura 6. Distribución del promedio de revoluciones de la rueda cada 30 min (línea continua) y promedio de contactos con el dispensador de comida (línea discontinua) de 6 ratas en las diferentes duraciones del acceso a los alimentos. Las líneas verticales indican +1 S.E.M del nivel de actividad. Para cada rata del grupo, los datos fueron promediados sobre un segmento de 10 días del experimento. El inicio de la disponibilidad de alimentos está marcado en el eje de las abscisas (Tomada de Stephan y Becker, 1989).

¿En busca del mecanismo de OSA?

Las estructuras que se han estudiado sistemáticamente en relación con la sincronización por alimento son aquellas relacionadas con la regulación de la conducta de ingesta y el metabolismo del hipotálamo (Mistlberger, 2011).

Una de las estructuras más estudiadas como posible sustrato anatómico fue el núcleo ventromedial del hipotálamo (VMH). Esta estructura participa en la inhibición del apetito, debido a la presencia de neuronas que expresan receptores de leptina y Colecistocinina (CCK), además contiene neuronas glucosensitivas, que se activan cuando los niveles de glucosa en sangre son altos, disminuyendo la ingesta (Solomon y Martínez, 2006).

Estudios iniciales mostraron que animales lesionados bilateralmente en el VMH mostraban un aumento brusco de peso y no desarrollaban conducta de anticipación al alimento en las primeras semanas de la lesión. Sin embargo, una vez recuperados los animales mostraban conducta de anticipación (Escobar y Ángeles- Castellanos, 2006).

El núcleo hipotalámico dorsomedial (DMH) es otra estructura que participa en los mecanismos de sincronización por alimento (Blum *et al.*, 2012). Está localizado encima del núcleo arqueado (ARC). El DMH recibe proyecciones del NSQ, además es el sitio donde se integra la información rítmica humoral y neural del estado metabólico. Una vez integrada dicha información, se transmite a los núcleos encargados de la regulación de la temperatura corporal, la secreción de glucocorticoides, el ciclo sueño-vigilia. Por tanto, es una estructura crítica en la distribución de señales, para una expresión adecuada de varios ritmos de comportamiento y fisiológicos. Esta estructura responde al ciclo L-O, los picos de actividad neuronal medida con cFOS se han reportado al inicio de la oscuridad en condiciones *ad libitum* (Blum *et al.*, 2012). En condiciones de restricción de alimento los picos se han desplazado al momento del acceso al alimento.

Ángeles- Castellanos *et al.*, (2004) encontró que el patrón circadiano de expresión de proteína cFOS; un marcador de activación neuronal, no se modifica en el NSQ o en el VMH, bajo condiciones de RA, siendo estructuras que responden al ciclo L-O. En cambio, otras estructuras hipotalámicas como el DMH, el hipotálamo lateral (HL), el PVN (Figura.7), los núcleos tuberomamilares y el núcleo perifornical presentan un cambio de fase en

anticipación al acceso del alimento, así como una mayor activación después de alimentarse.

Otra forma de transmitir información sobre el estado metabólico y fisiológico directamente al Sistema Nervioso Central es a través de factores humorales. Las hormonas anorexigénicas (CCK, leptina, y péptido YY (PYY y PYY3-36); que actúan como señales de largo y corto plazo de la saciedad y hormonas orexigénicas o hipocretinas como grelina que induce el apetito; esta última se ha propuesto como base de la comunicación entre los componentes periféricos de OSA y los mecanismos centrales que participan en la anticipación de alimentos (Blum *et al.*, 2012). Se ha reportado que los niveles plasmáticos de grelina aumentan drásticamente 30 minutos antes de la comida en el paradigma RA. Los receptores de grelina se han encontrado en regiones hipotalámicas asociadas a los ritmos circadianos, incluyendo el NSQ, DMH, VMH, PVN y ARC en ratones, ratas y primates. Inyecciones periféricas de grelina en condiciones de alimentación AL, generan una mayor activación de cFOS en estas regiones, pero no en el NSQ. Estas mismas áreas mostraron una mayor expresión de cFOS al momento de anticipar a los alimentos en RA en comparación con controles AL (Blum *et al.*, 2012).

El neuropéptido Y (NPY) junto con la proteína relacionada con agutí (AGRP) son considerados neuropéptidos orexigénicos que se expresan en el ARC, también se sintetiza proopiomelanocortina y el transcripto relacionado a cocaína y anfetaminas que inducen una respuesta anorexigénica. El ARC está situado en la base del tercer ventrículo inmediatamente arriba de la eminencia media. Las células de este núcleo responden a las fluctuaciones de señales nutricionales como la glucosa, los ácidos grasos y la insulina, debido a la inexistencia de barrera hematoencefálica en esta zona (Abizaid *et al.*, 2006). Proyecta a distintos núcleos hipotalámicos entre ellos al PVN, al DMH y al HL (Solomon y Martínez, 2006).

Al inyectar NPY en el PVN estimula el apetito y su administración repetida induce obesidad (Williams *et al.*, 2000). El PVN está localizado en la parte superior del tercer ventrículo en el hipotálamo anterior, se considera como un

centro integrador donde convergen una gran cantidad de rutas neurales, implicadas en la homeostasis energética. Recibe proyecciones del ARC y del HL. El PVN junto con el DMH se encargan de la iniciación y mantenimiento de la ingesta (Solomon y Martínez, 2006).

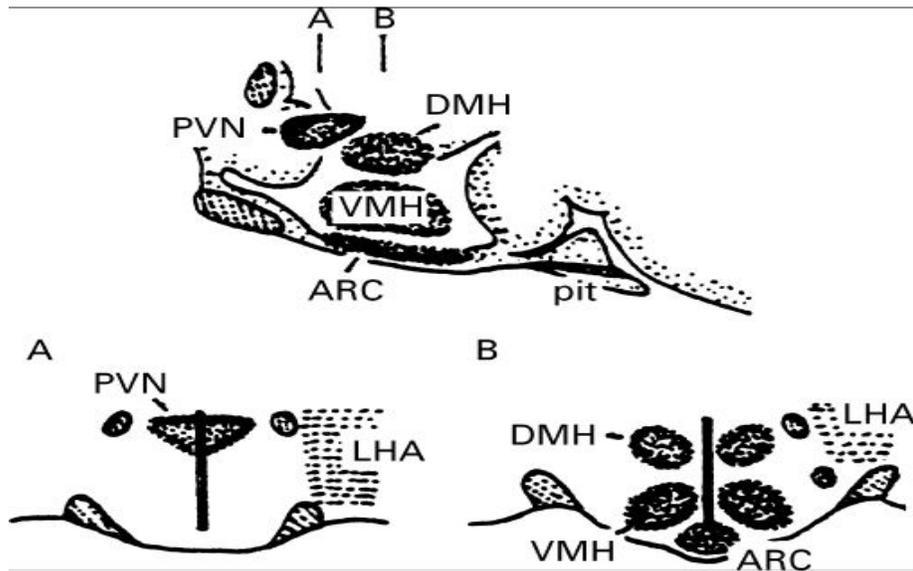


Figura 7. Anatomía básica del hipotálamo de la rata, sección longitudinal. En A para caudal (derecha) y parte frontal en B. Se muestran las regiones principales implicadas en la homeostasis energética: Núcleo arqueado (ARC); Núcleo dorsomedial (DMH), hipotálamo lateral (HL); pituitaria (pit); Núcleo paraventricular (PVN) Núcleo ventromedial (VMH). (Tomada de Williams et al., 2000)

A nivel periférico, el nervio vago recibe información de cualquier señal del tracto gastrointestinal producida por la distensión, la presencia de nutrientes o metabolitos, de la síntesis de péptidos en células endocrinas de la pared del estómago e intestino, de las señales de sabor y textura de los alimentos (Solomon y Martínez, 2006). Toda esta información proveniente de los tejidos periféricos llega al núcleo del tracto solitario (NTS) que mantiene conexiones con todo el cerebro al igual que el hipotálamo.

Estos hallazgos encontrados llevan a contradicciones que no permiten aclarar dicho mecanismo. Sin embargo, esto ha llevado a pensar que OSA es un sistema distribuido, es decir, participan tanto estructuras centrales como periféricas, señales hormonales y neurales; ya que las diferentes

manipulaciones experimentales realizadas no eliminaron todos los ritmos de anticipación al alimento. Así mismo, se ha considerado la existencia de un reloj que aún se desconoce su ubicación (Mistlberger, 2011).

El alimento como una señal motivacional

La alimentación es una conducta motivada. Una conducta motivada está compuesta por dos elementos: el componente de anticipación o apetitiva, que tiene como objetivo la obtención de la recompensa, mediante la exploración, y el componente de consumación, este tiene como finalidad el consumo de la recompensa, se presentan comportamientos como comer, beber (Barbano y Cador, 2005).

Dicha información está constituido por un sistema de recompensa. Berridge y Robinson (2003) menciona los elementos de este sistema: el aprendizaje, el liking y el waiting:

1) Aprendizaje.

Se refiere al conocimiento explícito e implícito, producto del aprendizaje asociativo o de procesos cognitivos.

Este conocimiento es necesario para predecir la recompensa, para anticipar a una respuesta, para guiarse por señales y dirigirlo hacia una acción.

Por ejemplo: estímulos gratificantes como sabores específicos requieren este conocimiento (explícito e implícito) que se adquiere mediante procesos de aprendizaje asociativos o cognitivos (Berthoud, 2004). El resultado de este aprendizaje puede ser declarativo (memoria consciente) o de procedimiento (hábitos). Dichas respuestas aprendidas requieren el conocimiento de las relaciones entre estímulo y conducta.

El aprendizaje asociativo se refiere al condicionamiento pavloviano (asociación estímulo- estímulo, o estímulo-respuesta) o al condicionamiento instrumental

(respuesta- reforzador), es decir, nuestra conducta previa se asocia con sus resultados (Escobar *et al.*, 2007). Las estructuras cerebrales involucradas son tanto corticales como subcorticales.

2) **Liking**

El “liking” (efecto placentero) es el impacto hedónico inmediato de un estímulo placentero, es decir, el componente afectivo de la recompensa. Las estructuras involucradas en este sistema son el NTS, el núcleo parabraquial, la formación reticular, el núcleo pallidus ventral y el núcleo accumbens (NAcc) (Rodríguez, 2007). Así como proyecciones ascendentes a través de la vía talámica medio dorsal hacia la corteza gustativa y orbitofrontal, jugando un papel importante en las reacciones emocionales y en los sentimientos conscientes relacionados con sensaciones agradables. Además parece ser que la corteza prefrontal (CPF) y cingulada participan en la experiencia consciente y en las valoraciones subjetivas de placer (Berthoud, 2004).

Otro circuito que participa es el sistema opioide, a través de los receptores μ -opioides del NAcc. En los mamíferos, los agonistas opioides aumentan la ingesta de alimentos, mientras que los antagonistas opioides la disminuyen, estos efectos son mayores cuando se presenta una comida sabrosa (Kelley *et al.*, 2002 citado en Barbano y Cador, 2005; Berridge y Robinson, 2003).

3) **Waiting**

El “waiting” es el tercer elemento de este sistema (espera del estímulo), que involucra un proceso de motivación consciente e inconsciente, y la relevancia del estímulo, donde la información sensorial (imágenes, sonidos y olores) transforman el estímulo en algo atractivo y deseado. A diferencia del “liking, en este componente si participa la neurotransmisión dopaminérgica. Están involucradas estructuras como las neuronas espinosas del NAcc, la amígdala, el cerebro anterior y la corteza, todas estas regiones participan en los procesos de atención, aprendizaje y cognición en el “waiting” (Berridge y Robinson, 2003).

Animales de laboratorio sometidos a la ingesta diaria de un alimento apetitoso (chocolate), sin ser privados de su dieta regular de laboratorio, muestran

sincronización de sus ritmos conductuales y fisiológicos. Así como de la expresión rítmica de genes reloj en el NSQ (Mendoza *et al.*, 2005). En otro estudio donde se entregó por tres semanas chocolate, la interrupción de este, generó en las ratas un patrón de búsqueda y de persistencia al alimento apetitoso, es decir, las ratas seguían a la espera del chocolate a la misma hora en que se entregaba. Además se reportó una activación diferencial en estructuras corticolímbicas: corteza prefrontal, el núcleo accumbens, la amígdala y el tálamo (indicado por un aumento de la expresión de la proteína PER1 (Ángeles-Castellanos *et al.*, 2008) y CFos (Challet y Mendoza, 2010). Esto sugiere que estímulos motivacionales pueden actuar como sincronizadores de los ritmos biológicos.

El hipotálamo es una estructura importante para la generación de motivaciones, se localiza en la base del cerebro, compuesto por células especializadas que funcionan como controladores, se encargan de monitorear niveles hormonales, la temperatura corporal y el nivel de glucosa. Además recibe información de la periferia acerca del estado funcional de las vísceras, de las concentraciones de oxígeno, de los niveles de energía, de la acidez y salinidad. Este conjunto de núcleos manda proyecciones a diversos sistemas para modificar funciones viscerales, endocrinas y de conducta. Las vías por las que transmite su señal al organismo son el sistema nervioso autónomo (viscerales), la hipófisis (endocrinas, hormonales) y ganglios basales (conductuales). Sin embargo, se necesita de otras vías neurales para la generación de motivaciones y conductas dirigidas a resolverlas, se ha propuesto la interacción del hipotálamo con la corteza cerebral y los ganglios basales (Escobar *et al.*, 2007)

El sistema límbico o corticolímbico está compuesto por la amígdala, la CPF, el Nacc, el núcleo de la estría terminalis, el septum lateral y el área tegmental ventral (VTA), que participan en la disociación, evaluación y producción de las sensaciones hedónicas “liking” y del componente motivacional “wanting” (Berthoud, 2004; Ángeles-Castellanos, 2004). Otra estructura que forma parte del sistema límbico es la corteza cingulada anterior, que evalúa las consecuencias y genera los estados de satisfacción o desagrado (Takenouchi *et al.*, 1999).

