

## Influencia del ciclo luz-oscuridad en el crecimiento de ratas macho con diferente estado de nutrición

Cecilia Sommer Finkelman<sup>1</sup>, José Monroy-Ruíz<sup>2</sup>, Patricia Candelaria Silva<sup>3</sup> y Patricia de Gortari Gallardo<sup>4</sup>

México D.F.

**RESUMEN.** El ciclo de luz-oscuridad influye en el mecanismo lipostático de los animales superiores, provocando una mayor síntesis de lípidos en el período de oscuridad (para los animales nocturnos) y una tasa más alta de lipólisis durante la etapa de reposo. Este ciclo, y la restricción de alimentos influye en el ciclo de sueño-vigilia del animal. La hormona del crecimiento es un mensajero que favorece la lipólisis y la utilización de la energía generada en esta vía para la síntesis de proteínas, liberándose durante la pubertad, y en los períodos de sueño profundo (de onda lenta) de los sujetos. Modificando el ciclo de luz oscuridad y en consecuencia el de sueño-vigilia, y el consumo de alimento, se pretende estudiar su influencia sobre la velocidad de crecimiento en talla y peso de los animales con un 100 % de requerimientos cubiertos; pretende discriminar si el ciclo alterado en los animales desnutridos revierte la deficiencia en la velocidad de crecimiento esperada en este grupo.

Ratas Wistar macho (160) de 21 días de nacidas se adaptaron a las condiciones del bioterio y se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos: Grupo I= Bien alimentados (100 % de sus requerimientos cubiertos) y ciclo de luz-oscuridad 12h-12h; Grupo II= Bien alimentadas y con un ciclo 18h-6h; Grupo III= Desnutridas (50 % de sus requerimientos cubiertos) y ciclo 12h-12h; Grupo IV= Desnutridas y ciclo 18h-6h. Se pesaron y midieron semanalmente; se obtuvieron sus velocidades de crecimiento y los resultados se sometieron a un análisis de varianza y a contrastes ortogonales.

Se encontró una diferencia significativa en la velocidad de crecimiento en peso entre los Grupos I y II; la curva de crecimiento en peso correspondiente al Grupo III tiene una velocidad mayor a la del IV, pero no existe diferencia significativa. La velocidad de crecimiento en talla no presentó diferencia significativa entre los grupos I y II y los grupos III y IV. La ganancia final de peso de las ratas desnutridas con relación a sus grupos control representó el 55 % para las de ciclo normal y 47 % para el grupo IV. En cuanto a la talla las ratas del Grupo III presentaron un 90 % de la talla de los animales del Grupo I y el Grupo IV presentó un 82 % de la talla de los animales del Grupo II.

El ciclo de luz-oscuridad modificado favorece un aumento en la velocidad de crecimiento en peso en animales bien alimentados. Esto no sucede en los animales desnutridos. Los hábitos alimentarios de las ratas se modifican con el ciclo 18h-6h de luz-oscuridad.

**SUMMARY.** Effect of the light-dark cycle over the male rats growth under different nutrition conditions. The light-dark cycle exerts an influence over the lipostatic mechanism in the superior vertebrate animals promoting an acceleration in the lipid synthesis rate during the dark period (in the case of rodents) and a higher lipolytic rate during the day. This cycle, the feeding habits, and the awake-sleep cycle are synchronized. The Growth Hormone is a molecule that facilitates the lipolysis and the protein synthesis. This hormone is released, by the pituitary gland, during the puberty and during the short wave sleep period. Modifying the light-dark cycle and in consequence the sleep-awake cycle and the food consumption, we pretend to study its influence over the growth rate in weight and length in animals that consume 100% of its nutritional requirements. Also want to elucidate if an alteration of the cycle (18h light 6h dark) in the malnourished animals can revert the deficiency of the growth rate expected in these animals.

