

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA**

**DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**PATRON CIRCADICO DE SECRECION DE CORTICOESTERONA EN  
MACHOS DE AVEZTRUZ (*Struthio camelus*) EN EPOCA REPRODUCTIVA**

**GABRIELA RODRIGUEZ ESQUIVEL**

**TESIS QUE PRESENTA PARA OBTENER EL GRADO DE:**

***MAESTRO EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL***

**IZTAPALAPA, DISTRITO FEDERAL**

**2004**

La presente tesis titulada: “**Patrón circadico de secreción de corticoesterona en machos de avestruz (*Struthio camelus*) en época reproductiva** realizada por la alumna **Gabriela Rodríguez Esquivel**, ha sido aprobada y aceptada por el Jurado como requisito parcial para obtener el grado de:

## **MAESTRO EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL**

### **JURADO**

PRESIDENTE	M. en C. ARTURO L. PRECIADO LOPEZ
SECRETARIO	M en C Ma. TERESA JARAMILLO JAIMES
VOCAL	M en C JORGE IVÁN OLIVERA LÓPEZ

**Iztapalapa, Distrito Federal a 2 de Diciembre de 2004**

ESTA TESIS FUE REALIZADA EN EL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA UNIDAD IZTAPALAPA, COMO PARTE DEL PROYECTO DE INVESTIGACION “**ESTUDIO HORMONAL Y METABÓLICO DE LA REPRODUCCIÓN DE LA HEMBRA PECARI DE COLLAR (*Tayassu tajacu*)**” BAJO LA DIRECCIÓN DE : **M. en C. JORGE IVÁN OLIVERA LÓPEZ** y **M. en C. MARÍA TERESA JARAMILLO JAIMES.**

**AL LABORATORIO DE HORMONAS ESTEROIDES DEL INSTITUO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICIÓN “DR. SALVADOR ZUBIRÁN” Y EN PARTICULAR A LA QFB. LOURDES BOECK QUIRASCO Y AL BIÓLOGO ROBERTO CHAVIRA RAMÍREZ POR SU APOYO Y ORIENTACIÓN, QUE DESINTERESADAMENTE ME DIERON EN LA PARTE EXPERIMENTAL EL TRABAJO DE TESIS.**

**ASI COMO A TODOS LOS INTEGRANTES DEL LABORATORIO POR EL APOYO Y LOS MOMENTOS AGRADABLES QUE VIVIMOS.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al M en C Jorge Iván Olivera López y M en C María Teresa Jaramillo Jaimes por el apoyo y orientación en todo momento en la realización del presente trabajo, permitiendo así un logro en mi superación académica, mi más grande reconocimiento.

Al M.V.Z. Eduardo García Ponce de León por facilitar los animales e instalaciones del Rancho “Tel Sakara” para la realización del trabajo de campo

## CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	1
<i>Generalidades</i>	1
<i>Alimentación</i>	4
Biología de la Reproducción	5
Situación Actual	8
ANTECEDENTES	9
<i>Ritmos Biológicos</i>	9
<i>Sistema Circádico</i>	10
<i>Glándula Pineal</i>	10
<i>Fotorreceptores</i>	11
<i>Reloj circádico de las aves, análisis molecular</i>	12
<i>Sistema Endócrino</i>	13
<i>Glándula Adrenal</i>	14
<i>Anatomía</i>	16
<i>Ontogenia del Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal</i>	16
<i>Hormonas del Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrena. Ritmo circádico</i>	19
<i>Biosíntesis de novo de corticoesterona</i>	24
<i>Control de la secreción de corticoesterona</i>	26
<i>Medio ambiente y estrés</i>	27
OBJETIVO GENERAL	30
OBJETIVOS PARTICULARES	30
MATERIAL Y METODOS	30
<i>Descripción de la zona de trabajo</i>	30
<i>Animales</i>	30
<i>Captura y toma de muestras</i>	31
<i>Procesamiento de muestras</i>	31
<i>Determinación de los niveles séricos de corticoesterona</i>	31
<i>Análisis Estadístico</i>	32
RESULTADOS	33

<b>Gráfica 1</b>	<b>34</b>
<b>Gráfica 2 y 3</b>	<b>35</b>
<b>Gráfica 4 y 5</b>	<b>36</b>
<b>Gráfica 6 y 7</b>	<b>37</b>
<b>Tabla 1</b>	<b>38</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>39</b>
<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>40</b>
<b>Figura 1</b>	<b>43</b>
<b>Figura 2</b>	<b>44</b>
<b>Figura 3</b>	<b>45</b>
<b>Figura 4</b>	<b>46</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>47</b>

## RESUMEN

Los ritmos circádicos en aves están controlados por un sistema multioscilandor que consiste en osciladores circádicos localizados en la glándula pineal, el ojo y el núcleo supraquiasmático (SNC). Estos osciladores circádicos están interactuando uno con otro para funcionar como un sincronizador circadito. Se han clonado varios genes del reloj (*qClock*, *qPer2*, *qPer3*) en aves, los genes del reloj están fuertemente expresados en el SNC y la luz afecta su expresión en otras regiones del cerebro que están involucradas en la regulación en la medición del fotoperíodo en aves indicando que la respuesta del mismo está controlado en el reloj circádico. La corticoesterona (CORT) es el principal glucocorticoide en las aves con un papel fundamental en la regulación de varios procesos fisiológicos.

Los hallazgos en el presente trabajo revelaron que en el avestruz (*Struthio camelus*) en época reproductiva presentó un ritmo basal circádico de CORT de predominio diurno, se caracterizó por concentraciones bajas en la escotofase y niveles significativos ( $P < 0.0001$ ) en la fotofase, presentando un pico preactivo 3 horas de iniciar la fase de luz.

El patrón de secreción en los niveles basales detectados son contrastantes con el del humano y roedores así como con algunas especies de aves. La función de CORT en aves se ha relacionado con la regulación de energía, su movilización y depósito siendo necesario el pico preactivo para preparar un estado fisiológico adecuado.

## ABSTRACT

Avian circadian rhythms are controlled by a multioscillatory system consisting of circadian oscillators located in the pineal gland, the eye and the supraquiasmatic nucleus (SNC) these circadian oscillators are interacting with each other of function as a circadian strongly expressed in the SCN, light affects the *qPer2* expression. The clock genes are also expressed in other brain regions involved in the regulation of avian photoperiodic time measurement, indicating that photoperiodic response is controlled by circadian clock. The corticoesterone is the principal glucocorticoid in birds with a fundamental role in the regulation of several physiological process.

The findings in the present work revealed that the male ostrich (*Struthio camelus*) on the reproductive season showed a basal circadic rhythm of diurnal predominance, it was characterized of low concentrations in the escotophase, and high levels( $p < 0.0001$ ) during the photophase presenting a preactive peak 3 hours before the light phase starts.

The secretion pattern of the basal levels detected are constrasting with the human, rodent and some species of birds. The function of the corticoesterone es established as for regulation of the energy, its movilization and deposit being necessary the preactive peak to prepare an adecuate physiological state.

## INTRODUCCIÓN

Las aves han estado en contacto con el hombre de muy diversas maneras, es de los pocos animales silvestres que comparten la gran mayoría de nuestras actividades, y es importante considerar la importancia de estas en los ecosistemas, la diversidad de formas, así como lo interesante de su estrategia reproductora, migratoria y su comportamiento.

La presencia de las diferentes especies de aves, está relacionada con la condición del hábitat, siendo algunas de ellas sensibles a cambios sutiles en el mismo.

Debemos considerarlas como uno de los vertebrados más evolucionados, sin embargo los procesos naturales siguen siendo las fuerzas que modelan la riqueza biológica de nuestro planeta.

### *Generalidades*

Los ratites que viven actualmente, son aves que incluyen a dos especies de avestruces (*Struthio*) en Africa y formalmente en Asia, el emu (*Dromaius*) Australiano, tres especies de cassowaries (*Casuarius*) en Nueva Guinea y Noreste de Australia, tres especies de kiwis (*Apteryx*) en Nueva Zelanda y dos rheas (*Rhea*) en América del sur. En las últimas dos décadas se han llevado a cabo estudios de marcadores moleculares de DNA ribosomal, mitocondrial y nucleares los que permitieron esclarecer algunos aspectos de la filogenia de estas aves (Freitag y Robinson 1993). Las relaciones de las tres principales líneas, rheas, avestruces y los ratites australianos (van Tuinen y Sibley 1998), tienen una relación directa en su historia biogeográfica la cual establece que a partir de la fractura del supercontinente Gondwanaland hace 150 millones de años la divergencia entre los ratites probablemente ocurrió hace 90 millones de años.

Por estudios de paleontología en huesos y huevos de avestruz se propone que estas aves vivieron primeramente en Africa y Euroasia extendiéndose en el área Mediterránea en

dirección a la India y China; se considera su presencia en dos puntos, en el eoceno entre 65 y 38 millones de años y en el mioceno de 26-7 millones de años (Deeming, *et al.*, 1999).

Se proponen dos posibles sitios de origen para estas aves, uno Africano y otro Suramericano; los hallazgos fósiles en etapas tempranas del cenozoico en América del sur concuerdan con el origen de los ratites Australianos; en el caso del origen Africano la línea existente entre Africa y Suramérica la divergencia entre el protoratite y prototinamú se considera que fue probablemente debido a una sustitución después de la separación de Africa y Suramérica hace 100 millones de años; los análisis de secuencia de DNA, han revelado una relación cercana de los ratites Africanos y Australianos (van Tuinen, *et al.*, 1998).

Actualmente se encuentran localizados en Norteamérica provenientes de Australia, Africa ó Sudamérica, la especie más importante es el avestruz, (*Struthio camelus*) y de acuerdo a los estudios de biología molecular se ha encontrado que entre las aves que existen en el mundo presente, no tiene ningún pariente más cercano que las otras ráticas.