En este proceso también participa el haz mesolímbico que se localiza en el tallo cerebral. El neurotransmisor que se libera de este haz es la dopamina. El haz mesolímbico proyecta al Nacc, que es un subnúcleo ventral de los ganglios basales. Este envía información a la corteza cerebral y al sistema límbico. Simultáneamente estas fibras proyectan al PVN y las distribuye al sistema límbico y de regreso al Nacc. Así forma un circuito donde el Accumbens es una interfase que une al hipotálamo lateral con otras estructuras corticolímbicas y los ganglios basales, para motivar la expresión de conductas, así como la generación de sensaciones hedónicas (Escobar *et al.*, 2007). El Nacc también regula la actividad locomotora y puede tener la función de aumentar la actividad basal durante la fase de anticipación al incentivo, facilita la ejecución de las acciones dirigidas a alcanzar el incentivo (Zahm, 2000 citado en Giordano, 2007).

La rueda de actividad como una señal sincronizadora

El sistema circadiano responde a diferentes estímulos no luminosos como la locomoción inducida por estímulos novedosos, el confinamiento a ruedas de giro (locomoción forzada) y patrones periódicos de ejercicio, que ocasionan un incremento de la actividad locomotora (Salazar *et al.*, 2007).

Reebs y Mrosovsky (1989) encontraron que la disponibilidad de una rueda de actividad, ya sea presentada de forma novedosa o continua, puede ser un potente sincronizador en el hámster.

En ratones un periodo de actividad locomotora forzada induce respuestas de cambios de fase y sincroniza los ritmos circadianos. Una hora de actividad locomotora forzada aplicada siempre a la misma hora sincroniza el reloj biológico. Cabe mencionar que no todas las especies de mamíferos responden a este tipo de estímulos. Por ejemplo, la rata sometida a 2 ó 3 horas de actividad locomotora forzada en rueda de giro o en privación de sueño, se observan efectos moderados en el periodo endógeno y la sincronización sólo se observa en algunos individuos (Salazar *et al.*, 2007).

Dallmann y Mrosovsky (2006) realizaron un estudio en Hámsters Syrios con un ciclo L-O 14:10, después se les invirtió el ciclo L-O y tuvieron acceso a una rueda en la fase de luz del nuevo ciclo. El nivel de iluminación fue diferente: para un grupo la luz fue de 6 lux (luz brillante) y para el otro de 1lux (luz tenue). Bajo la luz de 6 lux, los animales se re-sincronizaron al nuevo ciclo después de 5.7 días. En cambio el otro grupo tardó más de 28 días para re- sincronizarse. Encontrando que la disponibilidad de la rueda bajo el nivel de iluminación de 1 lux tiene un efecto negativo en el tiempo de re-sincronización.

Jones (2003) menciona que en la regulación del arousal participan varios sistemas:

1) **Las hipocretinas 1 (Hcrt1) y 2 (Hcrt2)** son un par de neuropéptidos que se expresan exclusivamente en neuronas glutamatérgicas del HL. Muestran una alta actividad de descarga durante la excitación producida por estímulos ambientales. De Lecea *et al.*, (2012) explicó que las hipocretinas juegan un papel más especializado en la regulación de los límites de la transición de sueño-vigilia, basado en las relaciones funcionales del hipotálamo (ritmos circadianos, situaciones metabólicas y respuestas de estrés).

Las hipocretinas también llamadas orexinas participan en el mantenimiento de la vigilia y en la activación conductual. Proyectan a diferentes regiones cerebrales entre ellas la corteza cerebral, la médula espinal, el locus coeruleus (LC), a las neuronas colinérgicas del cerebro anterior (Jones, 2003). A través de estas regiones, la orexina tiene efectos sobre las neuronas a través de los receptores Hcrt1 y Hcrt2 (Jones, 2004).

2) **El locus coeruleus** un núcleo conformado de neuronas noradrenérgicas, localizado adyacente al cuarto ventrículo en el tronco cerebral, implicado en la regulación del ciclo sueño-vigilia. Además se le asocia con un aumento del potencial de membrana cortical y de una desincronización cortical para promover la vigilia, la atención o la hiperactivación (De Lecea *et al.*, 2012).

Aston-Jones y colaboradores (2001), reportaron que el NSQ se comunica a través de una proyección indirecta del DMH al LC y confirmaron dichos hallazgos lesionando el DMH, encontrando que las células del LC disparan significativamente más rápido durante la fase de oscuridad (período activo en las ratas Sprague- Dawley) que durante la fase de luz (período inactivo), cuando el DMH es lesionado se eliminan estas diferencias en la actividad de las neuronas del LC. Este núcleo se ha asociado a diversos procesos fisiológicos, incluida la alimentación y la homeostasis neuroendocrina y autonómica.

3) **La formación reticular** es un conjunto de núcleos y fibras nerviosas que se extienden desde la médula espinal a través del bulbo raquídeo, el puente (protuberancia), el mesencéfalo, el hipotálamo y el tálamo. Las dendritas de las neuronas forman aferencias de vías ascendentes y descendentes (Snell, 2010), tienen la capacidad de inducir el despertar, para alertar, hacer sensible a los animales y humanos a la entrada sensorial, la capacidad de mantener la vigilia, el arousal y de elicitar respuestas en ausencia de dichas señales.

El neurotransmisor utilizado probablemente es el glutamato, sin embargo, otro grupo pequeño de neuronas distribuidas a través de la formación reticular sintetizan ácido gamma-ámico butírico (GABA).

4) Las neuronas colinérgicas que sintetizan **acetilcolina** se encuentran en el núcleo tegmental laterodorsal (TLD) y en el núcleo tegmental pedúnculo pontino (TPP). La estimulación eléctrica de TLD- TPP provoca la activación cortical que se produce durante la vigilia y el sueño REM.

5) Las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas ventrales, se localizan en la sustancia nigra (SN) y el VTA. Las neuronas dopaminérgicas de la SN proyectan al estriado dorsal y las del VTA a la CPF y al Nacc. Las neuronas dopaminérgicas participan en la vigilia, en el arousal, en el proceso de atención (conductas locomotoras y exploratorias) asociados con estímulos o situaciones gratificantes, por lo cual, la liberación de DA es mayor durante situaciones gratificantes (ingesta de alimentos y consumo de drogas).

6) Las neuronas que utilizan **histamina** se localizan en el núcleo tuberomamilar del hipotálamo. Recibe proyecciones del tronco cerebral y de los sistemas del cerebro anterior y proyecta a la corteza cerebral. Además participa en el mantenimiento de la activación cortical y la vigilia.

7) Las **neuronas serotoninérgicas** se localizan en los núcleos del rafe del tronco encefálico que proyectan al NSQ, descargan con mayor frecuencia durante la vigilia; durante el sueño lento disminuyen su actividad y se apagan durante el sueño REM (Jones, 2003).

SINCRONIZACIÓN Y DESINCRONIZACIÓN DEL SISTEMA CIRCADIANO

Como se ha dicho, el Núcleo Supraquiasmático responde al ciclo luz-oscuridad (estímulo sincronizador) ajustando su período y fase a este ciclo. A esto se le conoce como sincronización (Escobar y Ángeles -Castellanos, 2007). Este reloj genera y transmite su ritmo a otras estructuras del cerebro y al resto del organismo.

Sin la sincronización (Figura.8) un organismo no podría ajustar sus funciones a los cambios que ocurren en el ambiente. Por ejemplo, cuando cambia su localización geográfica; entonces la sincronización permite que exista plasticidad en los programas temporales de los organismos. Lo que confiere una enorme relevancia adaptativa a los ritmos biológicos (Gruart *et al.*, 2002).

Al modificar la señal ambiental sincronizadora, hay una pérdida de coherencia entre las fluctuaciones del medio externo y las oscilaciones generadas por el reloj endógeno (NSQ), a este fenómeno se le denomina desincronización externa, también se sabe que hay una pérdida de relación entre las oscilaciones del NSQ y el resto del organismo, llamada desincronización interna (Ángeles –Castellanos *et al.*, 2007).

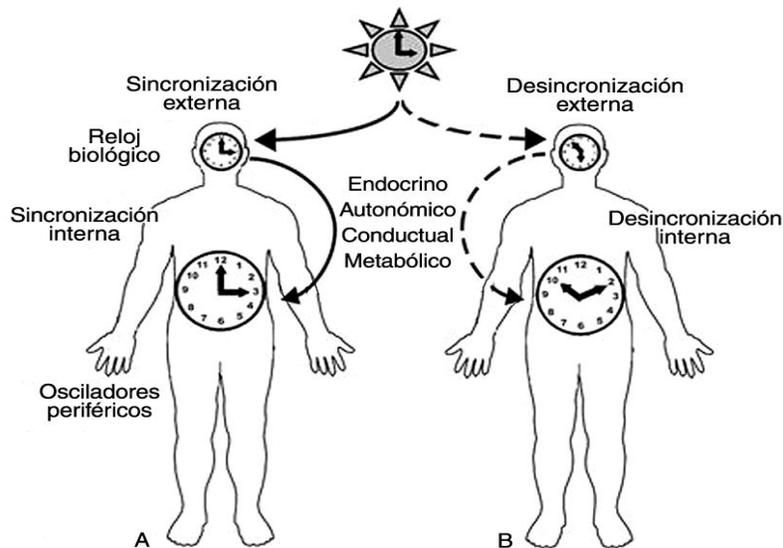


Figura 8. Representación esquemática de un individuo sincronizado con su ambiente (sano)(A) y otro desincronizado (enfermo)(B). En A, la línea continua representa una correcta relación de fase del reloj biológico (NSQ) con el ambiente, conocida como sincronización externa y la correcta relación de fase del reloj con sus osciladores periféricos, conocida como sincronización interna. En B, la línea discontinua representa un individuo con desincronización externa, es decir, no existe una relación de fases del NSQ con el ambiente. En la desincronización interna se plantea que existe una correcta relación entre el reloj y el medio externo, pero una alteración en la salida de señales rítmicas del reloj hacia el resto del organismo, que da como consecuencia un desacoplamiento del organismo con su propio reloj. (Tomada de Salgado et al., 2009).

Alteraciones de los ritmos circadianos

Trabajo nocturno

Una de las alteraciones del sistema circadiano se da en el trabajo rotatorio o en turnos: consiste en una actividad laboral por turnos, los empleados pueden trabajar por la tarde o a la mitad de la noche, y trabajar horas extra o jornadas muy largas; también pueden trabajar algunas veces en horario normal. Estos cambios ocurren en días diferentes de una semana o en un mes (Salgado et al., 2009). El trabajo rotatorio produce una reducción de las horas del sueño y una alteración de los ritmos circadianos, por ejemplo, somnolencia excesiva cuando el trabajador tiene que estar despierto durante la noche, deterioro de la capacidad mental, ocasionado por una disminución del estado de alerta (American Academy of Sleep Medicine., 2001). Esto ocasiona cansancio y estrés crónico en el trabajador asociado a tres factores principalmente: 1) alteración de los ritmos circadianos, 2) fatiga y alteración del sueño y 3)

alteraciones en la vida social y doméstica (Salgado *et al.*, 2009). Estos síntomas persisten a lo largo del tiempo y van generando problemas de salud y sociales al tener un estilo de vida diferente al de la pareja, al de la familia o los amigos.

Jet- lag

Una forma de generar desincronización en el sistema circadiano, es a través de un cambio en el ciclo luz-oscuridad. Un ejemplo de esto es el síndrome del jet-lag desencadenado al realizar viajes transmeridionales (Waterhouse *et al.*, 1997). Por ejemplo, si una persona viaja de México a Francia, habrá una disociación transitoria entre el tiempo del medio externo (hora local de Francia) y el tiempo interno dado por el NSQ (hora local de México).

El jet- lag es reconocido por la Academia Americana de Medicina del Sueño (2001), como un trastorno de los ritmos circadianos del sueño. Las personas que llegan a presentar este síndrome son pilotos, aeromozas, atletas, entre otros. Los criterios para diagnosticar este síndrome (American Academy of Sleep Medicine., 2001; Sack, 2009) son los siguientes:

1. Alteración del sueño asociada con viajes transmeridionales (haber cruzado por lo menos dos husos horarios), no se explica por un trastorno médico, neurológico, mental, o por el uso de medicamentos o abuso de sustancias.
2. Deterioro de las funciones diurnas, malestar general, trastornos gastrointestinales, dentro de uno o dos días después del viaje.

Los síntomas que se presentan son fatiga, dificultad para comenzar o seguir durmiendo, somnolencia, dolor de cabeza, falta de apetito, indigestión, disminución del estado de alerta. Además de la pérdida de ritmicidad del ciclo sueño-vigilia también se presenta una desorganización en la alternancia entre estados de hambre y saciedad, generando señales constantes y arrítmicas hacia el sistema circadiano, a su vez transmitiendo señales arrítmicas al resto

del organismo en particular a los procesos metabólicos, es decir, hay una pérdida de la alternancia entre estados anabólicos y catabólicos a lo largo del día (Staels, 2006).