Male Wistar rats (160), 21 days old, adapted to the temperature and to the light-dark cycle (12h-12h) during a week. Then, four groups were formed: Group I: Well nourished rats with a light-dark (12h-12h) cycle; Group II: Well nourished rats with a light-dark (18h-6h) cycle; Group III: Malnourished rats with a light-dark (12h-12h) cycle; Group IV: Malnourished rats with a light-dark (18h-6h) cycle. Its length and weight were registered weekly, obtained its growth rates, and the results were analysed by the ONE-WAY ANOVA and orthogonal contrasts.

It was found a significant difference in the growth rate in weight between the Groups I and II; the growth rate in weight in the Group III had a higher slope than the rate in the Group IV but we did not find a significant difference. The growth rate in length did not show a significant difference between the Groups III and IV.

The last weight in the malnourished animals represented 55% of the control animals last weight; and 47% of the Group IV. The last length of the animals of the Group III represented 90% of the control value, and the last length in the Group IV represented 82% of the control animals value.

The feeding habits are modified changing the cycle to 18h light and 6h dark. Modifying the light-dark cycle appears an accelerating rate in the growth rate in weight in the well nourished animals, but not in the malnourished ones.

### INTRODUCCION

El crecimiento es el aumento en talla y/o en peso con respecto al tiempo (1). Puede deberse al cambio en el número o en el tamaño de las células por la prevalencia del anabolismo en un individuo. En cambio, el desarrollo implica no sólo el aumento de células sino la comunicación entre ellas, y la integración con las funciones que realizan (2).

Para el crecimiento y el desarrollo de un individuo, es necesaria la participación de las hormonas que regulan el metabolismo, la liberación de los mensajeros que permiten la comunicación intercelular y de los factores de crecimiento que favorecen la síntesis de tejido.

1 Licenciado en Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Departamento de Ciencias de la Nutrición y de los Alimentos. Universidad Iberoamericana. México D.F.

2 Profesor-Investigador Titular. Departamento de Ciencias de la Nutrición y de los Alimentos. Universidad Iberoamericana. México D.F.

3 Investigador Asociado. Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional. México D.F.

4 Profesor-Investigador Titular. Departamento de Ciencias de la Nutrición y de los Alimentos. Universidad Iberoamericana. México D.F.

Entre las hormonas que participan en estos procesos están la hormona del crecimiento (HC), y los factores de crecimiento insulínicos (FIC) (3). La hormona del crecimiento se secreta a lo largo de toda la vida del ser humano, y de los mamíferos en general, pero se ha encontrado una síntesis y liberación mayores durante la etapa de aceleración del crecimiento (pubertad o adolescencia) (4). Su síntesis y liberación está regulada por la hipófisis bajo la influencia del hipotálamo a través de la hormona liberadora de la tirotrópina (TRH) (5). Indirectamente su liberación puede estimularse por la ingestión de dietas con un alto contenido de proteínas (más de 8 %) (6,7), por la hipoglicemia provocada por la secreción de insulina (8) sobre todo en la adolescencia y en los períodos de sueño profundo o de onda lenta de los individuos (9). La HC en estas condiciones, favorece la lipólisis y la utilización de la energía generada en esta vía para la síntesis de proteínas (8). En estas condiciones el animal presenta saciedad, mayor tiempo de reposo y es factible que utilice los nutrimentos para formación de tejido y crecer.

La secreción de HC sigue un ritmo ultradiano (10) y está asociada a los ciclos de sueño-vigilia que están regulados por el sistema cerebral que produce y libera serotonina (5-HT) (11). A su vez estos ciclos tienen influencia de factores ambientales como los períodos de luz-oscuridad y la restricción de nutrimentos (12).

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente estudio fue definir el efecto del ciclo de luz-oscuridad en la velocidad de crecimiento tanto en peso como en la talla de animales nocturnos cuya dieta cubrió el 100% de sus requerimientos. Determinar el efecto de la desnutrición en la sincronización que tiene el ciclo de luz-oscuridad con el patrón de sueño vigilia y con los patrones de alimentación. Y también pretende discriminar si la alteración del ciclo de luz oscuridad en los animales desnutridos revierte en alguna medida la deficiencia en la velocidad de crecimiento esperada en este grupo.