El avestruz o “ave camello” así conocido por las similitudes con los dromedarios, fue incluido en la nomenclatura científica actual por Linnaeus de su sistema naturae en 1758 como *Struthio camelus*, en base en el término griego y latino *Struthocamelus*, en la actualidad tiene la siguiente clasificación: Reino *Animalia*, Filo *Chordata*, Subfilo *Vertebrata*, Superclase *Neornithes*, Clase *Aves*, Superorden *Paleognathae*, Orden *Struthioniformes*, Familia *Struthionidae*, Género *Struthio*. Algunos científicos consideran que aún existen cinco variedades geográficas del avestruz en Africa lo suficientemente distintas entre ellos para establecerlas como subespecies, aunque algunos solo toman en cuenta a cuatro ocupando grandes extensiones geográficas, las cuales son: *S.c. camelus* desde el sur de Marruecos y este de Mauritania al sudoeste de Etiopía y Norte de Uganda, es de color rosáceo, cuello blanco, coronilla pelada, plumas blancas en la cola e iris marrón; *S.c.molybdophanes* localizado en el nordeste de Etiopía y Somalia, se extiende al norte de Kenia, es de color gris azul con un cuello amplio de color blanco, coronilla pelada, plumas blancas en la cola e iris azul; *S.c. massaicus* ubicada en el este de Kenia y norte de Tansania es de color gris rosáceo con cuello blanco estrecho, una coronilla pelada poco pronunciada o ausente, plumas blancas en la cola e iris color marrón y por último, *S.c.australis* que van desde el norte de Namibia y sur de Zimbabwe a la península del Cabo, es de color gris con plumas marrones en la cola, no

presenta coronilla pelada y cuello blanco, su iris es de color marrón (Freitag y Robinson 1993). El avestruz se considera ave terrestre que habita ecosistemas de llanuras de pasto bajo y zonas semidesérticas, aunque también están establecidas en zonas calurosas, ubicadas bordeando las estepas desérticas del oeste sahariano y desiertos de Namibia, procura los espacios de tierras bajas para resguardarse, la densidad de población que alcanzan es de uno por cada 5-20 km<sup>2</sup>, con excepción de las zonas protegidas en donde es de 0.8 aves/ km<sup>2</sup>.

Se establece como el ave de mayor tamaño en la actualidad, alcanzando los 2.75 m de alzada y un peso de 150 kg aproximadamente; las características de fenotipo son de acuerdo al sexo, el macho presenta el plumaje de predominio negro, con plumas blancas en el ala y en la cola con un cuello de coloración gris; la hembra es de color gris pardo grisáceo que muestra las plumas primarias del ala y las de la cola en tonalidades que varía del gris claro al blanco, en individuos jóvenes se asemejan a las hembras, los polluelos son multicolores con plumaje marrón, amarillento, naranja, y crema con cañones negros en el dorso, el plumaje es lanoso y simétrico. En su morfología, el avestruz presenta patas largas y cuello lo que coloca la cabeza a una altura de 1.8-2.75 m del suelo, presenta grandes ojos de 50 mm de diámetro, separados lo que les permite un campo visual más amplio. Es un ave incapaz de volar, sus alas son poco desarrolladas, no posee músculos pectorales, el esternón no presenta quilla y es grande con forma de cuenco.

Es un ave que acostumbra pasear en los alrededores y solo corre cuando se asusta pudiendo alcanzar velocidades cercanas a los 60-70 km/hr, es digitígrado con solo dos dedos.

Se comporta como un animal gregario, forma grupos de aves de los dos sexos y de distintas edades ubicados cerca de pozos de agua; pueden ser de cientos aunque existen grupos sociales en unidades familiares específicas con una jerarquía social entre ellos, dirigidos y mantenidos por un macho adulto o una hembra considerada importante; en época de cría los grupos de adultos son más pequeños con un solo individuo o una pareja (Bertram, 1980). En hábitats naturales viven en comunidades mixtas con posibilidad de tener contacto con otras especies, aunque evitan el contacto muy cercano, teniendo una conducta de tolerancia, ignorando o evitando (Bertram, 1980; Bkoff, 1994).

### ***Alimentación.***

Sus hábitos alimenticios se consideran vegetarianos, se adapta bien a su dieta y debido a su fermentación microbiana post-gástrica que es muy eficiente le permite absorber los nutrientes y la energía necesaria. Llevan a cabo una selección de la comida de manera visual empujando con el pico todas las partes de la vegetación y hacer tiras en las hojas de los arbustos y plantas leñosas (Williams, *et al* 1993; Milton, *et al.*, 1994; Aganda y Omphile 2003).

Consumen de manera preferente los pastos verdes anuales y las hierbas no forrajeras bajas en compuestos fenólicos y alto contenido en fibra y en segunda intención las hojas, flores y frutos de plantas suculentas y leñosas, consumen una dieta de 5-6 kg de vegetación fresca al día (Milton, *et al.*,1994 ).

Se ha observado que tienen una economía frugal para el agua, bebe a voluntad, si está disponible y le hace falta, si los alimentos son suculentos y no están en estrés el beber no es necesario, ya que el alimento proporciona la cantidad necesaria y se compensa con la producción de agua metabólica, de forma que es suficiente para contrarrestar las pérdidas que se producen por orina, las heces y la evaporación (Cloudsley-Thompson y El-Mohamed 1967; Adam y Dean, 1993). La termoregulación son los mecanismos por los que los animales de sangre caliente mantienen su temperatura corporal de manera constante, el avestruz como ave adaptada al desierto tiene que evitar el calentamiento, los mecanismos con los que disipa son la radiación, enfriamiento conectivo (así como conductivo) y evaporación de agua, este último relacionado con la osmoregulación (recambio y homeostasis del agua, electrolitos y fluidos extracelulares (Crawford y Schmidt-Nielsen, 1967; Schmidt – Nielsen, *et al.*,1969;).

Todos estos principios físicos son susceptibles de ser modificados con el comportamiento y por medios fisiológicos como es el buscar la sombra y jadear. La temperatura corporal profunda (intramuscular o cloacal) que presentan es de 39°C, esta se conserva en el rango de 38°-40°C a no ser que estén expuestos a estrés por calor y deshidratación que los lleva a un aumento de 4°C (Crawford y Schmidt-Nielsen 1967;Schmidt-Nielsen, *et al* 1969). Las aves cubren sus requerimientos energéticos a través del metabolismo oxidativo de los nutrientes; la

tasa metabólica basal (TMB) varía con la masa de las aves, en los avestruces es de  $0.113 \text{ ml O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ; además de TMB la energía es necesaria para otras actividades, al disminuir la temperatura ambiental es necesario la producción de calor para mantener la temperatura corporal, la tasa metabólica estándar de un avestruz es de  $0.26 \text{ ml O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  que es 2.3 veces la TMB. La energía que se obtiene la utiliza para las actividades físicas, el máximo alcance metabólico es de por lo menos 28 veces TMB ( Suarez, 1998).

### ***Biología Reproductiva***

El control endócrino del metabolismo se conoce poco en relación específica al avestruz, se ha hecho una relación a los estudios realizados en gallinas y gallos domésticos; se tienen las hormonas encargadas del control del metabolismo de carbohidratos y lípidos; el tejido adiposo de las aves tiene una capacidad pobre para la síntesis de ácidos grasos de novo, la acumulación de los mismos provienen de la dieta o de la síntesis hepática, el metabolismo de estas biomoléculas está controlado por diversas hormonas como: insulina, glucágon, prolactina, hormona de crecimiento, hormonas tiroideas y los corticoesteroides, esta última hormona junto con la adrenalina tiene el efecto de estimular la movilización de las reservas de energía de tal manera que el animal está mejor preparado para responder al estrés ( King y Farner, 1965; Davies y Follett 1980).

En el aspecto reproductivo, los avestruces se consideran de cría estacional, con la posibilidad de ser criadores oportunistas (Degen, *et al.*, 1994). La época varía de acuerdo al fotoperiodo, en el hemisferio sur comienza en marzo-abril y se extiende durante la primavera en septiembre ó más tarde, en Sudafrica la estación de cría es de junio a febrero, en Estados Unidos de Norteamérica se presenta en verano extendiéndose hasta enero, en América del sur las crías se observan en todo el año, en México se ha establecido una temporada de postura con duración de 8 a 10 meses que inicia en los meses de noviembre a marzo y disminuye en los meses de junio a septiembre (García Ponce de Leon y Schevenin, 2001).

Otros estudios han reportado el inicio de crianza o picos de reproducción en la época de lluvias abundantes en donde se tiene los recursos alimenticios de manera abundante (Degen, *et al.*, 1994).

El estudio de la endocrinología reproductiva de las ratas es pobre; el control central del sistema endocrino se encuentra en el hipotálamo localizado en la región del cerebro por detrás del quiasma óptico, se considera el receptor de una variedad muy amplia de información ambiental externa, factores de estrés, estímulos del comportamiento e información interna, de tal manera que en respuesta a estos factores, las neuronas del hipotálamo a través de su biosíntesis de hormonas liberadoras específicas mantienen un control en la respuesta a los mismos. En las aves, la hipófisis anterior no se encuentra conectada de manera directa al hipotálamo de manera que las hormonas liberadoras pasan por los capilares del sistema porta a la adenohipófisis, donde se lleva la biosíntesis de hormonas tróficas que actúan en diferentes órganos blanco (Deeming, 1996; 1997; 1998).

La hormona hipotalámica responsable del control reproductivo es la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), en las aves se han identificado dos, llamadas GnRH-I que es idéntica a la de los mamíferos con excepción por una sustitución de glutamina por arginina en posición 8 (King y Millar 1982<sup>a</sup>; Gallo-Bona, *et al.*, 1983; Sherwood, *et al.*, 1988; Corneel, *et al.*, 2000); es sintetizada en la región septal y pre-óptica del hipotálamo; la GnRH-II ha sido identificada en el avestruz y con una distribución más amplia (Powell, *et al.*, 1987). En respuesta a ellas, la hipófisis secreta dos hormonas gonadotrópicas, la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) (Koide, *et al.*, 1996), ambas son glicoproteínas compuestas de dos subunidades con un peso molecular de 30 000; en el avestruz la FSH tiene un alto contenido de carbohidratos ( 25.4 g/100 g glicoproteínas ) y ácido siálico (5%) , la LH tiene un 17% de carbohidratos y 2% de ácido siálico (Papkoff, *et al.*, 1982) el mecanismo de acción que desempeñan principalmente es en las gónadas; en testículos participa en la estimulación de las células de Leydig en la diferenciación y producción de testosterona y espermatogénesis y en la fisiología ovárica en la ovulación y esteroidogénesis ( Sahabi, *et al.*, 1978) ambas hormonas estimulan el crecimiento y la maduración de las gónadas, como otros efectos se encuentra la diferenciación sexual, desarrollo de caracteres sexuales secundarios, comportamiento y metabolismo; se tiene un mecanismo de retroalimentación positiva y negativa en relación a las hormonas esteroides ( Barraclough, *et al.*, 1979; Davies, *et al.*, 1980).