La velocidad con que el reloj se reajusta a esta nueva señal es lenta (Waterhouse *et al.*, 1997) aproximadamente un día por cada hora del huso de horario atravesado (Arendt, 2009). Por otro lado la pérdida de relación de fase entre el reloj biológico y el medio externo, redundando en una alteración en la salida de señales rítmicas o bien en la transmisión de estas a los efectores, queda como consecuencia un desacoplamiento entre los tejidos periféricos con el reloj.

Según la dirección del viaje se genera un adelanto (este) o retraso (oeste) en la fase de la señal sincronizadora (L-O). La gravedad y la duración de los síntomas varían de acuerdo al número de husos horarios atravesados, de la dirección del viaje: este u oeste, (generalmente los viajes al este se han asociado con una mayor duración de los síntomas) y de la susceptibilidad de cada individuo (American Academy of Sleep Medicine, 2001) y disminuyen cuando el sistema circadiano se ajusta a la nueva zona horaria (Waterhouse *et al.*, 2007). Por lo tanto, acelerar la adaptación es un objetivo primordial (Arendt, 2009).

Estrategias de re-sincronización

La re-sincronización se define como el acoplamiento de los ritmos circadianos a un nuevo ciclo L-O después de un cambio de este. Puede estar influenciado por una gran variedad de factores, por lo que se han estudiado diferentes estrategias para prevenir el jet-lag, entre ellas: la administración de melatonina, la fototerapia, la alimentación y la actividad física.

Fototerapia

El ciclo luz- oscuridad tiene una gran influencia en el reloj circadiano interno. La exposición a la luz natural es un mecanismo para contrarrestar el jet- lag, sin

embargo, no siempre es posible exponerse a esta luz ya que esta exposición varía de acuerdo al momento del viaje, la temporada del año y la actividad del viajero (Sack, 2009), por lo que la luz artificial es una opción que simula la luz del sol durante periodos breves. Dicha exposición puede realizarse con ayuda de una caja de luz, una lámpara o un visor de luz (Choy y Salbu, 2011).

En un estudio de Boulos *et al.*, (2002) las personas fueron expuestas a tres horas de luz brillante blanca (3000lux) o a una luz tenue roja (10lux) a las 19:00 (hora local) en las primeras dos noches después de un vuelo hacia el oeste de Zúrich a Nueva York. Se encontró un retraso de fase de 1h en el inicio de liberación de melatonina observado en la saliva (DLMO) en el grupo de luz brillante.

Otra herramienta empleada es el uso de gafas oscuras que ayuda a evitar los cambios ocasionados por la luz, esto es muy importante ya que la exposición a la luz ocasiona adelantos y retrasos de fase, y una exposición inadecuada a la luz puede generar cambios no deseados en el sistema circadiano. Por ejemplo, después de un vuelo del Reino Unido a Los Ángeles (ocho zonas horarias al oeste), es necesario que los sujetos se expongan a la luz entre 13:00 a 19:00 hora local (equivalente a 21:00 - 03:00 tiempo interno del cuerpo) y debe evitarse la luz entre 21:00 a 03:00 hora local (equivalente 05:00 -11:00 tiempo interno). Por el contrario, después de un vuelo de Reino Unido a Hong Kong (ocho zonas horarias al este) debe exponerse a la luz entre 13:00 a 19:00 hora local (equivalente a 05:00 - 11:00 tiempo interno del cuerpo) y debe evitarse la luz de 05:00 a 11:00 hora local, equivalente a 21:00 - 03:00 tiempo interno (Waterhouse, 1999). Además para los viajeros es más sencillo traer consigo unas gafas que fuentes de luz artificiales, también se han reportado consecuencias negativas para el humano al exponerse a luz artificial brillante, como daños en el cristalino o la retina (Sack, 2009).

Si uno desea utilizar la luz como una estrategia para facilitar el ajuste del sistema circadiano se aconseja tomar en cuenta el tiempo de exposición, la intensidad y posiblemente la composición espectral (luz blanca, luz roja, etc.), ya que pueden presentarse cambios que uno no desea y los diferentes tipos de

luz tienen propiedades y usos distintos, a modo de ejemplo, la luz enriquecida con azul tiene una mayor eficacia en el mantenimiento de la vigilia, la calidad y el tiempo de sueño en un entorno de oficina urbana (Arendt, 2009).

Melatonina

La melatonina u hormona de la oscuridad es secretada por la glándula pineal, es una molécula pequeña y lipófila que atraviesa las membranas celulares. Una de sus funciones más importantes es la de difundir la señal sincronizadora del NSQ hacia el resto del organismo. Esta hormona se difunde en las células del cuerpo y puede ejercer sus funciones en cada célula u órgano que pueden leer su mensaje. De esta manera las células u órganos “saben” si es de día (melatonina en bajas concentraciones) o de noche (altas concentraciones) (Ortiz-Tudela *et al.*, 2011). Además se ha utilizado como tratamiento terapéutico para aliviar los trastornos de los ritmos circadianos (el jet- lag, el trabajo por turnos), los trastornos del sueño y trastornos del ciclo sueño- vigilia en personas ciegas (Vasconcelos, Ríos *et al.*, 2010). Debido a estas características se le ha considerado como un cronobiótico: cualquier sustancia administrada de manera exógena capaz de cambiar la fase o aumentar la amplitud de ritmos circadianos (Arendt, 2009; Cardinali *et al.*, 2011).

La secreción de melatonina se produce durante la noche; si la exposición a la luz se da durante la noche, se presentarán dos efectos: 1) activa al NSQ, a su vez inhibe la inervación simpática de la glándula pineal, lo que conduce a una inhibición de la melatonina, y 2) induce cambios de fase en el ciclo de actividad circadiana del NSQ (Stephan, 1992). Se cree que esta inhibición es a través de fibras descendentes desde el NSQ que proyectan al ganglio cervical superior (GCS) de las fibras simpáticas. Las fibras postganglionares del GCS inervan a la glándula pineal y a los ojos (Redfern, 1989).

La inyección diaria de melatonina puede sincronizar los ritmos circadianos, como sugiere el siguiente estudio en animales de laboratorio que presentan ritmos de actividad en corrimiento libre (free- running) y la inyección diaria de

melatonina puede sincronizar este ritmo. Esto ocurre cuando la administración se presenta con el inicio de la fase de actividad o su noche (Cassone *et al.*, 1986).

Arendt *et al.*, (1986) realizó un estudio con seres humanos, un grupo se trató con placebo y a otro grupo se le pidió que tomarán 5mg/día de melatonina tres días antes de viajar (6:00 p.m.), y después del vuelo, durante cuatro días antes de irse a la cama de la nueva hora local (11:00pm). En estos sujetos los síntomas fueron menos graves y se ajustaron más rápidamente los ritmos de melatonina endógena y cortisol en comparación con el grupo tratado con placebo (Choy y Salbu, 2011).

En un meta-análisis de 10 ensayos (datos de base Cochrane), Herxheimer y Petrie (2002) concluyeron que la melatonina administrada antes de acostarse en el lugar destino (22:00h) fue efectiva para disminuir los síntomas de jet-lag en viajeros transmeridionales que cruzaron cinco o más zonas horarias. La ingestión de dosis diarias de 0.5 a 5.0 mg fue eficaz para prevenir o reducir el jet-lag (Venkataramanujan *et al.*, 2008) y aceleró la adaptación al nuevo horario local (Sack, 2009).

Los efectos adversos de la administración de melatonina que se han reportado son somnolencia diurna, mareos, dolor de cabeza y falta de apetito (Redfern, 1989; Choy y Salbu, 2011), pero aún no queda claro si son los efectos de la melatonina o del jet-lag.

Alimento

Como ya se ha mencionado el alimento es un potente sincronizador de los ritmos circadianos, por lo cual, se ha empleado como estrategia de re-sincronización después de inducir el fenómeno de jet-lag.

Ángeles-Castellanos *et al.*, (2011) realizó un estudio en el que caracterizó la influencia de la restricción del acceso al alimento y la administración subcutánea de melatonina (1mg/kg) en la re-sincronización de los ritmos de

actividad locomotora y temperatura, después de un avance de fase de 6 horas del ciclo luz-oscuridad (6PA-LD) en ratas. Encontrando que sí la restricción de alimento se realiza simultánea al avance de fase (al inicio de su noche), disminuye el número de días transitorios para ajustarse al nuevo horario, tanto en el ritmo de actividad locomotora como de temperatura, en comparación con animales a los que se les hizo el avance de fase del ciclo luz- oscuridad sin ninguna manipulación de alimentación o melatonina (Figura 9).

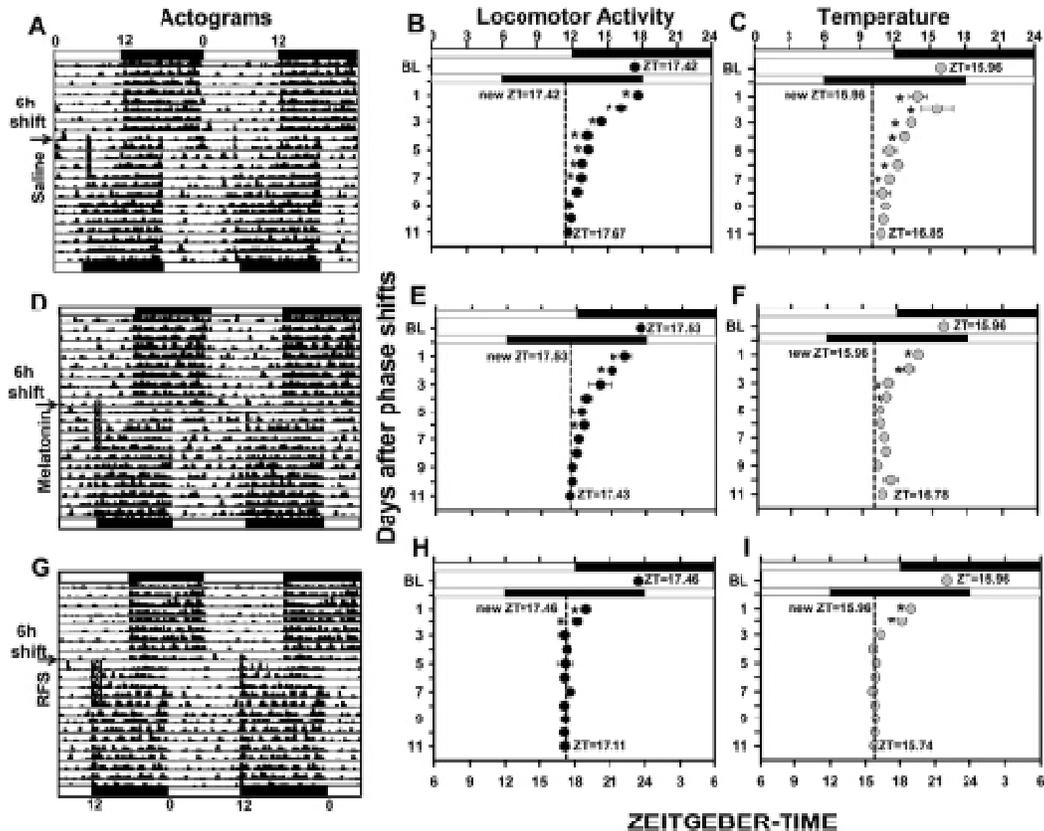


Figura 9. Representación de actogramas en doble-plot de 3 grupos que recibieron tratamiento (indicado con una barra rayada oscura) durante 5 días y simultáneamente un avance de fase de 6 horas (flecha izquierda): solución salina (A), melatonina (D) y el horario de alimentación restringida (RFS; G. La media de las acrofases \pm SE resultado del análisis de cosinor para la actividad locomotora, que está representado en B para la solución salina, en E para la melatonina, y en H para RFS. Acrofases \pm SE de la temperatura central se representan en C para la solución salina, en F para la melatonina y en I para RFS. Los asteriscos indican diferencias significativas con la nueva fase esperada (línea punteada) (T-Student, $p < 0.05$) después de un avance de fase del ciclo luz- oscuridad (Tomada de Ángeles-Castellanos et al., 2011).

El grupo de Carneiro y Araujo (2011) también demostró que ratas sometidas a un 6PA-LD y con RA, los ritmos de actividad locomotora se re-sincronizan más rápido en comparación con el grupo control mantenidos en alimentación *ad libitum*, este grupo necesitó casi el doble de días para la re-sincronización en comparación con el grupo RA (Figura.10). Además sugieren que dicho protocolo puede afectar la actividad del NSQ durante la etapa de re-sincronización.