**MATERIAL Y METODOS**

Se utilizaron 160 ratas Wistar macho de 21 días de nacidas recién destetadas provenientes de los bioterios del CINVESTAV (Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México). Los animales fueron pesados para conocer su estado inicial encontrándose en el peso recomendado (13). Fueron transportados al bioterio de la Universidad Iberoamericana, divididos en cuatro grupos de 20 individuos cada uno más una réplica del mismo tamaño para cada caso. Tuvieron un período de adaptación de una semana, tomando en cuenta la condiciones de las que venían, 23 grados centígrados y un ciclo de luz-oscuridad de 12-12 hrs., y alimentados *ad libitum*, utilizando una ración comercial (PMI Feeds, Inc. Formulab 5008); con la siguiente composición: 48 % de carbohidratos, 24 % de proteínas, 1 0% de humedad, 7 % de lípidos, 7 % de cenizas y 4 % de fibra.

Después del período de adaptación cada grupo fue llevado a las condiciones de trabajo. En la Tabla 1 se pueden ver los grupos formados.

**TABLA 1**  
Grupos de animales y condiciones experimentales

Ciclo Luz-oscuridad	100% del alimento demandado	50%
12-12 hrs	Grupo I	Grupo III
18-06 hrs	Grupo II	Grupo IV

Los grupos I y II fueron alimentados *ad libitum* registrándose la cantidad de alimento ofrecida por individuo y la cantidad promedio consumida, con el fin de brindar sólo el 50 % del alimento consumido por estos dos grupos a los grupos III y IV. Los ajustes en la cantidad de alimento se realizaron semanalmente. Con la misma frecuencia las ratas fueron medidas y pesadas durante 10 semanas, que fue el tiempo de duración del estudio.

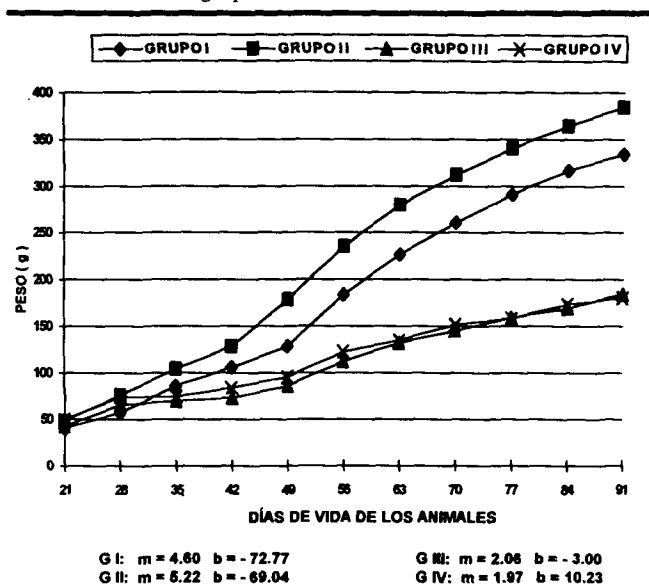
Debido a que el tiempo de duración del estudio no corresponde a la edad en que el crecimiento en talla y peso se estabiliza totalmente, se realizaron regresiones lineales con el fin de obtener la velocidad de crecimiento (pendiente de la ecuación de la recta), siempre y cuando el modelo fuera significativo  $p < 0.05$ , esto implica que el coeficiente de regresión de Pearson y el número de observaciones fueran adecuados (14).

Las pendientes de cada grupo se usaron como variable de respuesta y fueron analizadas mediante un análisis de varianza en una dirección (ANDEVA-1), usando cada grupo como tratamiento. La discriminación entre cada grupo cuando existió diferencia, se realizó mediante contrastes ortogonales (15).

**RESULTADOS Y DISCUSION**

Los animales del Grupo I en el estudio mostraron una curva de crecimiento similar a la reportada previamente (Figuras 1 y 2) (13). Presentaron un patrón de alimentación sincronizado al ciclo de luz-oscuridad, es decir, comieron más frecuentemente durante la noche (período de vigilia en animales nocturnos) y menos frecuentemente durante el día. Llegando a consumir durante la noche el 70 % del alimento ofrecido (8).