En avestruces las concentraciones de LH en sangre varían durante el año en ambos sexos coincidiendo con la época de inicio de puesta de huevos, se ha demostrado que los niveles de hormona luteinizante (LH) en plasma son tres veces más altos en machos que en hembras, que estos aumentan un mes antes del inicio de la estación de la cría en ambos sexos y después caen de manera progresiva en lo que queda de la estación.

Los niveles de testosterona presentan un aumento un mes después del inicio de la estación de la cría, de manera tardía que el aumento de LH y se mantienen elevados por cuatro meses. En la hembra, los niveles de LH se elevan un mes antes de que inicie la estación de la cría y disminuye poco a poco durante la estación, los niveles plasmáticos de estradiol que participan en la formación del huevo, aumentan desde el primer mes de la estación de puesta, y permanecen hasta un mes antes del final de la estación (Degen, *et al.*, 1994).

La infertilidad en los machos y hembras, está relacionada a varios factores, el estado nutricional del animal se ve reflejado en obesidad o desnutrición, la deficiencia de vitaminas y minerales que incluyen vitamina A, E y selenio; la edad de los animales es importante, la pubertad se presenta a los dos años de edad, los machos alcanzan la madurez reproductiva hasta los cuatro años, no hay un método preciso para determinarla, con frecuencia y por error, sobre todo en los machos se emparejan cuando son demasiado jóvenes. Se tienen enfermedades del aparato reproductor que afectan la fertilidad en ambos sexos como prolapso de cloaca, heridas del falo y enfermedades infecciosas (Leuthold, 1977; Jarvis, *et al.*, 1985). El estrés ambiental como son las condiciones climáticas extremas (altas temperaturas) y presencia de depredadores, afecta la fertilidad de las aves. Las condiciones climáticas son importantes para estas aves a pesar de ser muy adaptables, lo que se considera climas extremos que influye en los aspectos fisiológicos, metabólicos y de comportamiento (Deeming, *et al.*, 1997; 1998, ).

El comportamiento en el cortejo en cautividad y en vida salvaje es parecido, distingue cuatro etapas: cortejo, precópula y copula, construcción del nido, postura e incubación, cada una de ellas implica una secuencia de actitudes que a menudo se inicia con un rugido del macho para atraer a su pareja, cuando ya están juntos hembra y macho se da un comportamiento de alimentación sincronizado, seguida de la alimentación ritual de ambos en el lugar que se eligió para el nido. Las siguientes etapas consisten en movimientos con la

agitación de alas de la hembra y el macho con las alas abiertas aproximándose a la hembra seguida de la monta. Los comportamientos sexuales anormales se han observado en grupos entre machos parecidos al cortejo, los que se han interpretado como un método de liberar la tensión sexual antes de la cría o como una forma de suprimir la agresión asociada con periodos de clima húmedo (Sauer y Sauer, 1967; 1972).

### ***Situación actual***

La cría de avestruces en cautividad tuvo lugar en Argelia en 1857; a comienzos de 1860 esta ave fue criada en Sudáfrica con la finalidad de obtener plumas destinadas a vestimentas.

El interés por el avestruz ha ido en aumento, a mediados de los 80 la cría de estas aves se desarrolló en varios lugares de Sudáfrica, dio apertura a la importación de las mismas así como de huevos para incubar, en el año 1996, se propuso que la productividad que incluye la fertilidad, la incubación del huevo y la supervivencia del pollo, debería incrementar de manera significativa para poder tener rentabilidad. Se considera que el reto en el comercio de los productos obtenidos del avestruz se encuentra en la comercialización de manera adecuada de la carne así como de encontrar los mercados adecuados para las pieles y los diferentes subproductos (Deeming, 1996).

El interés en el avestruz, en las últimas décadas ha ido en aumento, lo que ha implicado el tener mayor conocimiento de su biología que ha sido poco estudiada en el campo de la fisiología, reproducción y comportamiento incluyendo el control endocrino, así como la relación con el medio ambiente.

A medida que el interés que ha ido en aumento, ha marcado la dirección para conocer más sobre ellas, la atención que se ha establecido con esta especie se basa en su expansión por todo el mundo, la adaptabilidad de la especie, así como las expectativas que se tienen en la producción en cautiverio, el cual ha ido en aumento con la posibilidad de un mercado de productos de manera importante con miras a una industria exitosa, por lo que se hace necesario el conocimiento en todos sus aspectos.

## **ANTECEDENTES**

La adaptación al medio ambiente implica la adaptación a las variaciones temporales que se presentan, teniendo la característica de ser periódicas. Muchos de los procesos biológicos varían con el tiempo del día en una base anual de manera particular en aves (Moore-Ede, *et al.*, 1986). Los ciclos circádicos son ritmos biológicos los cuales se aproximan a un periodo de 24 horas o la alternancia de día y noche; se consideran ubicuos ya que se encuentran en organismos unicelulares hasta el hombre y de forma análoga en plantas y animales con características particulares para cada caso (Takahashi y Zatz 1982; Barinaga, 2002; Brandstatter, 2003).

### ***Ritmos Biológicos***

Las funciones de los seres vivos, a nivel endocrino, neural, bioquímico y de comportamiento, se expresan en forma constante con periodos que van de una actividad máxima a una escasa o nula, al presentarse con regularidad, los conocemos como ritmos biológicos. Muchos de estos ritmos persisten en condiciones constantes lo que significa que está regulado por un reloj interno el cual indica el tiempo o duración del día (Moore-Ede, 1986; Hall y Rosbash, 1993).

El sistema fisiológico responsable del ritmo circádico tiene al menos tres componentes: una vía de entrada, un marcador u oscilador primario el cual genera la oscilación y una vía de salida que va dar como resultado la expresión del ritmo que mide (Eskin, 1979; Takahashi y Zatz 1982) (Fig 1), se caracteriza por no depender de otros para generar un ritmo biológico, son una forma de adaptación al medio y de organización de las actividades fisiológicas y conductuales ( Folkard, *et al.*, 1989).

Las estructuras neuronales que regulan el tiempo biológico en los vertebrados se han relacionado con sistemas de fotorreceptores, la glándula pineal, la retina y el núcleo supraquiasmático localizado en el hipotálamo; la propiedad fundamental del reloj circadiano es la generación de un tiempo de 24 horas y la sensibilidad de ajustar la fase al estímulo, se consideran cuatro dominios primarios: día, crepúsculo, noche y amanecer, el reloj trabaja y funciona de manera dinámica en estos cuatro dominios de sensibilidad que se repiten cada 24 horas (Roenneberg y Mellow, 2002).

### ***Sistema circadiano en aves***

El ritmo circadiano en aves a diferencia de los mamíferos está regulado por un sistema multioscilar que comprende la retina, la glándula pineal y el núcleo supraquiasmático en el hipotálamo, cada una de las estructuras contribuyen al ritmo de todo el organismo con variaciones entre especies (Cassone, *et al.*, 1990; Underwood, *et al.* 2001) (Fig 2).

Los tres componentes del sistema presentan un reloj circadiano, la luz es el estímulo más importante en el ritmo y en las aves se puede afectar el sistema por tres vías diferentes. Los ojos, la pineal y los fotorreceptores localizados en sistema nervioso central (SNC).

Se tienen dos modelos que describen la relación entre los osciladores circadianos en las aves, la primera considera una conexión neuroendocrina que propone la inhibición entre los componentes del reloj: la liberación de MEL de la retina y de la pineal se considera que inhibe la actividad metabólica del SNC durante la noche, considerando que el SNC inhibe la síntesis de MEL durante el día.

El modelo de resonancia interna sugiere que los tres componentes oscilatorios sincronizan y amplifican cada uno a través de la resonancia continua para producir un estado circadiano estable de amplitud alta en su salida (Cassone, *et al.*, 1984).

### ***Glándula pineal***

La glándula pineal, es un órgano secretorio cuya función principal en todas las especies estudiadas es la de traducir la información concerniente al ciclo L/O a la fisiología de

diferentes procesos biológicos como reproducción (Olivera y Jaramillo 2001), modulador del sistema inmune, respuesta a tumores y trastornos de ritmo circádico del organismo, vía la biosíntesis de su principal hormona la melatonina (MEL) (Reiter 1991, Reiter 1991). En las aves se le considera una función mixta: fotorreceptora y secretora, además de ser un sistema generador de ritmo o reloj biológico. A diferencia de los mamíferos se tienen tres propiedades que la caracterizan, primero las células pineales de varias especies de aves (cotorra, pollo y paloma) tienen la capacidad de sintetizar de manera espontánea la MEL en cultivo de células (Binkley, *et al.*, 1978; Kasal, *et al.*, 1979; Degushi 1979; Zawilska y Nowak 1992; Zawilska, *et al.*, 2000; Zawilska, *et al.*, 2002; Zawilska, *et al.*, 2003), segundo, en condiciones constantes el ritmo permanece de manera rítmica, por consiguiente los pinealocitos de las aves presentan osciladores endógenos y por último, el ritmo de liberación de MEL es correspondiente al ambiente, en ciclo de L/O la liberación es alta en la noche y baja en el día (Takahashi, *et al.*, 1989).

La Biosíntesis de la hormona se inicia a partir del triptofano circulante, proveniente de la dieta, el reloj circádico de cada pinealocito que regula la biosíntesis de la hormona se realiza en cuatro pasos enzimáticos, el triptofano es convertido en dos pasos en serotonina, la cual es acetilada por la N-acetil-transferasa (AA-NAT) y metilada por la hidroxindole-O-metiltransferasa (HIOMT) a melatonina; el ritmo de AA-NAT se relaciona con el ritmo de MEL, la función de la hormona está relacionada con la época reproductiva en especies estacionales y la actividad locomotora, el trasplante de glándula pineal a la cámara anterior del ojo en individuos arrítmicos provoca la recuperación de la actividad locomotora rítmica. La pineal tiene la característica de mantener el ritmo del individuo al que pertenece así al realizar un trasplante al huésped este expresa el ritmo del donador (Zimmerman y Menaker, 1979). Se ha demostrado que la glándula pineal tiene la propiedad de guardar la actividad en relación al fotoperiodo del momento del año, la de recordarle la época del año, así como la hora del día siendo características importantes para las funciones de adaptación (Zimmerman y Menaker 1979; Brandstatter, *et al.*, 2000).