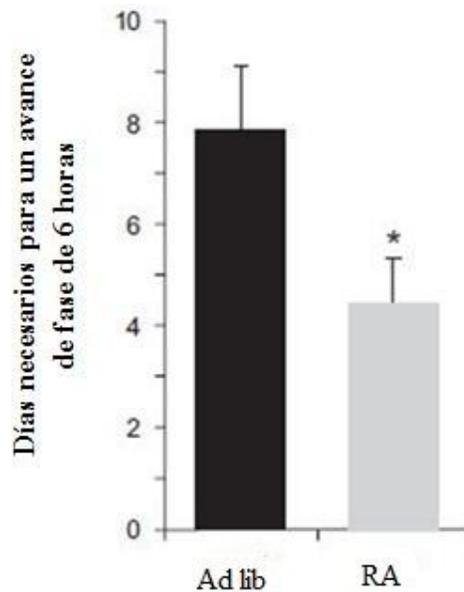


Figura 10. Número de días necesarios para un completo avance de fase de 6 horas del ciclo L-O. El grupo control *ad libitum* tardó 7.83 ± 1.24 días para presentar un avance de fase, mientras el grupo RA tardó 4.42 ± 0.9 días. Tomada de Carneiro y Araujo, 2011).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como ya se mencionó, las personas que se ven expuestas a cambios bruscos del ciclo luz-oscuridad, producto de realizar viajes transmeridionales, desarrollan el síndrome del jet-lag. El síndrome del jet-lag se caracteriza por cansancio, irritabilidad, dificultad para dormir y pérdida de apetito, a consecuencia de una desincronización interna. Por lo que se plantea estudiar en roedores nocturnos si la manipulación de los horarios de alimentación normal y apetitosa (chocolate), o la activación generada por el alimento (arousal) a través de una rueda de lenta rotación, permite una re-sincronización más rápida de los ritmos conductuales y de temperatura después de un avance de fase de 6 horas del ciclo luz-oscuridad (6PA-LD), con la finalidad de mejorar las condiciones generales de los individuos expuestos a este trastorno.

OBJETIVO GENERAL

El presente proyecto propone la manipulación del horario de alimentación utilizando alimento normal por 12 horas o apetitoso (Chocolate, 5g). Así como el acceso a una rueda de actividad forzada durante 1 hora, para acelerar la re-sincronización después de un avance de fase de 6 horas del ciclo luz-oscuridad (jet-lag) en ratas.

Objetivos Específicos

Objetivo 1. Determinar la efectividad de la entrega de alimento (12h) al inicio de la nueva fase de oscuridad o al inicio de la fase de oscuridad previa, simultáneas a un avance de fase de 6 horas (jet-lag), en la re-sincronización de ritmos conductuales y de temperatura.

Hipótesis 1

- La entrega de alimento durante la nueva fase de oscuridad, después de un avance de fase de 6 horas, reducirá el número de ciclos transitorios de la actividad locomotora y temperatura con respecto al grupo control, sin alimento restringido temporalmente.

Objetivo 2. Determinar si la re-sincronización es ocasionada por un efecto metabólico mediante la entrega de alimento apetitoso (chocolate, 5g), o generada por la actividad locomotora que genera la restricción de alimento, mediante el acceso a una rueda (1hora), al inicio de la nueva fase de oscuridad simultáneo a un avance de fase de 6 horas (jet-lag).

Hipótesis 2

- Si la re-sincronización no depende sólo de eventos metabólicos, entonces, la entrega de chocolate (5g) al inicio de la nueva fase de oscuridad simultánea a un avance de fase de 6 horas reducirá el número de ciclos transitorios de la actividad locomotora y temperatura.

- Si la re-sincronización depende de la activación (arousal) generada por el alimento, entonces, el acceso a una rueda de actividad por una hora al inicio de la nueva fase de oscuridad, simultáneo al avance de fase, reducirá el número de ciclos transitorios de la actividad locomotora y temperatura.

METODOLOGÍA

Animales y condiciones generales de bioterio

Para la realización de este trabajo se utilizaron 37 ratas de la cepa Wistar con un peso inicial de 250 y 300 gramos, como modelo nocturno, que se obtuvieron del bioterio general de la Facultad de Medicina. Los animales se mantuvieron en el bioterio del departamento de Anatomía, en cajas de acrílico transparentes (45x30x35cm), bajo condiciones de luz-oscuridad en ciclos de 12:12, temperatura ambiente controlada (22° C), con acceso libre al alimento (Purina Chow) y agua.

Diseño experimental (Modelo de jet-lag)

Grupos alimento y avance de fase

- Control (número de sujetos (n)=5).
- Jet-lag y alimento durante la fase de oscuridad del ciclo L-O de la línea base (n=8).
- Jet-lag y alimento durante la fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O (n=8).

Para esta etapa del experimento los tres grupos estuvieron bajo las siguientes condiciones (Figura. 11):

Línea base: se mantuvieron bajo un ciclo luz- oscuridad 12:12, el encendido de la luz a las 07:00 horas (ZT0) y el apagado de la luz a las 19:00 horas (ZT12) con agua y alimentación *ad- libitum* por 9 días.

Jet-lag: se les hizo un avance de fase de 6 horas (encendido de la luz 01:00 horas, ZT0), y se mantuvieron en este nuevo ciclo por 12 días con la siguiente manipulación indicada en el horario de alimentación:

- *Para el grupo control:* simultáneo al avance de fase del ciclo de luz-oscuridad, su alimentación continuó siendo *ad-libitum*.
- *El grupo Jet-lag y alimento durante la fase de oscuridad del ciclo L-O de la línea base:*

Simultáneo al adelanto de fase del ciclo de luz-oscuridad, el alimento se le entregó por 12 horas al inicio de su fase de oscuridad del ciclo L-O de la línea base.

- *Jet-lag y alimento durante la fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O:*

Para este grupo fue el mismo procedimiento que el anterior, solamente que el alimento se le entregó por 12 horas durante la fase de oscuridad del nuevo ciclo luz-oscuridad, recordemos que las ratas son animales nocturnos y para estos mamíferos el momento de oscuridad es el de mayor actividad.



Figura 11. Esquema del diseño experimental para la etapa de alimento y avance de fase, donde ZT0 representa la hora en que se enciende la luz y ZT12 la hora en la que se apaga. En la condición A) se muestra la línea base con un ciclo L-O 12: 12, y el avance de fase de 6 horas del ciclo L-O, con libre acceso al alimento. En B) la línea base, y el avance de fase de 6 horas simultáneamente con acceso al alimento (12 horas) durante la fase de oscuridad del ciclo L-O de la línea base, y en C) la línea base con un ciclo L-O 12:12, seguido del avance de fase de 6 horas y con acceso al alimento (12 horas) en la nueva noche del ciclo L-O. En rojo se muestra la fase en la que se le entregaba el alimento.

Grupos rueda y chocolate

- Jet- lag y acceso a una rueda de actividad forzada al inicio de la fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O (n=8).
- Jet-Lag y chocolate al inicio de la fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O (n=8).

Para esta segunda etapa los grupos estuvieron bajo las siguientes condiciones (Figura. 13):

Línea base: se mantuvieron bajo un ciclo de luz-oscuridad 12:12 horas, con el encendido de luz a la 07:00 horas (ZT0) y el apagado de la luz a las 19:00 horas (ZT12) con agua y alimentación ad libitum por 9 días.

Jet-lag: se realizó un avance de fase de 6 horas del ciclo luz-oscuridad (encendido de la luz 01:00 horas (ZT0) y se mantuvieron en el nuevo ciclo por 12 días con la siguiente manipulación indicada:

- *Jet- lag y acceso a una rueda de actividad forzada al inicio de la fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O:* simultáneo al avance de fase del ciclo luz-oscuridad, este grupo tuvo acceso a 1 hora de actividad en una rueda (fueron colocadas en la rueda y después se regresaron a sus cajas (Figura.12).



Figura 12. Rueda de actividad. La rueda cuenta con cuatro subdivisiones, en cada subdivisión se mantiene una rata. Las rotaciones lentas (1 revolución por cada 3 min) de la rueda mantienen activas a las ratas(Salgado, 2009).

- *Jet-Lag y chocolate al inicio de la fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O:*
Simultáneo al cambio de horario, se les entregó 5grs de chocolate kínder- maxi al inicio de la nueva fase de oscuridad.

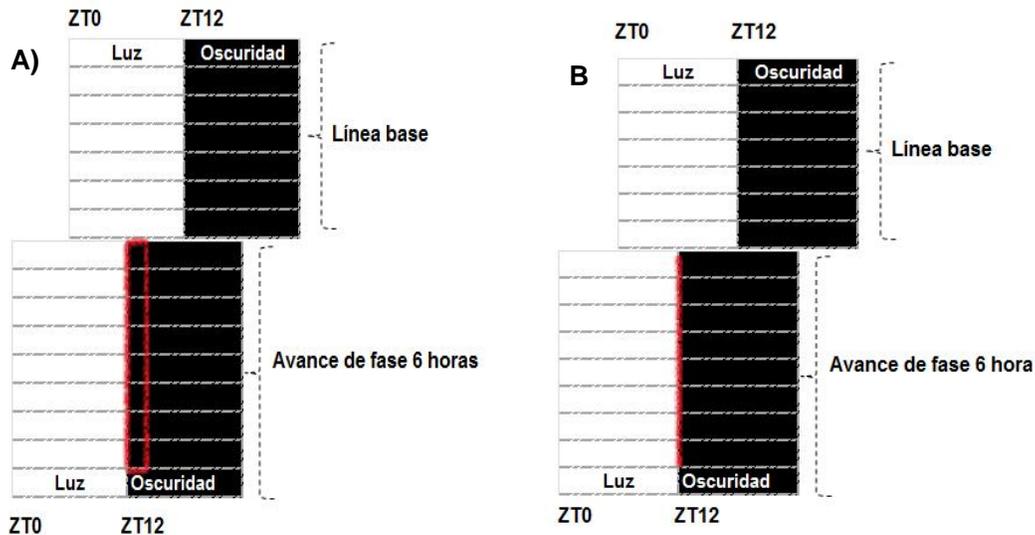


Figura 13. Esquema del diseño experimental para los grupos rueda y chocolate, donde ZT0 representa la hora en que se enciende la luz y ZT12 la hora en la que se apaga. En la condición A) se muestra la línea base con un ciclo L-O 12: 12, y el avance de fase de 6 horas del ciclo L-O, simultáneo al acceso a una rueda (1hora) de lenta rotación al inicio de la nueva fase del ciclo L-O. En B) la línea base con un ciclo L-O 12: 12, después el avance de fase de 6 horas, simultáneamente se les dio 5grs de chocolate al inicio de la nueva fase del ciclo L-O. En rojo se muestra la fase en la que recibieron el chocolate o el acceso a la rueda.

MÉTODOS Y TÉCNICAS GENERALES

Inducción de Jet-lag

Para generar el modelo de Jet-Lag experimental en nuestras ratas, se mantuvieron en forma individual en cajas de acrílico de 45x30x35cm. Dentro de gabinetes aislados propios del sistema automatizado de **registro conductual** (Spad9, Omnilava, México) con la capacidad para la programación del ciclo luz-oscuridad.

Primero se mantuvieron bajo un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (encendiéndose la luz a las 07:00 horas) por 9 días, después se realizó un cambio en el horario de encendido de la luz con un adelanto de 6 horas (encendido de la luz a las 01:00 horas). Este procedimiento simula un

viaje transmeridional y genera el síndrome de jet-lag (Ángeles-Castellanos *et al*, 2011).

Registro Conductual

La determinación del patrón de ritmicidad conductual en las ratas se realizó por medio de **un sistema de registro automatizado**. Se colocó una caja de acrílico donde se mantuvo al sujeto, debajo de las cajas habitación, se colocó una placa de acero inoxidable equipada con sensores de movimiento adaptados en sus 4 extremos, los cuales detectan la presión que genera la actividad locomotora general o el movimiento del roedor en el interior de la caja de acrílico.

Los movimientos de las ratas son transformados a pulsos analógicos que son colectados por un sistema computarizado Spad9, que se almacenan en unidades de 1-5 minutos, estos datos se representan como actogramas. Un actograma es un conjunto de histogramas en doble plot, es decir, se muestra la misma representación gráfica dos veces a lo largo de un período de tiempo determinado. Cada línea horizontal representa dos días, y los recuadros negros en la parte superior representan las horas de oscuridad y los blancos las horas de luz. Esto permitió observar y determinar la organización temporal bajo las distintas condiciones.

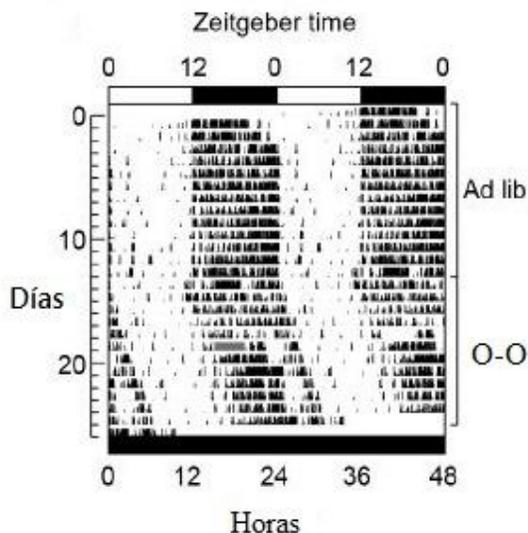


Figura 14. Actograma de la actividad locomotora en doble plot. Los recuadros blancos representan la fase de luz y los negros la fase de oscuridad. Cada línea horizontal representa dos días y las barras negras verticales representan la actividad (Tomada de Carneiro y Araujo, 2011).

Registro de Temperatura

La temperatura corporal se registró a través de un sensor intraperitoneal (iButton Sensor Temperature Logger; Maxim Integrated Products, Dallas Semiconductor, USA), previamente programados. Los sensores almacenaron la información por intervalos de 30 minutos a lo largo de todo el día de cada día del experimento

Para el implante del sensor de temperatura, se realizó un corte en la región abdominal supra púlica de un centímetro aproximadamente y se disecó por planos hasta la cavidad peritoneal donde se deposita el sensor en condiciones estériles. Se sutura la incisión con sutura de seda calibre 4-0. Todo el procedimiento quirúrgico se realizó bajo técnicas de asepsia y antisepsia quirúrgicas.