**FIGURA 1**  
Curvas de crecimiento en peso de los cuatro grupos de ratas estudiados



Al alterar el ciclo de luz-oscuridad, los animales del Grupo II cambiaron sus hábitos alimentarios consumiendo mayor cantidad de alimento con respecto a los animales del Grupo I (Tabla 2) y también modificaron su patrón de sueño, aunque éste no se registró electrofisiológicamente. Con el ciclo de luz alterado (18-6 hrs), los animales mostraron mayores períodos de reposo probablemente

acompañados con sueño profundo o de onda lenta. En consecuencia es factible suponer que se presentó una aceleración en la tasa de lipólisis y mayor síntesis de proteínas, lo cual se reflejó en un aumento significativo en el peso con respecto al de los animales del Grupo I. Al reducirse el período de oscuridad, el tiempo durante el cual se lleva a cabo la lipogénesis también disminuyó, sin embargo, puede suponerse que su velocidad se incrementó, puesto que consumieron más alimento. En consecuencia no puede negarse el hecho de que el incremento en peso no sólo se deba a la síntesis de proteínas sino también a una mayor síntesis de lípidos.

FIGURA 2  
Curvas de crecimiento en talla de los cuatro grupos de ratas estudiadas

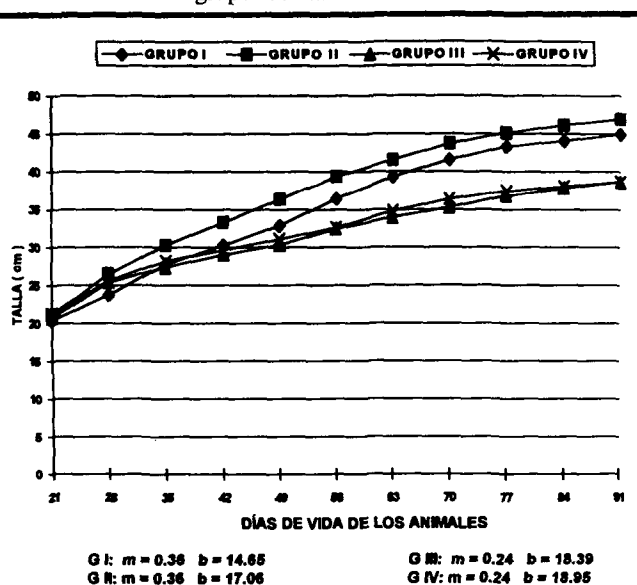


TABLA 2  
Cantidad promedio diaria de alimento (g) consumida por los Grupos I y II

Semana*	Grupo I Ciclo 12-12	Grupo II Ciclo 18-6
1	7.5	7.5
2	10.0	10.0
3	11.0	11.0
4	12.0	12.0
5	20.0	23.1
6	21.0	24.1
7	21.5	24.0
8	22.2	24.2
9	22.0	23.8
10	21.2	23.0

\* La diferencia en el consumo de alimento se presentó a partir de la quinta semana

Lo anterior puede corroborarse en la Figura 1. En las dos curvas superiores, correspondientes a los grupos I y II, se observa que el grupo II, formado por animales bien alimentados con un ciclo de luz-oscuridad alterado, siempre tuvo un peso superior al Grupo I; del mismo modo la velocidad de crecimiento en peso fue superior.

Puesto que los cambios metabólicos adaptativos afectan el peso antes que la talla (16), dadas las características de tiempo en que se realizó el estudio, no se observan modificaciones significativas en la talla, pero sí se muestra una tendencia de mayor crecimiento en talla en los animales del Grupo II. Véase cómo en la figura 2, la curva de crecimiento en talla del Grupo II siempre se mantiene por arriba de la curva correspondiente al Grupo I.

Al comparar las curvas de crecimiento de los animales de los Grupos I y II puede observarse, como se mencionó anteriormente, que los animales con un ciclo de luz-oscuridad alterado presentan una pendiente mayor que el Grupo I. Esta diferencia en la pendiente de la curva de crecimiento en peso también se refleja en que la pubertad aparece una semana antes lo cual puede deberse a que los cambios hormonales que suceden al modificarse el ciclo de luz favorecen un desarrollo acelerado en estos animales.