### ***Fotorreceptores***

La biosíntesis de MEL en retina ocurre de manera circádica y es regulada por un oscilador localizado en fotorreceptores, la acción de la hormona es en el mismo ojo, jugando un papel de señal circádica y análogo neuroquímico de oscuridad; influye en la adaptación de los movimientos fotomecánicos y gránulos de melanina ( Okano, *et al* 1992; 2002). En este campo se sabe que los pigmentos visuales provienen de la duplicación génica a lo largo de las diferentes ramas del árbol evolutivo de las especies, son los encargados de la transducción de la señal proveniente de la luz; en aves y en todos los vertebrados no mamíferos se tienen células fotorreceptoras circádicas especializadas, localizadas en diferentes estructuras del cerebro, estas responden al estímulo de la luz y sus señales inciden directamente en los centros del reloj, en las aves los ojos no son necesarios para la sincronización aunque si están presentes se incrementa la sensibilidad en la misma (Menaker, *et al.*, 2003) , en las aves se presentan en total 6 pigmentos: rodopsina, (Degushi, *et al.*, 1981; Froehlich, *et al.*, 2002) 4 pigmentos en conos y uno en la pineal llamado pinopsina ( Okano, *et al.*, 1992; 2002), localizado en el segmento externo en el lumen folicular y en células fotorreceptoras modificadas en la capa parafolicular con una función todavía desconocida (Hirunagi, *et al.*, 1997; Wright, *et al.*, 2001); la melanopsina, clonada en la glándula pineal se expresa en las células parafoliculares y en las capas celulares no fotorreceptoras de la retina, también ha sido identificada en la retina de mamíferos. Las vías de transducción y los segundos mensajeros involucrados en los dos mecanismos participan los nucleótidos cíclicos AMP<sub>c</sub> y GMP<sub>c</sub> , flujo de calcio y MAP kinasas.

### ***Reloj circádico de las aves análisis molecular***

Los componentes moleculares oscilatorios, tienen diferencias funcionales entre los genes específicos del reloj circádico a lo largo de la evolución de las diferentes especies(Grundschober, *et al.*, 2003; Correa, *et al.*, 2003) las comparaciones de la dinámica temporal de los genes es un hecho fundamental para poder entender las similitudes y diferencias entre los sistemas y los papeles que desempeñan cada uno de ellos en la generación de las oscilaciones circádicas ( Natesen, *et al.*, 2002; Okamura, *et al.*, 2002).

En el entendimiento del reloj circadiano de las aves, se han clonado homólogos de *Clock* y *Period* (*qClock*, *qPer2* y *qPer3*) y caracterizado sus genes, localizados en SNC se ha encontrado un 79%, 46% y 33% de similitud respectivamente en la secuencia de aminoácidos con mCLOCK, mPER2 y mPER3 respectivamente, siendo *qPer2* sensible a la luz en su expresión. Los genes del reloj se expresan en otras regiones del cerebro que están involucradas en la regulación de la medición de fotoperiodo, indicando que la respuesta fotoperiódica está controlada por el reloj circadiano ( Takahashi, 1992; Yashimura, *et al.*, 2000; Yamamoto, *et al.*, 2000; Okano, *et al.*, 2001 ).

### ***Sistema Endócrino***

La integración de la información del medio ambiente se encuentra reflejada en los patrones de secreción hormonal, las cuales están involucradas en los cambios que se presentan en un organismo a nivel fisiológico, de comportamiento, morfológico y/o de desarrollo (Dufty, *et al.*, 2002) El sistema endocrino en asociación con el sistema nervioso, provee el mecanismo de comunicación entre células y órganos, siendo un papel fundamental y crítico para organismos multicelulares así como en especies superiores en el control fino de muchos sistemas, lo que le permite crecer, desarrollarse, reproducirse y mantener una homeostasis y la respuesta (s) necesaria a los cambios en el medio ambiente por estímulos y estrés .

El Término endocrino se refiere al proceso de secreción de sustancias biológicamente activas en el organismo, las hormonas ejercen funciones de regulación, principalmente en otras células que no le dieron origen; se tienen establecidos los mecanismos de regulación de los niveles circulantes de ellas: el basal o espontáneo, la retroalimentación que inhibe por hormonas su síntesis y/o liberación; la estimulación o inhibición de la liberación hormonal por sustancias que pueden o no ser reguladas por las mismas hormonas, el establecimiento de ritmos circádicos para la liberación hormonal y la estimulación y/o inhibición mediada por el sistema nervioso de la liberación hormonal en respuesta a la anticipación de una actividad especial.

El proceso de comunicación y control del sistema endocrino se lleva a cabo por la interrelación del sistema circulatorio, los órganos blanco y los tejidos y órganos encargados

de la degradación e inactivación de ellas. Las hormonas son distribuidas a los órganos blanco por el sistema circulatorio, estos responden con cambios característicos y secreciones, esta respuesta es monitoreada por un controlador, el hipotálamo-hipófisis, las hormonas son biotransformadas por el metabolismo periférico e inactivadas en hígado. Las señales que provienen del controlador está encargado primero por los factores de liberación y su variación en la velocidad de secreción y liberación que va a dar la concentración plasmática de las hormonas tróficas para cada una de los órganos blanco; cuando son liberadas las secreciones son distribuidas a través de todo el organismo y en consecuencia afecta muchos procesos fisiológicos en particular los sitios de retroalimentación hipotálamo-hipófisis (Chrousos, 1998).

La tarea del controlador es la de ejecutar o mantener una condición metabólica adecuada y / o un estado del órgano blanco en una fase constante de cambio y circunstancias impredecibles, el estado en el que se encuentra está determinado por el control del eje hipotálamo-hipófisis, la capacidad de conducción es el grado máximo en la cual la información puede ser transmitida sobre un conducto en particular, las señales de comunicación son codificadas como variaciones en el grado de liberación de la hormona, su propagación es en fluctuaciones detectables a nivel plasmático, puede comunicar una gran cantidad de información a otros órganos, los cuales están limitados para comunicarse entre ellos .

El sistema de comunicación incluye el mecanismo de liberación hormonal, su transporte, la detección así como la inactivación; es claro que tanto los cambios cíclicos graduales y el concepto de niveles constantes representan frecuencias de señales, la importancia fisiológica es que el mecanismo del receptor puede detectar los cambios de niveles plasmáticos de la hormona, la magnitud y la frecuencia y ejecuta la (s) señal (s) necesarias; la complejidad de las estructuras neuroendocrinas nos sugieren que la señal es un proceso sofisticado.

### ***Glandula Adrenal***

Muchas hormonas son secretadas de manera cíclica, el patrón de secreción se encuentra relacionado con el papel fisiológico que desempeña.

Los glucocorticoides producidos en la corteza de la glándula adrenal siendo el cortisol y/o corticoesterona (CORT) dependiendo de la especie es el más importante, recibe su nombre por su papel en el mantenimiento de la glucosa sérica y la regulación del metabolismo de carbohidratos; tiene un papel fundamental en la regulación de varios procesos fisiológicos como es el desarrollo, crecimiento, efecto antiinflamatorio, respuesta inmune y la respuesta al estrés (Munck,*et al.*, 1984).

La secreción de esta hormona es considerada de ritmo diurno con cuatro factores involucrados: tener un ritmo intrínseco en la síntesis y secreción de hormona liberadora de corticotropina (CRH) en hipotálamo; se relaciona con el ciclo de alimentación así como con el de luz /oscuridad y su ritmo es inherente a la glándula adrenal y está mediado por su inervación. El Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) se considera un sistema de retroalimentación endocrina, y se precisa de la siguiente manera: las hormonas hipotalámicas regulan la síntesis y liberación de las hormonas producidas en hipófisis las cuales van a actuar en células blanco endocrinas o no, los tres niveles de hormonas, hipotalámicas, de hipófisis y de órgano blanco periférico actúan en asas de retroalimentación.

La endocrinología de los glucocorticoides es muy amplia y se presentan una variedad de acciones, en los vertebrados, las fluctuaciones diarias en los niveles basales parece que funcionan para regular los mecanismos implicados en la homeostasis, en contraste a los que se secretan en respuesta a un estímulo, llamado “estres” que provoca cambios en la fisiología y comportamiento del individuo. Las determinaciones circadianas de los niveles basales y en stres de los glucocorticoides en mamíferos han sido detectadas, siendo raros los estudios de especies en vida salvaje o de vertebrados estacionales (Breuner and Wingfield 2000). Se considera importante conocer la secreción de las hormonas en estos animales para entender los efectos de las mismas en las diferentes funciones y así entender el éxito de la sobrevivencia en su ambiente natural.

Las glándulas suprarrenales son esenciales para la vida, ya que influyen a través de las hormonas que producen en numerosos procesos somáticos esenciales en las aves, es considerada una glándula secretora de esteroides la cual se desarrolla junto con el riñón y las gónadas,

La respuesta adrenocortical está caracterizada por un tiempo corto de incremento temporal, un mensajero hormonal que inicia cambios fisiológicos importantes que incluye los efectos en el metabolismo intermedio y el crecimiento.

### ***Anatomía***

Son de color amarillo pálido de forma triangular, se localizan en la parte media anterior del lóbulo cefálico del riñón, la naturaleza entremezclada de los componentes celulares de la corteza y médula constituyen una de las principales características en las aves, en contraste con los mamíferos, en donde la médula ocupa la parte central rodeada de la corteza con sus tres zonas concéntricas bien definidas (Ghosh y Carmichael, 2001) son órganos muy vascularizados reciben aporte arterial de una rama de la arteria renal y cada glándula presenta un drenaje venoso directo a la vena cava posterior; la inervación es simpática y se extienden de los ganglios craneal y caudal a la envoltura pericapsular de las glándulas y fibras no mielinizadas que provienen de estos ganglios.

La microanatomía presenta una característica, el entremezclado de tejido cortical y cromafín en agrupaciones o cordones de células cromafines distribuidas a través del tejido cortical con un 15-25% de tejido adrenal que se encuentra en una asociación cercana a espacios vasculares, siendo más abundantes en la parte media de la glándula con anastomosis junto a la superficie interna de la cápsula de tejido conectivo.

El arreglo de las células específicas a lo largo de los cordones da como resultado la formación de estructuras definidas llamadas zonas, las cuales son poco claras en las aves en comparación a la de los mamíferos. Se tienen dos zonas la subcapsular y la profunda; el tejido cortical se divide en la subcapsular con una profundidad de 20-40 células y las cuales producen aldosterona y la más extensa, la profunda la cual produce corticosterona, las zonas son dependientes del estatus fisiológico, las células corticales presentan numerosas gotas lipídicas, cuerpos membranales, vesículas, mitocondrias bien desarrolladas así como un aparato de Golgi extenso, retículo endoplásmico y sistema de microtúbulos (Doddamani, *et al.*, 2000).