Al finalizar el experimento este sensor se retiró y se obtuvieron los datos a través de un sistema computarizado.

Para ambas variables (actividad locomotora y temperatura corporal), los datos fueron normalizados debido a la diferente sensibilidad de cada sensor. La actividad diaria total es 100%. Una vez normalizadas las cuentas de actividad y temperatura diaria; se determinaron los picos de máxima expresión (acrofase), mediante un análisis de cosinor que se basa en el ajuste de una curva sinusoidal y por estimación algebraica determina el momento de máxima expresión de un ritmo, mediante el programa de análisis MATLAB.

Después de obtener las acrofases de todos los días, se obtuvo el promedio \pm error estándar (SE), tanto de la línea base y del avance de la actividad locomotora y temperatura al cambio de horario en el protocolo. Enseguida se procedió a hacer un mapa de acrofases de todas las ratas, utilizando la media de estas como indicadores. Las gráficas se realizaron con el programa Sigma Plot versión 11.

Análisis estadístico

Para el estudio cuantitativo, se realizó una comparación de la velocidad de re-sincronización de los animales, utilizando el promedio de las acrofases de la actividad locomotora y temperatura en cada condición experimental. Se utilizó la distribución t-Student para muestras independientes para determinar si hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), entre la media de la acrofase de los días transitorios (los días necesarios para la re-sincronización al nuevo ciclo L-O) después 6PA-LD y la nueva fase esperada (N-ZT) después del avance. Este valor es el punto temporal donde se espera el pico máximo o acrofase después de la manipulación. La nueva fase esperada se calculó restando 6 horas a la media de la acrofase de la línea base. Los días en los que la acrofase tanto de la actividad locomotora o temperatura fue diferente significativamente de la nueva fase esperada, se consideraron los ciclos transitorios. Un animal está re-sincronizado cuando no hay diferencias significativas entre la acrofase media diaria del avance y la nueva fase esperada.

Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa de estadística "Statistica, versión 8".

RESULTADOS

Etapas alimento y avance de fase

En esta etapa se determinó la efectividad del acceso al alimento durante la nueva fase de oscuridad o bien durante la fase de oscuridad previa (12hrs), simultáneas a un avance de fase de 6 horas (jet- lag) en la re-sincronización de ritmos conductuales y de temperatura (Objetivo1). Para lo cual se obtuvieron los actogramas y los mapas de acrofases de los siguientes grupos:

- Control.
- Jet- lag y alimento durante la fase de oscuridad del ciclo L-O de su línea base.
- Jet- lag y alimento durante la fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O.

En el siguiente actograma de actividad locomotora de una rata del grupo control (Figura 15A) se observó un ritmo claro sincronizado al ciclo L-O durante la línea base: la mayor cantidad de actividad se presentó durante la noche (recuadro negro) y la menor actividad en su fase de reposo durante el día (recuadro blanco). Después del 6PA-LD se observaron varios días de transición (ciclos transitorios). La actividad locomotora requirió de 9 ciclos transitorios para llegar a la nueva fase esperada y la temperatura tardó 8 días en re-sincronizarse ($p < 0.05$, t de Student; Figura 15 B y C). Durante la línea base y el 6PA-LD la alimentación fue *ad- libitum*.

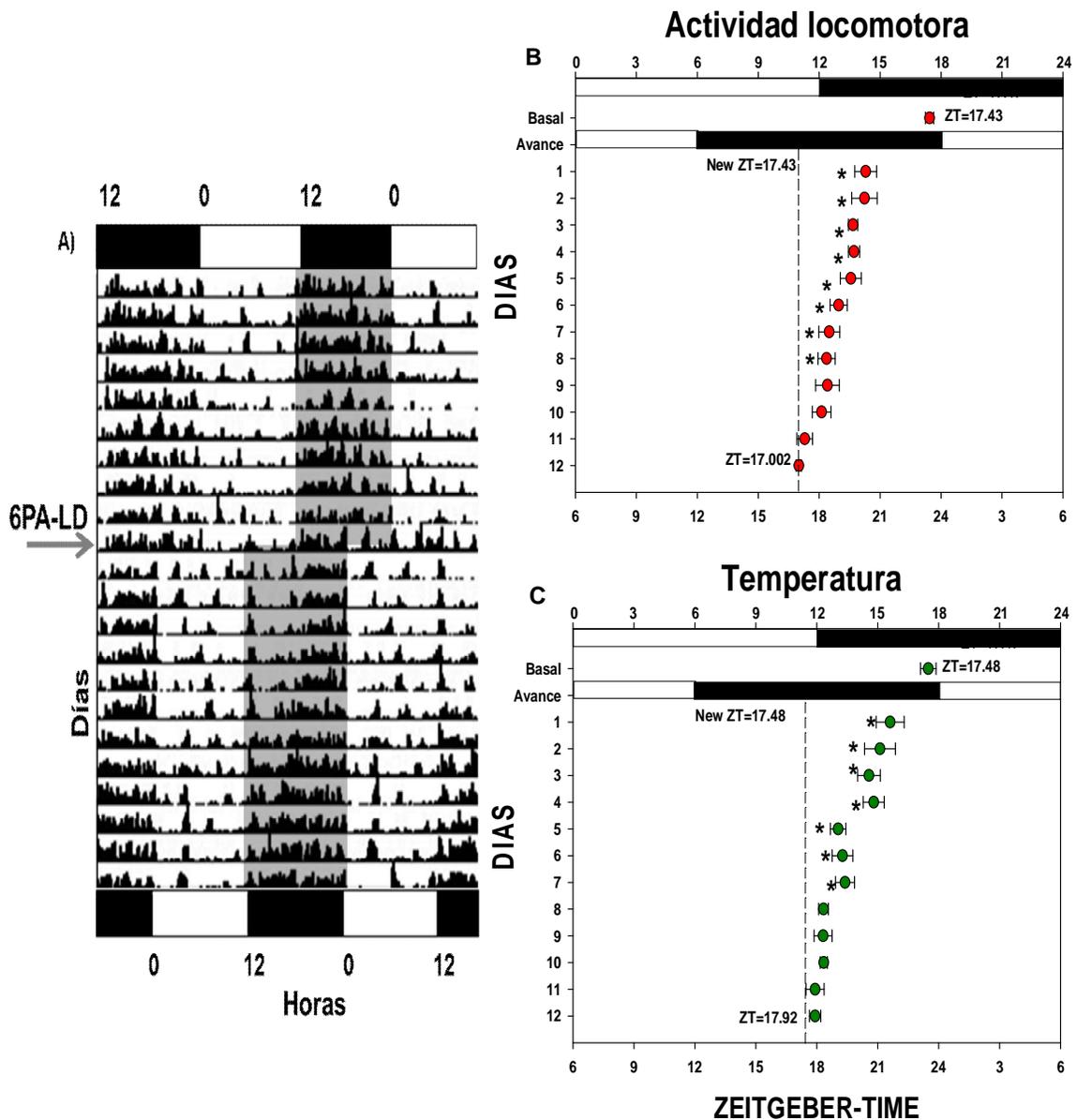


Figura 15. Actograma de la actividad locomotora del grupo control, con alimento ad-libitum y 6PA-LD (A). Mapa de acrofases \pm SE de la actividad locomotora (B), y temperatura (C). La línea base se encuentra en la parte superior derecha. Se representa el 6PA-LD con una flecha. Los rectángulos blancos representan la fase de luz y los negros la fase de oscuridad. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas comparado con la nueva ZT esperada (punto temporal donde se espera el pico máximo o acrofase después de la manipulación, línea punteada) y el promedio de las acrofases $*=p<005$

Los grupos experimentales jet-lag y alimento durante la fase de oscuridad del ciclo L-O de su línea base (Figura 16A) o alimento durante su fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O (Figura 17A) mostraron ritmos sincronizados al ciclo L-O. Después 6PA-LD, la actividad locomotora en el grupo donde el alimento se entregó en la fase de oscuridad de la línea base (Figura 16B) no muestra sincronización de las acrofases ya que tardó más de 12 ciclos transitorios para re-sincronizarse, mientras que la temperatura requirió 11 ciclos transitorios ($p < 0.05$, t de Student). Cabe mencionar, que después de interrumpir el protocolo de alimentación las ratas fueron capaces de re-sincronizarse al nuevo ciclo L-O (datos no mostrados).

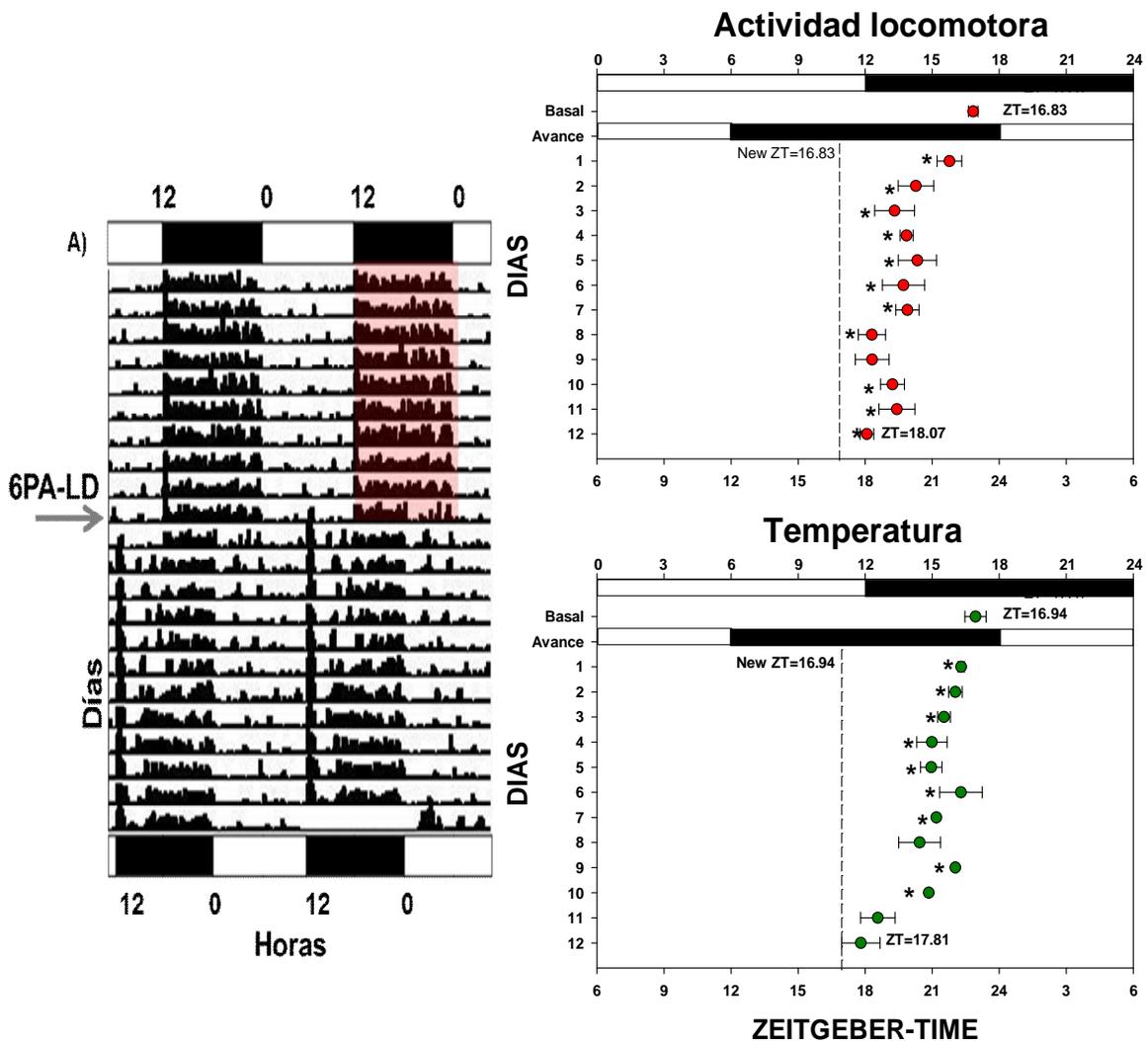


Figura 16. Actograma de la actividad locomotora del grupo alimento durante la fase de oscuridad del ciclo L-O de su línea base simultánea a un 6PA-LD (A). Mapa de acrofases \pm SE de la actividad locomotora (B), y temperatura (C). El recuadro rojo muestra el momento del acceso al alimento. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas comparado con la nueva ZT esperada (línea punteada) y el promedio de las acrofases $*=p < .005$

Para el grupo con alimento en la nueva fase de oscuridad, mostró su actividad re-sincronizada en 4 ciclos donde mostro actividad transitoria (Figura.17B), la temperatura (Figura.17C) tardó 3 días en re-sincronizarse ($p < 0.05$, t de Student).

El ajuste al nuevo ciclo L-O fue más rápido que en el grupo control y el grupo con alimento en la noche previa (véase Tabla 2).