El efecto de la desnutrición en los animales del estudio provocó un retraso en su crecimiento, tanto en peso como en talla tal como se esperaba (17). En la Figura 1 y en la Figura 2 se presentó una separación muy notoria en las curvas de crecimiento entre los Grupos I, II y los Grupos III, IV. Esto es debido a que por un lado el estado de desnutrición provoca hipoglucemia, una concentración elevada de ácidos grasos libres, y cambios en la concentración de catecolaminas, entre otras modificaciones metabólicas, que pueden inducir una disminución en la síntesis de TRH a nivel del hipotálamo (ARN mensajero) (18,19), lo que a su vez disminuye la síntesis y secreción de la hormona del crecimiento así como de T3 y T4 indirectamente. Es sabido que T3 induce la expresión de enzimas lipogénicas (acetil CoA carboxilasa) (20), lo cual hace suponer que es esta vía la que se encuentra alterada en estas condiciones de estudio.

La desnutrición afecta el desarrollo del Sistema Nervioso Central alterando el funcionamiento de una de las zonas del cerebro responsable de regular los ciclos de sueño-vigilia (21,22), que es el sistema serotoninérgico (11). Esto es consecuencia de la disponibilidad del L-triptofano que se modifica (existe mayor proporción del aminoácido libre), durante la restricción de alimentos, y favorece el aumento en la concentración de serotonina (5-HT) que induce una hiperactividad del animal aun en períodos de luz (período de sueño de animales nocturnos). Por tal motivo desaparece la sincronización entre la secreción de hormonas anabólicas (HC) y los ciclos de luz-oscuridad y de sueño-vigilia. Otras alteraciones en el SNC son debidas a la depleción de potasio, causada por la desnutrición (11).

La hiperactividad del animal y el desequilibrio lipostático, conllevan a un gasto de energía extra, lo cual aunado a la escasez de sustrato para la síntesis de tejidos y a la disminución en la tasa del anabolismo proteico, provoca la talla y el peso menores en animales desnutridos. Por lo tanto, la modificación del ciclo de luz-oscuridad no compensa el retraso en la velocidad de crecimiento causado por la desnutrición, por el contrario en el caso del peso, la curva de crecimiento correspondiente del grupo III tiene una velocidad mayor a la del Grupo IV, a pesar de que la diferencia no fue estadísticamente significativa (Tabla 3).

En las mismas figuras se observa que a diferencia de las curvas correspondientes a los grupos I y II, las gráficas de los grupos III y IV no se separan completamente para la talla.

A manera de resumen en la Tabla 3 se presentan los valores de las velocidades de crecimiento tanto para el peso como para la talla. En el análisis de varianza correspondiente, se observó que existía diferencia significativa entre los grupos (tratamientos).

TABLA 3  
Velocidades de crecimiento en peso y talla para los cuatro grupos de estudio

Grupo	Velocidad de Crecimiento	
	Peso (g/día)	Talla (cm/día)
I	4.60a* (0.12)	0.36a* (0.01)
II	5.22b (0.14)	0.36a (0.01)
III	2.06c (0.08)	0.24b (0.01)
IV	1.97c (0.07)	0.24b (0.01)

\* Literales iguales indican que no hay diferencia significativa  
P > 0.05

( ) Desviación estándar

El ciclo alterado con mayor período de luz en los animales del Grupo II causa un crecimiento mayor en peso respecto a los animales del Grupo I. Mientras que al comparar los Grupos III y IV, el cambio en el ciclo de luz-oscuridad no provocó cambios en las curvas de crecimiento, es decir, una vez que la desnutrición provoca alteraciones a nivel del SNC ya no existe coordinación entre el ciclo sueño-vigilia y luz oscuridad, no existe entonces la posibilidad de generar más HC ni más síntesis de proteínas y por lo tanto no se puede compensar con mayores períodos de reposo la carencia de nutrientes.