### ***Ontogenia del Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal***

El desarrollo del eje HHA incluye la creación y diferenciación de las células endocrina así como las interacciones entre los tejidos del sistema endocrino y la integración de una serie de sistemas de control; en el caso de las aves este se realiza en etapa pre y posnatal, además de tener la ventaja de la manipulación sin ninguna interferencia materna.

La importancia en el conocimiento del desarrollo del eje HHA radica en que los esteroides adrenocorticales juegan un papel significativo en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas ( King, *et al.*, 1965; Davidson y Rea, 1983), en la regulación del agua y el balance mineral así como la tolerancia al estrés ( Wiepkema y Koolhaas, 1993), se considera que estas funciones son críticas en el crecimiento y desarrollo del individuo; otra razón es que los esteroides adrenales tienen el papel exclusivo en el desarrollo, así como los efectos en el crecimiento y diferenciación de funciones del intestino delgado. La integridad del eje es necesaria para mantener los niveles basales de las hormonas así como en aquellas situaciones en respuesta a estímulos que integran el fenómeno de estrés ( Selye, 1936); al alcanzar la madurez, se tiene una secreción en que el patrón se considera normal y se refleja en la función de la ACTH secretada por la hipófisis anterior, en el desarrollo de las neuronas neurosecretoras del hipotálamo encargadas de la biosíntesis y secreción del factor liberador de corticotropina (CRF) y por último en el desarrollo de la corteza adrenal.

Se ha considerado que la regulación de la glándula adrenal esta involucrado el desarrollo inicial de la corteza adrenal de manera independiente a la ACTH, y que después se adquiere la respuesta a esta hormona aumentado más tarde con el incremento en la sensibilidad en la corteza a la modulación de la ACTH ( Jozsa, *et al.*, 1986; Grossmann, 1995).

En la ontogenia del sistema se establece que el sistema neuronal inmunreactivo secretor de CRF del hipotálamo aparece en el día 7 de la incubación, para que en el núcleo periventricular del embrión en la segunda mitad de la incubación quede establecido al día 14; esta estructura crece en numero durante toda la incubación y se observa en etapa adulta (Jozsa, *et al.*, 1986); por esta misma fecha se presenta el desarrollo de las fibras y terminales localizadas en la eminencia media lo que indica que las neuronas CRF inician su función de controlar la

secreción de ACTH. Durante el proceso de ontogenia del sistema, se tiene la creación y diferenciación de las células endocrinas logrando de manera gradual las interacciones entre los tejidos del sistema endocrino, dando como resultado una integración entre diferentes sistemas de control.

La unión del hipotálamo es realizada con la estructura llamada pars distalis y ocurre en etapa temprana al día 6 del desarrollo, así como la conexión vascular; el plexo vascular porta se localiza en hipotálamo-hipófisis y se visualiza en el día 12, lo que asegura que la síntesis de ACTH por la adenohipófisis este regulada por la CRF del hipotálamo al día 14 (Jenkins, *et al.*, 2004).

La hormona arginina vasotocina (AVT) que es un análogo de la hormona arginina vasopresina en mamíferos, es un nonapéptido de la hipófisis posterior siendo esencial en la regulación de la molaridad del líquido extracelular en las aves y este a su vez influye en el eje H-H-A estimulando la liberación de ACTH de manera directa o vía CRF (Grossmann, *et al.*, 1995), el inicio de su actividad se desconoce, los estudios moleculares *in vitro* revelan que el RNA<sub>m</sub> de la AVT se hace evidente en el día 6 del desarrollo (Milewski, *et al.*, 1989) siendo detectable al día 14 y ejerciendo su función ormoregulatoria alrededor de la mitad de la embriogénesis; la ontogenia de la secreción de los glucocorticoides, se ha demostrado que la corteza adrenal proviene por la diseminación del mesotelio celómico que es medial al mesonefros, las enzimas encargadas y los sustratos necesarios para la síntesis de los esteroides aparecen de manera temprana en el desarrollo embrionario, la actividad enzimática de la 3 $\alpha$ -ol-deshidrogenasa se detecta al día 4 (Ericson, *et al.*, 1969), el colesterol y los lípidos se tienen en el día 5 (Ericson, *et al.*, 1969), la enzima P450<sub>scc</sub> es la encargada de convertir el colesterol a pregnenolona, el RNA<sub>m</sub> de esta enzima es detectado en la glándula adrenal en el día 7, los análisis por PCR revelaron que la expresión del mismo en este momento representa el progreso en la síntesis de CORT; de manera contrastante el RNA<sub>m</sub> de la enzima 3 $\alpha$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 $\alpha$ -HSD) la encargada de la conversión de pregnenolona a progesterona, se expresa de manera constitutiva después del día 6; en los experimentos en donde se tratan con ACTH *in vivo* en esta etapa, se tiene como resultado un aumento de la actividad de esta enzima, los tratamientos similares también estimulan la producción de CORT

al día 5 (Ericson, *et al.*, 1969; Pedernesa, *et al.*, 1971) lo que establece que la respuesta a la ACTH se presenta de manera temprana.

La P450<sub>sc</sub> se puede considerar la enzima limitante en la síntesis de CORT en la glándula adrenal, la función de la glándula adrenal parece que se inicia al día 5, pero el momento en el cual adquiere su estado funcional durante la embriogénesis no se conoce. En el embrión de *Gallus domesticus* las concentraciones plasmáticas de los glucocorticoides muestran dos incrementos distintos, el primero se detecta entre el día 14-16 (Wise, *et al.*, 1973) la segunda ocurre inmediatamente antes de la incubación (Marie-C, *et al.*, 1981; Tanabe, *et al.*, 1986), los glucocorticoides que comprenden el primer incremento son CORT y cortisol en proporciones similares (Kalliecharan, *et al.*, 1974) en el desarrollo tardío de la glándula adrenal, su principal secreción es la CORT (Kalliecharan, *et al.*, 1974; Nakamura, *et al.*, 1978; Carsia, *et al.*, 1987); el fenómeno es debido a un aumento de la enzima 21-hidroxilasa (Nakamura, *et al.*, 1978) la encargada de la conversión de la progesterona en 11-desoxicorticoesterona, la explicación del incremento de glucocorticoides en el día 14-16 es que la secreción de ACTH comienza o se considera significativa en este momento.

La hipófisis tiene influencia en el desarrollo de la glándula adrenal en el día 13-15, hasta este momento el estado endocrino se ha determinado en que la ACTH puede ser secretada durante la etapa temprana del desarrollo pero las concentraciones plasmáticas pueden no ser suficientes para iniciar la actividad de la adrenal; en el primer día en que la ACTH es liberada de la hipófisis anterior puede ser el día 14, la corteza de la adrenal puede no ser sensible a la ACTH debido a la falta de receptores hasta el día 14.

La determinación de CORT antes y después del día 14-16 sugiere que existe un aumento en su secreción, es debido a la ACTH, pero este nivel no cambia (Wise, *et al.*, 1978) esto implica que la glándula adrenal del embrión tiene algún factor innato que le sirve como factor limitante que controla la secreción esteroidea, la propiedad intrínseca podría regular la secreción independiente que ocurre antes de los días 14-16 y la secreción dependiente de ACTH después de estos días (Love, *et al.*, 2003); otro factor a considerar es la masa del tejido de la glándula el cual aumenta tanto en médula como en corteza durante este periodo de tiempo, se ha observado que el mayor índice mitótico es durante el día 14 (Girovard, *et al.*, 1973).

## ***Hormonas del Eje Hipotalamo-Hipófisis-Adrenal***

### ***Ritmo Circadico***

La función de la glándula adrenal está en tres niveles: la propia glándula adrenal, la adenohipófisis y el hipotálamo, los cuales forman una jerarquía con un significado muy particular, así como un grado de autonomía, sin embargo se tiene en cada nivel el control necesario sobre el siguiente nivel.

La corticoesterona es la principal hormona esteroide producida en una proporción de concentración con la aldosterona de 1:4 en pollos y 1:63 en patos (Radke y Harvey, 1984) otros corticoides que son sintetizados y liberados en menor proporción sobre todo en etapa embrionaria son cortisol y cortisona (Kalliecharan, *et al.*, 1974; 1977).

La generación del patrón de secreción característico del eje HHA va a depender de una manera relativa de las oscilaciones constantes de las neuronas parvocelulares CRH, AVP y CRH / AVP con la imposición de varios componentes de entrada los que se expresan como cambios en la amplitud (Chrousos, 1992; Chrousos 1995) , los estímulos positivos incluyen a los osciladores como el locus caeruleus / norepinefrina y los sistemas mesocorticolímbico y dopaminérgico, la estimulación negativa proveniente del hipocampo y de la corteza prefrontal así como la retroalimentación del sistema del núcleo arcuato-POMC-peptidérgico y la hormona final de la secreción del eje CORT / cortisol dependiendo de la especie. Tenemos que CRH y AVP son secretadas por las neuronas parvocelulares del núcleo paraventricular del hipotálamo al sistema porta hipotálamo-hipófisis de manera sinérgica se estimula las células corticotróficas de la hipófisis anterior para liberar ACTH, la cual activa la secreción de CORT/cortisol en la corteza adrenal.

La AVP secretada por las fibras colaterales de las neuronas magno celulares del núcleo paraventricular y núcleo supraóptica también participan en la estimulación de la biosíntesis y secreción de ACTH, hecho que ocurre como respuesta a los estímulos osmóticos o de volumen sanguíneo. La CRH parvocelular y la AVP son secretadas de manera pulsátil con una frecuencia ultradiana relativa; la amplitud de estos episodios secretorios se encuentran

regulados por las señales de origen circadico, homeostático o los relacionados con el estrés (Fig. 3) es de considerar que la sensibilidad presente en los corticotrofos de la hipófisis y de la zona fasciculada de la glándula adrenal, se encuentra influenciada por las señales endocrinas y / o neurocrinas , así como el estado funcional y estructural de los órganos (Chrousos, 1998) así tenemos un patrón de secreción que se caracteriza por ser ritmo circadico presentando niveles en picos alrededor del inicio del día y es normalmente en fase con el ritmo de la secreción de ACTH; sin embargo las fluctuaciones nocturnas en plasma de esta última se caracterizan por ser de amplitud baja y parecen no ser relevantes en el periodo de 24 horas (Krieger, *et al.*, 1977) así la amplificación de esta señal rítmica es necesaria para producir un ritmo adrenal pronunciado. Se ha observado en ratas que dicha amplificación esta dada por un incremento en la sensibilidad de la glándula adrenal a la ACTH en el pico del ritmo de la corticoesterona (Kaneko, *et al.*, 1980; Cascio, *et al.*, 1987; Carnes, *et al.*, 1989;).