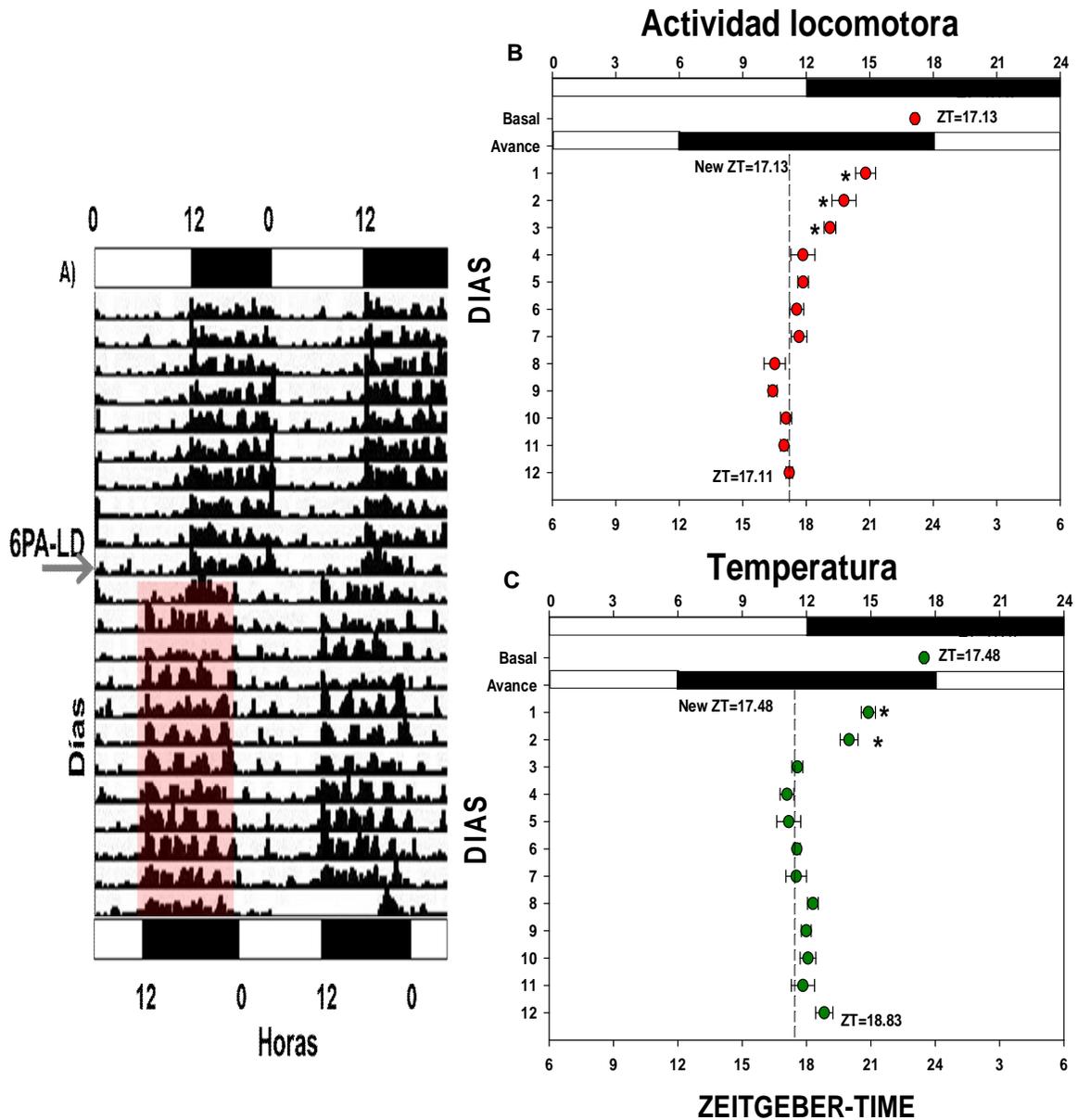


Figura 17. Actograma de la actividad locomotora del grupo alimento durante su fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O simultáneo a 6PA-LD (A). Mapa de acrofases \pm SE de la actividad locomotora (B), y temperatura (C). El recuadro rojo muestra el momento del acceso al alimento. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas comparado con la nueva ZT esperada (línea punteada) y el promedio de las acrofases $*=p < .005$

Etapa rueda y chocolate

En esta etapa se determinó si la re-sincronización es ocasionada por el efecto **metabólico**, generado por el alimento restringido por 12 horas al día. Mediante la entrega de alimento **apetitoso** (chocolate, 5g) se trató de eliminar el efecto metabólico. Por otro lado, utilizando el acceso a una rueda de actividad forzada (1hora) que simulo la actividad anticipatoria al inicio de la nueva fase de oscuridad simultáneo a un avance de fase de 6 horas (Objetivo 2). Para ello se observó el ritmo de actividad locomotora y el de temperatura, obteniendo actogramas y mapas de acrofases para los dos grupos.

Durante su línea base se observaron ritmos claros sincronizados al ciclo L-O en ambos grupos (ver Figuras 18A y 19A).

La actividad locomotora del grupo de actividad forzada en la rueda (Figura.18B) requirió 9 ciclos transitorios para llegar a la nueva fase esperada, y la temperatura (Figura.18C) tardó 10 días ($p < 0.05$, t de Student). Lo que indica que la actividad forzada no es suficiente para disminuir los ciclos de re-sincronización.

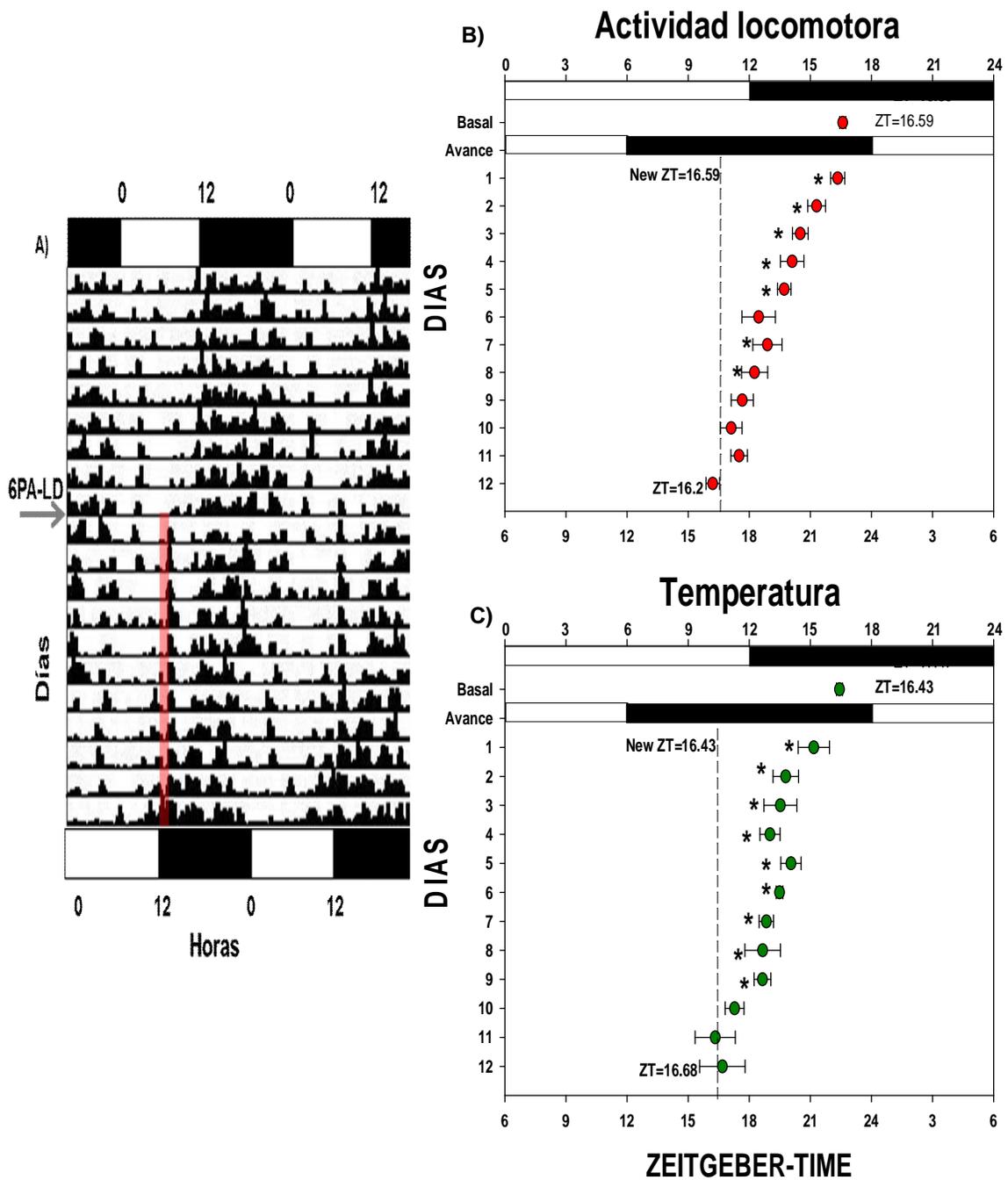


Figura 18. Actograma de la actividad locomotora del grupo con acceso a una rueda (1 hora) durante su fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O (A) simultáneo a 6PA-LD. Mapa de acrofases \pm SE de la actividad locomotora (B), y temperatura (C). El recuadro rojo muestra el momento del acceso a la rueda. Los asteriscos indican diferencias estadísticas significativas comparado con la nueva ZT esperada (línea punteada) y el promedio de las acrofases $*=p<.005$

El grupo con acceso a 5 gramos de chocolate en la nueva fase de oscuridad, su ritmo de actividad locomotora llegó a la fase esperada en 4 días (Figura. 19B) y el de temperatura (Figura.19 C) requirió 5 días ($p < 0.05$, t de Student). La re-sincronización de los ritmos de actividad locomotora y temperatura fue más rápida que en el grupo control.

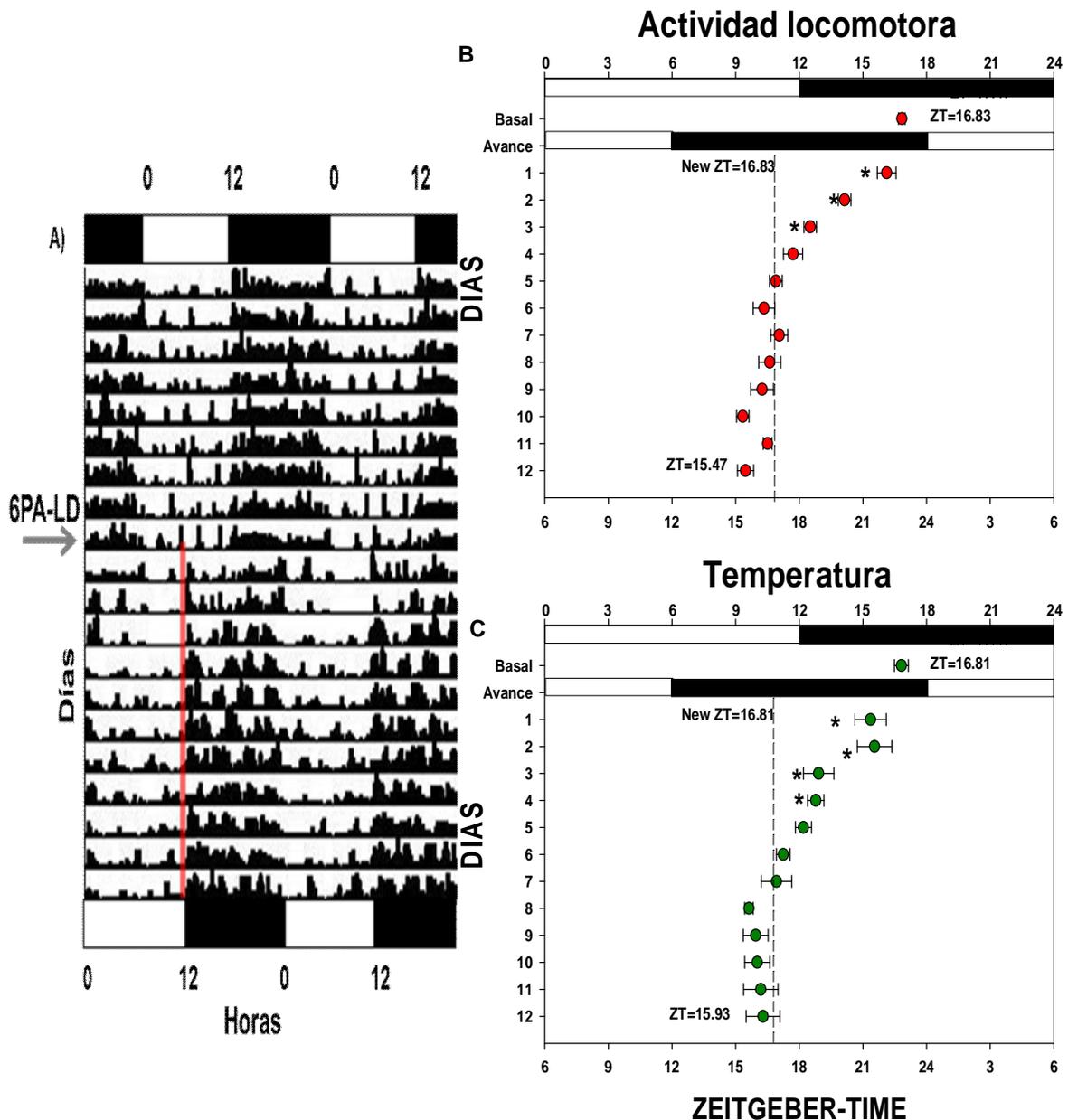


Figura 19. Actograma de la actividad locomotora del grupo con acceso a 5grs de chocolate durante su fase de oscuridad del nuevo ciclo L-O simultáneo a 6PA-LD (A). Mapa de acrofases \pm SE de la actividad locomotora (B) y temperatura (C). La línea roja muestra el momento del acceso al chocolate. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas comparado con la nueva ZT esperada (línea punteada) y el promedio de las acrofases $*=p < .005$

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos para la etapa 1 y 2, se observa claramente que los ritmos de actividad locomotora y temperatura necesitan aproximadamente el mismo número de días para re-sincronizarse en el grupo con alimento normal o chocolate en la nueva noche. Sin embargo, el grupo con alimento chow durante 12 horas en la fase de oscuridad de la línea base tardó más días en re-sincronizar su actividad locomotora y temperatura que el grupo control.