#### REFERENCIAS

- Falkner F. Growth Monitoring: Fetus to the first two postnatal years. Clinical Nutrition of the young child. Raven Press, N.Y. 1985.
- Berg B.N. Nutrition & longevity in the rat. I. Food intake in relation to size, health and fertility. J. Nutr. 71 242-254, 1960.
- Owens P.C., Johnson R.J., Campbell R.G. & Ballard F.J. Growth hormone increases insulin-like growth factor-I (IGF-I) and decreases IGF-II in plasma of growing pigs. J. of Endocrinol. 124:269-275, 1990.
- Mínuto F., Barreca A., Ferrini S., Mazzocchi G., Del Monte P. & Giordano G. Growth hormone secretion in pubertal and adult subjects. Acta Endocrinol. 99:161-165. 1982.
- Uribe R.M., Joseph-Bravo P., Pasten J., Ponde G., Méndez M., Covarrubias L. & Charli J.L. Some events of TRH metabolism are regulated in lactating and cycling rats. Neuroendocrinology. 54:493-498, 1991.
- Asuman L.M., Gallina D.L., Hegsted D.M. Protein-calorie malnutrition in squirrel monkeys: adaptive response to calorie deficiency. Am J Clin Nutr 50 19-29. 1989.
- Dardevet D., Manin M., Balage M., Sornet C., Grizard J. Influence of low and high protein diets on insulin and insulin-like growth factor-I binding to skeletal muscle and liver in the growing rat. Br. J. Nutr. 65:47-60. 1991.
- Le Magnen J. Neurobiology of feeding and nutrition. Academic Press Inc San Diego. 1992.
- Gulliford M.C., Price C.E., Rona & Chinn S. Sleep habits and height at ages 5 to 11. Archives of Disease in Childhood. 65:119-122. 1990.
- Tannenbaum G.S. & Martin J.B. Evidence of an endogenous ultradian rhythm. Endocrinology. 98:562-569. 1976
- Lebner H., Murison R., Weiner H., Hellhammer D. & Beyer J. (eds). Endocrine and nutritional control of basic biological functions. Hogrefe & Huber Pubs. Seattle. 1993.
- Cintra L., Diaz-Cintra S., Galván A. & Morgane P.J. Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. Bol. Estud. Med. Biol. 36:3-17. 1988.
- Harkness J.E. & Wagner J.E. The biology and medicine of rabbits and rodents. Lea & Febiger. 1989.
- Haan T.C. Statistical methods in hydrology. The Iowa University Press. Ames. p. 222. 1977
- Mendenhall W. & Ott L. Understanding Statistics. Duxbury Press. North Scituate Mass. 1980.
- Waterlow J.C. Nutritional adaptation. Cuarto Simposio de Nutrición y Alimentos. México 1991.
- Mercer L.P., Hajjazi H. & Hidvégi M. Weanling rate display bioperiodicity of growth and food intake rates. J Nutr 123:1356-1362. 1993.
- Blake N.G., Eckland J.A., Foster O.J.F. & Lightman S.L. Inhibition of hypothalamic thyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid during food deprivation. 129. 2714-2718. 1991.
- Blake N.G., Johnson M.R., Eckland J.A., Foster O.J.F. & Lightman S.L. Effect of food deprivation and altered thyroid status on the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the rat. Journal of Endocrinology. 133. 183-188. 1992.
- Fukuda H., Katsurada A & Iritani N. Nutritional and hormonal regulation of mRNA levels of lipogenic enzyme in primary cultures of rat hepatocytes. J. Biochem. 111:25-30. 1992
- Rojas J.A. & Posadas A. Ciclo vigilia-sueño en ratas sometidas a períodos de deficiencia nutricional posdestete. Bol. Estud. Med. Biol. 29:515-516, 1977.
- Salas M, Rufz C., Torrero C. & Pulido S. Neonatal food restriction: its effects on the sleep cycles and vigil behaviour of adult rats. Bol. Estud. Med Biol 32:209-215. 1983.

Recibido: 25-05-1995

Aceptado: 19-10-1995