La síntesis y liberación de corticoesterona se caracteriza por ser temporal y de corto tiempo, que induce un mensaje a diferentes órganos blanco, dando como resultado cambios fisiológicos que incluyen metabolismo intermedio y crecimiento, las concentraciones elevadas estimulan vías alternas de metabolismo intermedio y patrones de comportamiento (aumento de actividad locomotora, disminución en el consumo de oxígeno, lipogénesis, aumento en la toma de alimento y disponibilidad de energía proveniente del catabolismo proteico) en respuesta a condiciones impredecibles del medio ambiente como climas severos y restricción en la disponibilidad de alimento (Gray, *et al.*, 1990, Romero y Ramage-Healey 2002).

La generación de un incremento en la actividad del eje HHA se ve reflejado en el aumento de glucocorticoides circulantes como resultado al estímulo (s) que llamamos estrés, en vertebrados en vida libre, la magnitud de la respuesta adrenocortical puede ser modulada por una variedad de factores ambientales y fisiológicos, como es el fotoperido, la condición corporal del individuo, los cambios ambientales, y la falta de alimento (Wiengfield, *et al.*, 1992; Romero, *et al.*, 1998; Romero y Soma 1998; Ramage-Healey y Romero 2001) siendo algunos de los factores que lo desencadenan; los niveles secretados son en respuesta al tipo de estresor y depende de la fisiología del individuo, condición corporal, estatus social y época de estación (Breuner y Wingfield 2000) se caracteriza por depender de las oscilaciones ultradianas relativamente constantes de las neuronas parvocelulares CRH, AVP y CRH / AVP;

la exposición a estímulos (estrés) van a dar como resultado un incremento en la amplitud. Bajo la influencia de estos estímulos se presenta la activación ejercida de manera directa en el sistema del locus coeruleus / norepinefrina y que se incluyen factores emocionales sobre la amígdala y el sistema mesocorticolímbico dopaminérgico, y corteza prefrontal. En situaciones en que se reciben señales circulatorias debidas a los cambios en el volumen circulante efectivo o a la presión sobre los nervios vagos en su vía aferentes se tiene una activación del sistema, la señal osmótica y química humoral, el dolor y la inflamación son capaces de enviar señales humorales y neurales a través de los nervios vagos y las vías sensoriales aferentes y activar al sistema (Rittmaster, *et al.*, 1987). El glucocorticoide más común en las aves es CORT, la función exacta en la respuesta al estrés en estas especies es poco clara, se ha establecido que tiene el papel de movilizar los sustratos energéticos, se tiene movilización de glucosa en hígado, el tejido adiposo también participa en el proceso energético a través de activar la lipólisis dando como resultado un aumento en los ácidos grasos libres, con la finalidad de ayudar al ave a enfrentar el período de estrés (Remage-Healey y Romero 2001) es indudable que el incremento en los niveles de CORT están asociados con beneficios y costos que deben ser balanceados; en experimentos realizados en diferentes especies de aves dieron como conclusión que la resultante de la respuesta adrenocortical como beneficio se tiene un incremento en la toma de alimento, comportamiento de forraje y agresión, el costo lo vemos traducido en una baja en el crecimiento eficiente y el compromiso de las habilidades cognitivas (Kitaysky, *et al.*, 2003). La respuesta adrenocortical al desafío nutricional se tienen diferencias entre especies y se han propuesto tres hipótesis no excluyentes entre sí: evolución, filogenética y ecológica (Kitaysky, *et al.*, 2003).

El sistema reproductor del individuo es otro factor que influye en la actividad del eje HHA a través de la señal positiva del estrógeno en los sistemas CRH, AVP y LC /NE así como en el sistema leptina/ neuropeptido Y que inhibe al CRH / AVP y estimula LC /NE (Vamvakopoulos, *et al.*, 1994). Varios estudios han mostrado que los cambios diurnos en la sensibilidad adrenocortical se presenta de manera independiente de los cambios de ACTH, en condiciones de reposo, se tiene un ritmo adrenocortical persistente en animales tratados con dexametasona y los cuales no mostraron un ritmo de ACTH, en condiciones de estrés los cambios en las concentraciones plasmáticas de los glucocorticoides inducen una activación del

eje HHA sin cambios en las concentraciones plasmáticas de ACTH (Wood, *et al.*, 1982; Fehm, *et al.*, 1984; Bradbury, *et al.*, 1991; Buijs, *et al.*, 1997). Se han propuestos algunos mecanismos para explicar los cambios diurnos de receptores a ACTH, o la configuración de membrana adrenocortical o la unión de los receptores con la adenilato ciclasa (Kaneko, *et al.*, 1981) los datos experimentales proponen que el mecanismo existe y que la sensibilidad adrenal a la ACTH esta regulada por la inervación funcional de la corteza, siendo que en glándulas denervadas se pierde el ritmo de la corticoesterona (Ottenweller, *et al.*, 1982).

Algunos estudios han mostrado la regulación estacional en aves en la respuesta adrenocortical y/o de las globulinas unidoras de corticosteroides en situaciones de estrés, la habilidad para regular los efectos de los glucocorticoides le permite al individuo sobrevivir y reproducirse en condiciones variables o constantes del medio ambiente; el mecanismo es la disminución en la capacidad adrenal para secretar CORT y la disminución en la capacidad del hipotálamo para secretar CRF, AVT y MT, varias especies de aves pueden modular las concentraciones de glucocorticoides, y parece estar relacionado con el estado fisiológico del individuo como la época de cambio de plumaje y época de crianza. (Romero y Soma 98); los receptores a estas hormonas también varían y se han identificado la presencia en cerebro de dos intracelulares y uno membranal, con funciones diferentes, los membranales en el cerebro llevan a cabo la función de mediar las respuestas rápidas de comportamiento al estrés, mientras que los intracelulares median los cambios de comportamiento estructural de característica permanente; ambos receptores trabajan de manera conjunta en la regulación de diferentes funciones cerebrales (Breuner, *et al.*, 2001).

### ***Biosíntesis de novo de corticoesterona***

Se inicia a partir de Acetil CoA y utiliza el colesterol como intermediario obligatorio, vía pregnenolona y 11-deoxicorticosterona ( Fig. 4). Aunque la glándula suprarrenal de las aves tiene la posibilidad de convertir la progesterona a 11- $\beta$ -hidroxiprogesterona, esta es una segunda vía en la síntesis de corticoesterona (Nakamura, *et al.*, 1978), la hormona sintetizada es liberada o almacenada en forma temporal en la glándula ya que también funciona como precursor en la síntesis de aldosterona (Pedernera, *et al.*, 1973). Se tienen concentraciones de

cortisol y cortisona en pollos en etapa embrionaria lo que refleja una actividad de síntesis de las adrenales, la actividad de la enzima 17- $\alpha$ -hidroxilasa se encuentra en un 70% en comparación a la 21-hidroxilasa; La actividad disminuye en la etapa de incubación y desaparece por completo en pollos y patos de dos semanas de edad (Nakamura, *et al.*, 1978) la glándula en etapa embrionaria metaboliza 7- $\alpha$ -hidroxiprogesterona convirtiéndola en androstendiona y testosterona (Tanabe, *et al.*, 1979) probablemente es una fuente más importante de testosterona que las gónadas en el embrión.

La secreción de la corticoesterona se lleva a cabo por la actividad de microfilamentos en las células corticales (Cronshaw, *et al.* 1984) la corticoesterona circulante es transportada unida a proteínas plasmáticas en un equilibrio dinámico, la transcortina ó globulina unidora de corticoesteroide (CBGs) de alta afinidad y baja afinidad de unión, a corticoesterona y progesterona con reacción cruzada a testosterona, su disociación varía en las especies, en pollos es de una Kd de  $5.6 \times 10^{-8}$  mol/litro y con una capacidad de  $1.44 \times 10^{-8}$  mol/litro, se ha identificado en el plasma de diferentes especies de aves con propiedades fisicoquímicas similares a la CBG en otros vertebrados (Wingfield, *et al.*, 1984), las cuales proveen estabilidad en la concentración de la hormona libre. Al entrar a la circulación periférica, el corticoide se libera rápidamente y permite estar disponible para su metabolismo en hígado con la enzima 5- $\alpha$ -reductasa la que produce 11-dehidrocorticosterona y tetrahidrocorticosterona (Daniel, *et al.*, 1971). La determinación de la concentración basal periférica en plasma de los corticoides adrenales se ha realizado con diferentes metodologías cada una con características de precisión, especificidad y sensibilidad diferentes, lo que se refleja en la determinación de las diferentes concentraciones reportadas. Se inicia en 1957 por cromatografía compleja (Phillips, *et al.*, 1957), seguida de la técnica por doble isotopo y fluorescencia determinando concentraciones de 73-123 ng/ml y 65-80 ng/ml en pollos (Nagra, *et al.*, 1963); el advenimiento de las técnicas por competencia y radioinmunoensayo se ha detectado concentraciones de 1.5-6 ng/ml en pollos, 3-29 ng/ml en pavo y 5-15 ng/ml en patos (Wingfield y Farner 1975), estas metodologías han permitido detectar concentraciones de la hormona en volúmenes de hasta 500  $\mu$ l en plasma permitiendo el estudio de la misma en diferentes épocas del año.

Como todas las hormonas presentan una vida media y un metabolismo, en el caso de los corticoides una vez que se encuentran en la circulación se presenta una dilución rápida permitiendo estar disponibles para su metabolismo e inactivación, la distribución de la hormona varía con el estado fisiológico de las aves; la concentración de los corticoides corticosterona y aldosterona en la circulación decae de manera exponencial con una vida media para corticosterona que va de 22 a 10 minutos dependiendo de la especie de ave que se trate y que depende de la edad (Kovacs, *et al.*, 1983); en el hígado se lleva a cabo el metabolismo de la hormona a través de las enzimas 5- $\alpha$ -reductasa dando 11-dehidrocorticoesterona y tetrahydrocorticoesterona.