Tabla 2. *Días necesarios para la re-sincronización después de un avance de fase de 6 horas.*

	Alimento			Alimento sabroso	Arousal
	Ad-libitum	Noche previa	Nueva noche	Chocolate	Actividad en una rueda
Actividad locomotora	9	+12	4	4	9
Temperatura	8	11	3	5	10

DISCUSIÓN

Este estudio demuestra que la alimentación programada al inicio de la nueva fase de oscuridad simultánea a un avance de fase de 6 horas acelera la re-sincronización de los ritmos de actividad y temperatura. Estos resultados son similares a los reportados por Carneiro y Araujo (2011) y Ángeles-Castellanos *et al* (2011). En el primer estudio se hizo 6PA-LD y el alimento se entregó durante dos horas, de ZT17 a ZT19 (a la mitad de su nueva noche) mostrando que la alimentación programada efectivamente acelera la re-sincronización del ritmo circadiano de actividad (requirió 8 días aproximadamente; Figura. 20).

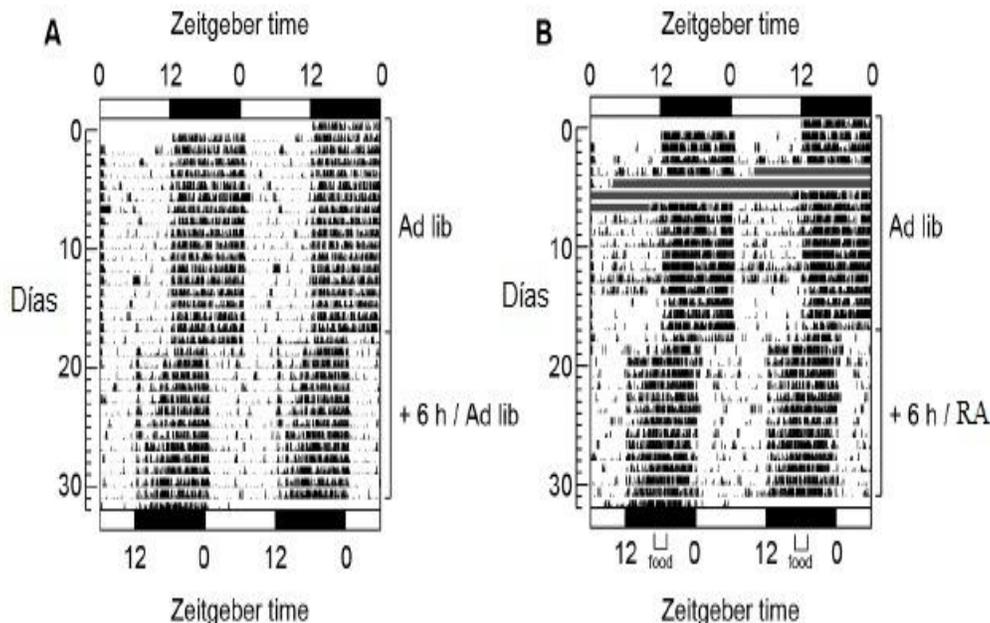


Figura 20. Actogramas en doble plot de los animales (A) Ad-libitum y (B) RA. En el día 19 el ciclo L-O se adelantó por 6 horas en ambos grupos, el grupo RA (B) sólo recibió comida durante dos horas (en medio de la fase de oscuridad), mientras el grupo control (A) tuvo comida ad-libitum (Tomada de Carneiro y Araujo, 2011).

Ángeles- Castellanos *et al.*, (2011) reportó que cuando el alimento se entrega durante dos horas simultáneo al 6PA- LD, la re-sincronización de los ritmos circadianos de temperatura y actividad son más rápidos que en el grupo control con alimentación *ad-libitum*.

Otro hecho es que cuando el alimento se entregó en la fase de oscuridad del ciclo L-O de la línea base, la re-sincronización se vio afectada, es decir, la actividad locomotora y la temperatura tardaron más días en re-sincronizarse en comparación con el grupo control. Sugiriendo que no es una buena estrategia para restablecer la ritmicidad en los individuos sometidos a jet-lag. Lo que hizo pensar que al tener dos señales tan importantes para el sistema circadiano como el alimento y el ciclo L-O en desfase una con otra, la luz deja de ser el sincronizador más dominante y compite con el alimento (Dallmann y Mrosovsky, 2006), generando un conflicto entre sincronizadores y generando una respuesta aberrante del sistema circadiano.

Con estos hallazgos podemos mencionar que el alimento puede modular la re-sincronización de los ritmos de actividad locomotora y temperatura controlados por el NSQ, en condiciones como el jet-lag (Ángeles-Castellanos *et al.*, 2011). La alimentación programada al inicio de la actividad genera una suma de respuestas en el sistema circadiano, la cual puede ocasionar una re-sincronización más rápida (alimento al inicio de la fase de oscuridad) o incluso evitar una sincronización (Carneiro y Araujo, 2011; Nagano *et al.*, 2003).

Se sabe que el alimento no es el sincronizador más efectivo para el NSQ. En un estudio realizado en ratones se encontró que bajo RA osciladores periféricos responden al alimento sin afectar la fase de expresión de genes circadianos en el reloj biológico en condiciones de L-O y O-O (Damiola *et al.*, 2000). Los genes reloj en el hígado y la corteza cerebral también responden al alimento, incluso cuando el NSQ está lesionado (Shibata *et al.*, 2010). Se ha reportado que bajo ciertas circunstancias el alimento puede afectar al reloj biológico, una de ellas es una dieta baja en calorías. Bajo esta condición hipocalórica posiblemente se altera el estado metabólico al generar un balance negativo de energía que afecta la función del NSQ (Challet y Mendoza, 2010). Otro hallazgo importante se observó con la entrega de chocolate en la nueva noche. Se encontró que los ritmos circadianos ya mencionados se re-sincronizan igual de rápido que el grupo con alimento normal en la nueva noche. Mendoza *et al* (2005) y Ángeles-Castellanos *et al* (2008) han reportado que en animales de laboratorio sometidos a la ingesta diaria de un alimento

apetitoso, muestran sincronización de sus ritmos conductuales y algunos fisiológicos. Lo novedoso de este estudio es que el chocolate se empleó como una estrategia de re-sincronización para el jet-lag. Descartamos que nuestros resultados se deban a un estado metabólico negativo, ya que nuestras ratas no fueron privadas de su dieta normal, esto sugiere que el componente motivacional tiene un papel importante en dicho proceso. El chocolate por su sabor y el alto valor hedónico con el que se le asocia puede motivar a ratas a consumirlo aun sin que se presente una necesidad metabólica (Barbano y Cador, 2005).

Aún se desconoce que componentes del chocolate pueden estar generando este efecto de re-sincronización. Algunos componentes que se han considerado se refieren a la calidad de los alimentos (sólidos y líquidos), el contenido de calorías, la cantidad de nutrientes contenidos y el sabor, por último la fisiología de la especie (Challet y Mendoza, 2010). Experimentos posteriores tendrán que llevarse a cabo para determinar el papel de los diversos componentes.

En un estudio reciente Mendoza *et al* (2010) reportó en ratones con acceso a chocolate un aumento de dopamina en el Nacc, en la corteza prefrontal y en el caudado-putamen en comparación con ratones alimentados con dieta normal (chow).

Como último punto el grupo con acceso a una hora de rueda en la nueva fase de oscuridad, tardó aproximadamente el mismo tiempo en re-sincronizarse que el control (véase Tabla.2). La rueda en la nueva noche y simultánea al 6PA-LD, no fue una señal tan poderosa como el chocolate o el alimento en la nueva noche para acelerar la re-sincronización de los ritmos circadianos de temperatura y actividad locomotora. Por lo tanto, rechazo mi hipótesis de que la re-sincronización de los ritmos de temperatura y actividad depende de la activación motora.

Los resultados de Dallmann y Mrosovsky (2006), de Ángeles-Castellanos (2011), Carneiro y Araujo (2011) y los reportados aquí demuestran lo

importante que es programar un estímulo en la fase apropiada del ciclo L-O, ya que en momentos inadecuados pueden retardar la re-sincronización.

En el estudio de fenómenos como el jet-lag se buscan estrategias que puedan acelerar el ajuste al nuevo horario, en casos donde la gente permanece por un período largo en el nuevo horario. Por otro lado, bajo ciertas circunstancias, puede ser adecuado retrasar la re-sincronización, por ejemplo, personas que viajen constantemente. Esto podría ayudar a mantener un tiempo interno estable y así evitar la desincronización interna (Dallmann y Mrosovsky, 2006) .

CONCLUSIONES

La entrega de alimento programado en la nueva fase de oscuridad simultánea a un 6PA-LD, es una buena estrategia para acelerar la re-sincronización de ritmos circadianos de actividad locomotora y temperatura, en comparación con el grupo control. Sin embargo, cuando el alimento programado entra en conflicto con el tiempo interno impide la re-sincronización de ritmos circadianos; es decir, cuando la entrega de alimento se programó en la fase de oscuridad del ciclo L-O de la línea base simultánea a un avance de fase (jet- lag), evidenciando probablemente la influencia de osciladores periféricos afectados por el alimento.

Este estudio indica que el chocolate es suficiente para acelerar la re-sincronización de ritmos circadianos y el mecanismo de este fenómeno no es dependiente de un estado metabólico negativo, señalando la importancia del componente motivacional en dicho proceso.

Estos resultados proporcionan evidencia para afirmar que el alimento normal o apetitoso (chocolate) coinciden con la fase de oscuridad simultánea a un 6PA-LD, la re-sincronización de los ritmos de actividad locomotora y temperatura es en pocos ciclos.

Se ha reportado que el alimento es un potente sincronizador de órganos periféricos pero no del NSQ. Un alimento sabroso puede modificar la actividad del reloj biológico, sin ser privados de su dieta normal en ratas (Mendoza *et al.*, 2005) y ratones (Mendoza *et al.*, 2010), en cambio bajo ciertas condiciones de restricción de alimento (dieta hipocalórica) se afecta al NSQ. A nivel molecular se ha reportado que Per1 puede ser sensible al paradigma de restricción de alimento y comidas apetitosas. Per2 parece ser sensible sólo a las señales metabólicas, considerando este el mecanismo molecular a la sincronización de alimento (Challet y Mendoza, 2010).

Además se encontró que el arousal generado mediante el acceso a una rueda de actividad forzada no influye en la velocidad de re-sincronización de los ritmos de actividad y temperatura.

En resumen este trabajo permitió estudiar la interacción de estímulos fóticos (ciclo L-O) y no fóticos (alimento normal o apetitoso, y la rueda de actividad). Encontrando que los ritmos de comportamiento y fisiológicos se re-sincronizan más rápido cuando los estímulos no fóticos se programan en una fase apropiada del ciclo L-O, como fue el caso del chocolate y el alimento.

Para estudios posteriores proponemos estudiar estructuras que participan en los mecanismos de sincronización de cada sincronizador; para analizar posibles cambios que ocurran bajo cada una de estas condiciones experimentales. El propósito es un estudio completo sobre las diferentes estrategias que se sugieren en el jet-lag, ya que se conoce que los diferentes órganos periféricos y estructuras cerebrales pueden tener una tasa de re-sincronización distinta (Dallmann y Mrosovsky, 2006).

REFERENCIAS

Abizaid, A., Gao, Q., & Horvath, T. (2006). Thoughts for Food: Brain Mechanisms and Peripheral Energy Balance. *Neuron*, 691-702.

American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders, revised: Diagnostic and coding manual. Chicago, Illinois: *American Academy of Sleep Medicine*, 2001.

Ángeles -Castellanos, M., Rodríguez, K., Salgado , R., & Escobar, C. (2007). Cronobiología médica. Fisiología y Fisiopatología de los ritmos biológicos. *Revista de la Facultad de Medicina, UNAM*, 50(6), 238-241.

Angeles-Castellanos M, Salgado-Delgado R, Rodriguez K, Buijs RM. Escobar C. (2008). Expectancy for food or expectancy for chocolate reveals timing systems for metabolism and reward. *Neuroscience*; 155: 297–307.

Ángeles-Castellanos, A. M. (2004). *Identificación de un sustrato anatómico en el sistema nervioso central que responde a la sincronización por alimento*. Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias. UNAM.

Ángeles-Castellanos, M., Amaya, J., Salgado- Delgado, R., Buijs, R., & Escobar, C. (2011). Scheduled Food Hastens Re-Entrainment More Than Melatonin Does after a 6-h Phase Advance of the Light-Dark Cycle in Rats. *Journal of Biological Rhythms*, 324-334.

Ángeles-Castellanos, M., Rodríguez, K., Salgado- Delgado, R., & Escobar, C. (2007). Anatomía de un reloj. *Arch Mex Anat Nueva Epoca*, 2(1): 15 -20.