### ***Control de la secreción de corticoesterona***

La actividad adrenocortical en muchas especies se presenta de manera circádica, el ritmo puede ser sincronizado por el fotoperíodo y/o el consumo de alimento que está relacionado con los aspectos de ingreso de energía y el metabolismo (Woodley, *et al.*, 03; Dufty y Belthoff 1998) la función del eje HHA presenta variaciones en el tiempo en su actividad basal demostradas en un ciclo cercano o dentro de las 24 horas, las pulsaciones de la hormona funcionan para prevenir una desregulación del eje HHA manteniendo su habilidad para responder en caso de emergencia.

La actividad circádica que se presenta se da en etapas cercanas a la terminación de la maduración de los órganos fetales (Dalle, *et al.*, 1976; Dupouy, *et al.*, 1975), en la rata, la funcionalidad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal responsable de la actividad adrenocortical parece ser organizada por la influencia de las hormonas esteroideas; en las aves los estudios ontológicos con relación a la esteroidogénesis se han limitado a especies que muestran una respuesta adrenocortical desarrollada (Kallicharan, *et al.*, 1976) .

La secreción de corticoesterona en aves está regulada a través del eje HHA que son similares al de los mamíferos en donde la ACTH de la hipófisis controla la liberación de la corticoesterona adrenal, así mismo el factor liberador de corticotropina (CRF), la arginina vasotocina (AVT) y la mesotocina (MT) que se encuentran presentes en la eminencia media del hipotálamo las cuales controlan la secreción de ACTH a través de la vía portal hipotálamo-

hipófisis, la AVT y MT parece que juegan el mismo papel en las aves que la arginina vasopresina u oxitocina en mamíferos la hormona adrenocorticotrofica corticotropina la ACTH es liberada de la hipófisis en respuesta al factor liberador de corticotropina del hipotálamo, la arginina vasotocina (AVT) y la mesotocina (MT) también la estimulan ; la ACTH estimula la liberación de corticoesterona rápidamente dentro de los primeros 5 minutos siendo dependiente de dosis. En pollos se ha determinado que la glándula es menos sensibles al desafío con ACTH de mamíferos y avestruces que la de rata.

El mecanismo de acción de la hormona es através de AMPc y el mecanismo de calcio/calmodulina, se tiene un mecanismo de retroalimentación negativo por la corticoestronea circulante en aves que influye a nivel hipotalamo-hipófisis, la administración de la hormona provoca una supresión basal de secreción en los patos.

En condiciones en que se presentan eventos impredecibles como son tormentas severas, almacén de alimento, invierno, migración y crianza ha sido estudiada en los adultos y es poco conocida en las primeras etapas de la vida, en el canario *Serinus canaria*, los niveles basales postnatales incrementan en etapas cercanas a la maduras en la especie *Mimus polyglottos* de diez dias de edad muestran secreción elevada en el momento que se tiene la independencia paterna (Sims, *et al.*, 2000).

### ***Medio Ambiente y Estrés***

Durante el ciclo de vida de los animales se tienen patrones y rutinas como son la obtención de alimento, el apareamiento, migración e invernación por mencionar algunas; el concepto de alostasis se refiere al mantenimiento de la estabilidad a través del cambio, es un proceso a través del cual los organismos se ajustan de manera activa a los eventos predecibles e impredecibles ( McEwen, 2000; Wingfield y Sapolsky 2003).

Los animales tienen que tratar con las perturbaciones de su medio ambiente, en algún momento el individuo tendría que hacer frente a un evento repentino como el ataque de un depredador, siendo más fácil la respuesta a eventos moderados como son la inclemencia del tiempo y la disponibilidad de alimento; no obstante los vertebrados tienen un comportamiento

altamente efectivo así como las estrategias fisiológicas necesarias para enfrentar al medio ambiente caprichoso (Schulkin, *et al.*, 2003).

Los cambios que se dan en el comportamiento y en la fisiología, han sido denominados “estado de la historia de vida emergente” los cuales sirven para incrementar la adaptación al ciclo de vida, se consideran cuatro componentes principales: reacción proactiva la cual copia estilos para responder al estrés psicosocial, y a los depredadores y están mediados por el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) y el eje hipotálamo-hipófisis- gónadas (HHG); respuesta de pelea o vuelo a las condiciones de emergencia rápida como son el ataque por una depredador de manera sorpresiva o las tormentas severas repentinas, están mediadas por las ramas simpáticas del sistema nervioso autónomo de manera particular la adrenalina; dejar o tomar, son respuestas de comportamiento o a nivel fisiológico dadas a las perturbaciones de tiempo prolongado en el medio físico, mediadas por el HHA (en corteza adrenal, esteroides y péptidos asociados) así como la elevación de glucocorticoides circulantes en perturbaciones directas y por último comportamiento de enfermedad o fiebre en respuesta a una infección, mediado por interleucinas y prostaglandinas (Kitaysky, *et al.*, 1999a; Wingfield y Sapolsky 2003). Todos estos componentes están interconectados y se expresan de manera secuencial o simultáneamente, dependiendo de las circunstancias.

El medio ambiente y el estrés, tiene efectos deletéreos en la función reproductiva de los seres vivos, la respuesta fisiológica que se da en las aves depende del tipo de stressor y el tiempo que este dure, la magnitud de la respuesta puede modularse por una variedad de factores ambientales como son la duración del fotoperíodo y la condición del organismo (Beuving, *et al.*, 1978; Rees, *et al.*, 1985; Breuner, *et al.*, 2000). La percepción del mismo es como una amenaza a la supervivencia ó al bienestar que va a incrementar la actividad adrenocortical y en casos prolongados con alteraciones en la función reproductora y de comportamiento. El estrés agudo provoca un aumento en la síntesis de corticosterona con disminución de ácido ascórbico en la glándula adrenal; el estrés crónico causa hipertrofia adrenal sobre todo de la zona profunda.

A pesar de la opinión generalizada en que el estrés inhibe la función reproductiva, se tienen excepciones en que continúan sus funciones a pesar de; bajo ciertas circunstancias evolucionaron de manera favorable al estrés, un ejemplo son las aves con reproducción

estacional y el tiempo de apareamiento que es corto en que el stress agudo es tolerado a favor de la reproducción (Breuner y Wingfield, 2000). En la especie *Ficedula hypoleuca* el macho es polígamo y con alta sensibilidad al eje HHA en stress no presenta conducta parental, la hembra por otro lado presenta toda la conducta parental con una respuesta adrenocortical reducida (Wingfield y Sapolsky 2003).

Los mecanismos propuestos encargados de la resistencia al eje HHA por efecto de stress son:

- Bloqueo a nivel de CNS: los estresores no son percibidos como stress
- Bloqueo a nivel de HHA: falla para secretar glucocorticoides (varias especies de aves)
- Bloqueo a nivel del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (HHG): resistencia al eje gonadal a la acción de los glucocorticoides (aves cantoras)
- Estimulación compensatoria hacia el eje gonadal para impedir la acción inhibitoria de los glucocorticoides. Protección de la acción de los glucocorticoides : proteínas unidoras de esteroides

(Meir y Fivvizzanni 1975; Romero, *et al.*, 1998; Romero y Soma 1998; Jennings y Moore 2000; Breuner y Wingfield, 2000; Deviche, *et al.*, 2001; Sockman y Schwabl 2001; Pereyra y Wingfield 2003).

Se tienen dos procesos de regulación, una específica y otra inespecifica las cuales no se excluyen y se presentan al mismo tiempo, la respuesta a los estresores ambientales en las aves depende sobre todo de la capacidad de integración del sistema nervioso en el ámbito de neuronas posganglionares y en tejido adrenal así como del Sistema endocrino formado por el eje HHA (Lynn, *et al.*, 2003; Rennerkens, *et al.*, 2002).

En la respuesta a estrés, las CBGs participan de manera activa ya que los corticoesteroides libres, pasan libremente a través de la membrana celular de los tejidos blanco ejerciendo su efecto específico, así la cantidad y capacidad de unión a las CBGs se considera que actúan como moduladores de actividad controlando la distribución y metabolismo de los corticoesteroides (Breuner y Orchinik 2002).

A partir de los años 70s en el estudio de la endocrinología, se concluyó que el papel de los glucocorticoides y el estrés donde estos aumentan sus niveles en sangre son mecanismos de defensa para proteger contra la fuente del estrés pero más contra la respuesta misma del

organismo lo que previene de un exceso en la respuesta y amenace la homeostasis (Munck, *et al.*, 1984).

En las aves las fluctuaciones de los niveles basales de CORT se presentan características peculiares que les permite resistir de manera temporal el estrés de tipo ambiental y social sobre todo para una crianza satisfactoria (Wingfield y Sapolsky 2003) con diferencias entre especies. La reproducción es muy importante y las aves presentan mecanismos que les permiten resistir a estos factores, se considera que los mecanismos encargados están genéticamente determinados pero su expresión depende de las interacciones con los factores ambientales (Wingfield y Sapolsky 2003), en especies cautivas con ciclos dependientes de fotoperiodo, se presenta la modulación de los niveles de CORT por el estímulo a estrés siendo iguales las concentraciones de CORT en diferentes fotoperiodos. En la especie *Zonotrichia leucophrys gambelii*, se demostró un ritmo diario de CORT en respuesta al estresor con un incremento en el inicio de la fase activa y con similitudes en fotoperiodo largo y corto (Breuner, *et al.*, 1999), otro factor considerado estresor es la densidad de población y el confinamiento, la respuesta de CORT a estos factores se encontró que dependía del papel social del ave esto es considerado residente o intruso, encontrando respuestas fisiológicas y de comportamiento variables, como agresividad, aumento de actividad y consumo de alimento, lo que ilustra que los niveles de CORT varían entre individuos y que el incremento de la densidad conspecifica es dependiente del papel social y el grado de incremento de los individuos (Cockren y Silverin 2002).

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar los niveles basales de corticoesterona durante 24 horas en el avestruz macho en la época reproductiva.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Determinar el patrón de secreción de la hormona durante 24 horas.
2. Establecer las características del patrón de secreción
3. Analizar los niveles de secreción.

## **MATERIAL Y METODOS**

### ***Descripción de la zona de trabajo.***

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Rancho “Tel Sakara” población Rancho Viejo a 19 km del municipio de San Miguel de Allende, Celaya Gto. México.