Aréchiga. (2003). Sustrato neural de los ritmos biológicos. *Revista de Neurología.*, 49-60.

Arendt, J. (2009). Managing jet lag: Some of the problems and possible new solutions. *Sleep Medicine Reviews*, 249-256.

Aschoff, J. (1981). A survey on biological rhythms. *Biological Rhythms*; Vol. 4 of handbook of behavioral neurobiology, edited by Ashoff Jürgen. Plenum Press, New York: 3-11.

Aston-Jones Gary, Sheng. C., Yan Z., Oshinsky M. (2001). A neural circuit for circadian regulation of arousal. *Nature neuroscience*, 4(7), 732-738.

Barbano, F., y Cador, M. (2005). Various Aspects of Feeding Behavior Can Be Partially Dissociated in the Rat by the Incentive Properties of Food and the Physiological State. *Behavioral Neuroscience*, 1244-1253.

Benyon, S. (1999). *Lo esencial en Metabolismo y nutrición*. España: Harcourt.

Berridge, K., & Robinson, T. (2003). Parsing Reward. *Trends in Neurosciences*, 26(9): 507-513.

Berthoud, H.-R. (2004). Mind versus metabolism in the control of food intake and energy balance. *Physiology & Behavior*, 781-793.

Blum, I., Waddington Lamont, E., & Abizaid, A. (2012). Competing clocks: Metabolic status moderates signals from the master circadian pacemaker. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 254-270.

Boulos Z., Macchi M., Sturchler M., Stewart K., Brainard G., Suhner A, et al. (2002) Light visor treatment for jet lag after westward travel across six time zones. *Aviation Space and Environmental Medicine*; 73:953-963.

Boulos, Z., & Terman, M. (1979). Food Availability and Daily Biological Rhythms. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 221-231.

Cardinali, D., Furio, A., & Brusco, L. (2011). The use of chronobiotics in the resynchronization of the sleep/wake cycle. Therapeutical application in the early phases of Alzheimer's disease. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery*, 80-90.

Carneiro, B & Araujo, J. (2011). Influence of scheduled restricted feeding on reentrainment of motor activity rhythm after a 6-h light–dark advance in rats. *Psychology & Neuroscience*, 317-322.

Cassone, V, Chesworth, M y Armstrong, S (1986). Dose dependent entrainment or rat circadian rhythms by daily injections of melatonin. *Journal of Biological Rhythms*, 219-229.

Challet , E., & Mendoza, J. (2010). Metabolic and reward feeding synchronises the rhythmic brain. *Cell Tissue Res*, 1-11.

Choy, M., & Salbu, R. (2011). Jet- Lag. Current and Potential Therapies. *P&T*, 36(4), 221-231.

Dallmann, R., & Mrosovsky, N. (2006). Scheduled wheel access during daytime: A method for studying conflicting zeitgebers. *Physiology & Behavior*, 459-465.

Damiola, F., Le Minh, N., Preitner, N., Kornmann, B., Fleury-Olela, F. & Schibler, U. (2000). Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes and Development*, 14(23): 2950-2961.

Davidson, A.J., Cappendijk, S.L., Stephan, F.K. (2000). Feeding-entrained circadian rhythms are attenuated by lesions of the parabrachial region in rats. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 278, R1296–R1304.

De Lecea, L., Carter, M., & Adamantidis, A. (2012). Shining Light on Wakefulness and Arousal. *Biological Psychiatry*, XX-XXX.

Dunlap, J.C., Loros, J.J., De Coursey, P.J. (2004). Chronobiology: Biological Timekeeping. Sinauer Associates.

Escobar, C., & Ángeles- Castellanos, M. (2006). Fisiología de los osciladores periféricos. Sincronización por alimento. En J. A. Madrid Pérez, & R. d. Ángeles, *Cronobiología básica y clínica* (pág. 860). Madrid: Editeca red.

Escobar, C., & Ángeles -Castellanos, M. (2007). El tiempo para comer. *Ciencia*, 32- 38.

Escobar, C., Ángeles- Castellanos, M., Miñana, M., Salgado, R., & Rodríguez, K. (2007). Hedonismo y reforzadores primarios. En Juaréz., J, *Neurobiología del hedonismo* (págs. 37-51). México: Manual moderno.

Escobar, C., Martínez- Merlos, M. T., Ángeles, M., & Mendoza, J. Y. (2001). El alimento como sincronizador de los ritmos biológicos: su relevancia para la identificación de un oscilador circadiano. *Revista de la Facultad de Medicina, UNAM*, 58-62.

Giordano, M. (2007). El estriado dorsal y ventral: la interfase entre cognición. Motivación y acción. En Juaréz., J, *Neurobiología del hedonismo* (págs. 1-20). México: Manual moderno.

Golombek, A & Rosenstein, R. (2010). Physiology of Circadian Entrainment. *Physiol Rev*, 90: 1063-1102.

Gruart, A., Delgado, J. M., Escobar, C., & Aguilar, R. (2002). *Los relojes que gobiernan la vida*. México: Fondo de cultura economica.

Hannibal, J. (2006). *Neuronal input pathways to the brain's biological clock and their functional significance / Jens Hannibal, Jan Fahrenkrug*. Berlin: Springer. <http://dx.doi.org/10.1007/3-540-27789-7>.

Hara R, Wan K, Wakamatsu H, Aida R, Moriya T, Akiyama M, Shibata S. (2001). Restricted feeding entrains liver clock without participation of the suprachiasmatic nucleus, *Genes Cells*, 6:269–278.

Herxheimer, A., & Petrie, K. (2002). Melatonin for the prevention and treatment of jet lag. *Cochorane Database of Systematic Reviews*, 2: Art. No: CD001520.DOI:10.1002/14651858.CD001520.

Holmes, M., & Mistlberger, R. (1999). Food anticipatory activity and photic entrainment in food- restricted BALB/c mice. *Physiology & behavioral*, 655-666.

Jones, B. (2003). Arousal Systems. *Frontiers in Bioscience*, s438-s451.

Jones, B. (2004). Modulation of Cortical Activation and Behavioral Arousal by Cholinergic and Orexinergic Systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*.

Jud, C., Schmutz, I., Hampp, G., Oster, H., & Albrecht, U. (2005). A guideline for analyzing circadian wheel- running behavior in rodents under different lighting conditions. *Biological Procedures*, 7(1): 101-116.

Martínez , H. (2007). Conducta alimentaria y hedonismo. En Juaréz., J, *Neurobiología del hedonismo* (págs. 53- 73). México: Manual moderno.

Mendoza, J. (2009). Neurobiología del sistema circadiano: su encuentro con el metabolismo. *Suma Psicológica*, 16(1), 85-95.

Mendoza, J., Ángeles-Castellanos, M. & Escobar, C. (2005). A daily palatable meal without food deprivation entrains the suprachiasmatic nucleus of rats. *European Journal of Neuroscience*, 22(11): 2855-2862.

Mendoza, J., Clesse, D., Pévet , P., & Challet , E. (2010). Food-reward signalling in the suprachiasmatic clock. *Journal of Neurochemistry*, 1489-1499.

Mistlberger, R. (2011). Neurobiology of food anticipatory circadian rhythms. *Physiology & Behavior*, 535-545.

Moore, R, Eichler, M. (1972). Loss of circadian corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, 201-206.

Moore, R., & Card, P. (s.f.). Visual pathways and the entrainment of circadian rhythms. *Annals new york academy of sciences*, 125-133.

Moore-Ede, M. C., Sulzman, F. M. y Fuller, C. A (1982). *The clocks that time us*. Cambridge: Harvard University Press.

Nagano, M., Adachi, A., Nakahama, K., Nakamura, T., Tamada, M., (2003). An abrupt shift in the day/night cycle causes desynchrony in the mammalian circadian center. *Journal of Neuroscience*, 6141-6151.

Ortiz-Tudela, E., Bonmatí-Carrión, M., & De la Fuente, M. (2011). La cronodisrupción como causa de envejecimiento. *Revista Española de Geriátria y Gerontología*. doi:10.1016/j.regg.2011.09.013.

Pittendrigh C.S. (1981). Circadian Systems: Entrainment. *Biological Rhythms*; Vol 4 of handbook of behavioral neurobiology, edited by Ashoff Jürgen. Plenum Press, New York: 95-125.

Ralph, M. Foster, R., Davis F., & Menaker, M. (1990). Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science*, 975-978.

Redfern. (1989). Jet- lag: Strategies for Prevention and Cure. *Human Psychopharmacology*, 4: 159-168.

Reebs SG, Mrosovsky N. (1989). Effects of induced wheel running on the circadian activity rhythms of Syrian hamsters: entrainment and phase response curve. *Journal Biological Rhythms*, 4(1): 39- 48.

Rodríguez, Katía. (2007). Caracterización del patrón conductual y de la actividad neuronal en ratas sincronizadas por alimento regular y apetitoso. Tesis para obtener el título de licenciada en Psicología.

Rose, K. J. (1992). El cuerpo humano en horas. En K. J. Rose, *El cuerpo Humano. Una máquina precisa* (págs. 115-144). México: Limusa.

Sack, R. (2009). The pathophysiology of jet- lag. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 102-110.

Salazar, A., Parra, L., Barbosa, S., Leff, P., & Antón, B. (2006). Sincronización luminosa. Conceptos básicos. Primera parte. *Salud Mental*, 11-17.

Salazar-Juaréz, A., Parra- Gaméz, L., Barbosa, S., Leff, P., & Antón, B. (2007). Sincronización no-luminosa: ¿Otro tipo de sincronización) Primera parte. *Salud Mental*, 30(3):39-47.

Salgado, Delgado, R. C. (2009). *Influencia de horarios restringidos de alimento en un modelo animal de trabajo nocturno*. Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias. UNAM.

Salgado, R., Fuentes, B., & Escobar, C. (2009). La desincronización interna como promotora de enfermedad y problemas de conducta. *Salud Mental*, 32(1): 69-76.

Shibata, S., Hirao, A., & Tahara, Y. (2010). Restricted feeding-induced entrainment of activity rhythm and peripheral clock rhythm. *Sleep and Biological Rhythms*, 18-27.

Schibler, U., Ripperger, J. & Brown, S. A. (2003). Peripheral circadian oscillators in mammals: time and food. *Journal of Biological Rhythms*, 18(3): 250-260.

Schwartz, W. (2009). Circadian Oscillations in the Suprachiasmatic Nucleus. En *Encyclopedia of Neurosciencie*. Elseveir.

Schwartz, W., Gross, R., Morton., M. (1987). The suprachiasmatic nuclei contain a tetrodotoxin resistant circadian pacemaker. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1694-1698.

Snell, R. (2010). *Neuroanatomía clínica*. Barcelona: Lippincott Williams y Wolters Kluwer.

Solomon, A, & Martínez, JA. (2006). Participación del sistema nervioso y del tracto gastrointestinal. *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*, 27-37.

Staels, B. (2006). When the Clock stops ticking, metabolic syndrome explodes, *Nat. Med.* 12:54-55.

Stephan, F. (1992). Resetting of a Feeding- Entrainable Circadian Clock in the Rat. *Physiology & Behavior*, 985-995.

Stephan, F., & Becker, G. (1989). Entrainment of Anticipatory Activity to Various Durations of Food Access. *Physiology & Behavior*, 731-741.

Takenouchi, K., Nishijo, H., Uwano, T., Tamura, R., Takigawa, R., & Ono, T. (1999). Emotional and behavioral correlates of the anterior cingulate cortex during associative learning in rats. *Neuroscience*, 1271-1287.

Valdez, P. (2009). *Cronobiología. Respuestas Fisiológicas al Tiempo*. Monterrey: Universidad Nacional Autónoma de Nuevo León.

Vasconcelos, Rios, E. R., Teles, Veancio, E., Moura, Rocha, N. F., John, Woods, D., Vasconcelos, S., & Macedo, D. FLoreno de Sousa, F.C., De Franca Fonteles, M. Ma. (2010). Melatonin: Parmacological Aspects and Clinical Trends. *International Journal of Neuroscience*, 583-590.

Venkataramanujan, Srinivasan, D. Warren Spence, Seithikurippu R. Pandi-Perumal, Ilya Trakht, Daniel P. Cardinali. (2008). Jet –lag: Therapeutic use of

melatonin and possible application of melatonin analogs. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 6:17-28.

Waterhouse, J. (1999). Jet-lag and shift work: (1) circadian rhythms. *Journal of The Royal Society of Medicine*, 92, 398-401.

Waterhouse, J., Reilly, T., & Atkinson, G. (1997). Jet- lag. *The Lancet*, 1609-1614.

Waterhouse, J., Reilly, T., Atkinson, G., & Edwards, B. (2007). Jet lag: trends and coping strategies. *Lancet* , 1117-1129.

Welsh, D., Logothetis, D., Meister, M., Reppert, S. (1995). Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron*, 697-706.

Williams, G., Harrold, J., & Cutler, D. (2000). The hypothalamus and the regulation of energy homeostasis: lifting the lid on a black box. *Proceedings of the Nutrition Society*, 385-396.

Yamaguchi, S., Isejima, H., Matsuo, T., Ohura, R., Yagita, K., Kobayashi, M., Okamura, H. (2003). Synchronization of cellular clocks in the suprachiasmatic nucleus. *Science*, 1408-1412.

Yannielli P, Harrington ME (2004). Let there be "more" light: enhancement of light actions on the circadian system through non-photoc pathways. *Progress in Neurobiology*, 74(1):59-76.