Se localiza a una altitud de (1765 -1820 msnm entre los 20° 34' 00'' de latitud norte y 100° 50' 00'' de longitud oeste. La temperatura en el mes de abril se presentó con una mínima de 4.7 ° C y una máxima de 32.7° C con un promedio 20.7 °C; la radiación solar global promedio reportada en el mes de abril fue de 298 W/m<sup>2</sup>, energía solar de 6.4 Ly, presión promedio de 825 hPa y una velocidad promedio del viento de 0.9 m/s con dirección al oeste.

Los reportes pluviales indican lluvias máxima de 0.60 mm el 21 de abril del año en estudio; la humedad relativa reportada en promedio fue de 38% con una evaporación total de 175.6 mm y una máxima promedio de 0.97/ hr, punto de rocío de 5.1 °C

Los datos fueron generados en la Estación meteorológica automática de CEBAJ ubicada en el Km 6.5 carretera Celaya-San Miguel de Allende, Gto México.

### ***Animales***

Se utilizaron 6 avestruces machos subespecie negra Africana de 5 años de edad, con un peso de 125 ± 5 kilos en etapa reproductiva.

### ***Captura y toma de muestras***

Los seis avestruces fueron capturados de forma individual por medio de un gancho y colocándoles capuchón para bloquear la visión, se colocaron en un corral de manejo de 3 x 3 m y puestos bajo condiciones de sombra y refrescados con agua, dejándolos descansar por 3 horas aproximadamente previas al manejo.

Se tomaron las muestras de sangre de la vena braquial de las alas cada hora por 24 horas utilizando jeringas hipodérmicas estériles con agujas del número 21. Se colectaron de 3 – 5 de sangre por muestra.

### ***Procesamiento de muestras***

Las muestras de sangre fueron almacenadas en refrigeración por 12 horas, pasado el tiempo fueron centrifugas en centrífuga clínica a 2500 rpm por 15 minutos, se obtuvo el suero y se alicuotó en tubos eppendorf de 3 ml y se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

### ***Determinación de los niveles séricos de Corticoesterona***

Se determinaron los niveles de corticoesterona sérica por la técnica directa de radioinmunoensayo en fase sólida (Al-Dujaili, *et al.*, 1981; Calvano, *et al.*, 1980) Se utilizó un kit comercial no. de catalogo TKRCI DPC Los Angeles CA, con  $4.5\ \mu\text{C}$ . utilizando tubos de polipropileno de 12 x 75 mm cubiertos con anticuerpos a corticoesterona en la que se compete con  $\text{I}^{125}$  corticoesterona de rata con una alta especificidad para la hormona (100%) en un volumen sérico de 50  $\mu\text{l}$  por muestra.

La curva patrón de concentraciones se utilizó, con un rango de concentración de 0, 10, 20, 50, 100, 200, 500 y 1000 ng/ml de hormona. La sensibilidad fué de 2.75 ng/ml. El control interanálisis CV de 14.9% e intraanálisis de 4.0%. Se determinaron las concentraciones en un contador Packard Cobra II para autogammas.

### *Análisis Estadístico*

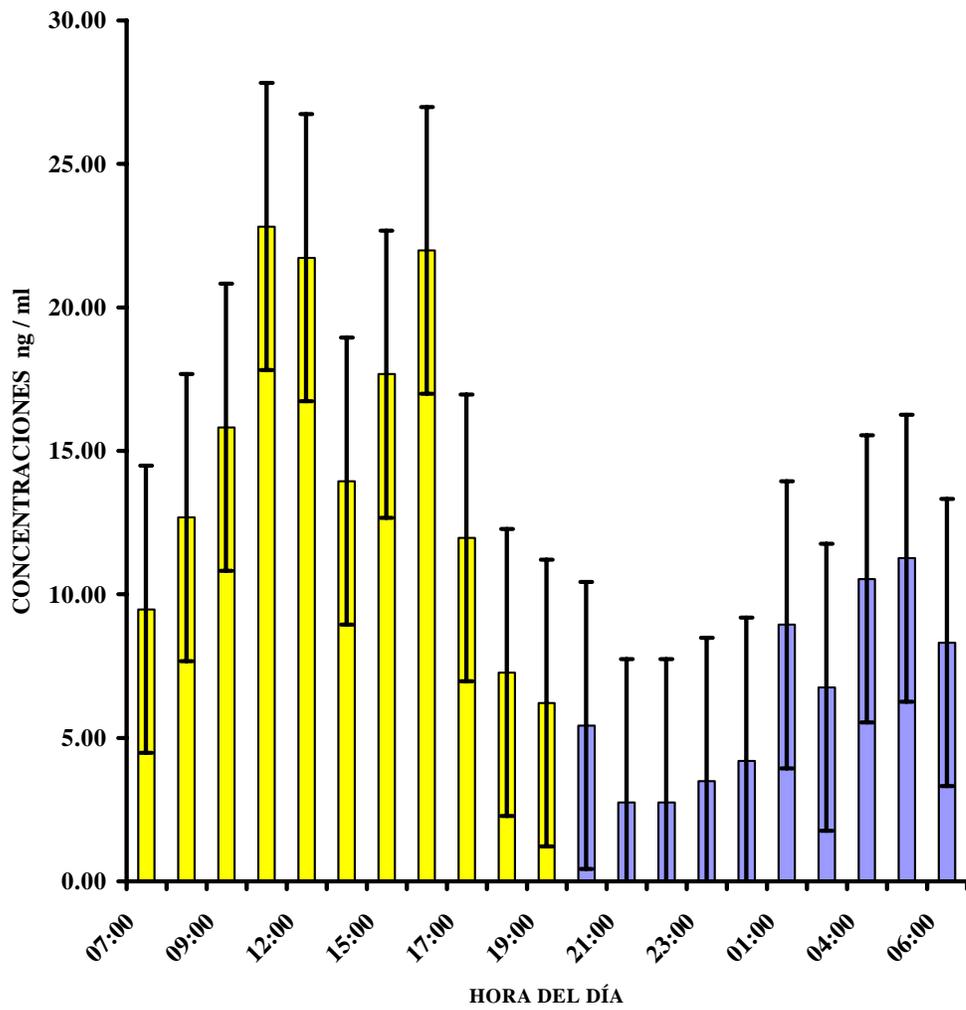
Los datos obtenidos se analizaron mediante el proceso general de modelos lineales del SAS a través de un análisis de mediciones repetidas que incluye el modelo lineal MIXED para ver el comportamiento de las muestras al través del tiempo (Dichos valores los veremos representados en medias de mínimos cuadrados (MC ) SAS ,1998.

## RESULTADOS

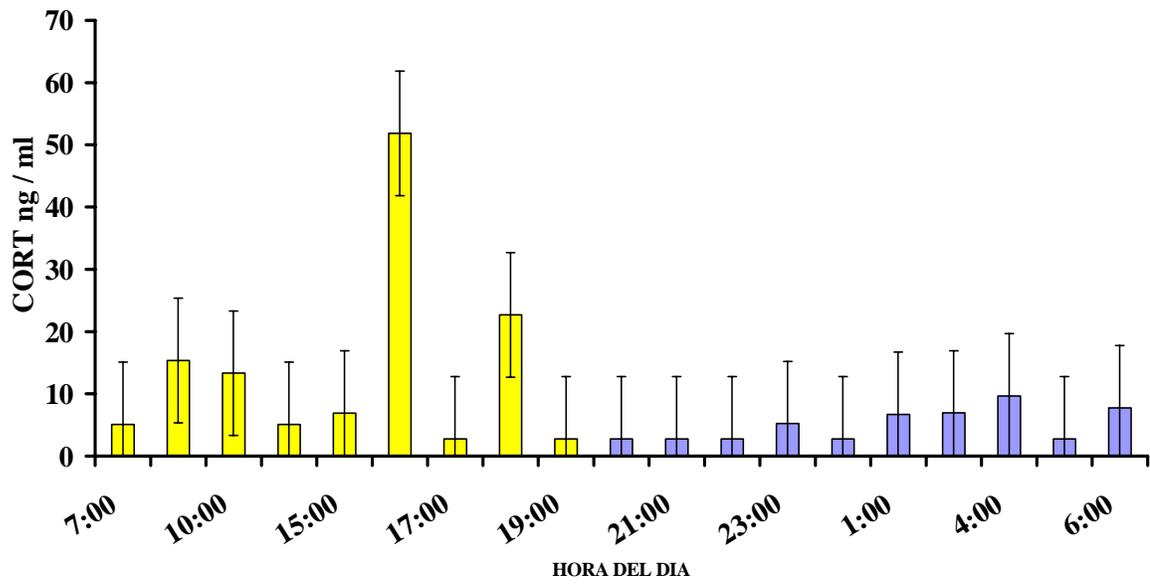
En la época reproductiva de los avestruces machos mostraron un ritmo de 24 horas en la secreción de CORT (Grafica 1 y Tabla 1) esta temporada se caracterizo por presentar días con un ciclo 13L / 11O que corresponde a días largos en el fotoperiodo. Las medias de mínimos cuadrados y error estándar de los niveles obtenidos de CORT de avestruces machos en la época reproductiva así como las determinaciones basales de CORT en escotofase (periodo de oscuridad) y en la fotofase (periodo de luz), se encontro que las concentraciones basales obtenidas durante 24 horas, se tiene una diferencia significativa entre la escotofase y la fotofase con niveles máximos basales obtenidos en el periodo de luz y concentraciones bajas en el periodo de oscuridad ( $p < 0.0001$ ). Las determinaciones realizadas en la escotofase, mostraron una media con una concentración mínima de 2.57 ng/ml y un error estándar de 4.9557 así como una máxima de 11.2577 ng/ml y un error estándar de 5.8935 a lo largo de esta fase. Se observaron dos niveles con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en periodo de oscuridad con respecto a las demás uno a las 04:00 am con una media con una concentración de 10.5394 ng/ml (error estándar de 5.3755) y a las 05:00 am con una media en la concentración de 11.2577 ng/ml (error estándar de 5.8935) siendo el final de la escotofase e inicio de la fotofase ( $p < 0.0001$ ). Las determinaciones realizadas en la fotofase, presentan una media con una concentración mínima de 6.2133 ng/ml con un error estándar de 4.9557, y una máxima de 22.7317 ng/ml con un error estándar de 4.9557; los datos obtenidos en el periodo de luz se consideraron significativos estadísticamente ( $p < 0.0001$ ), la acrofase (punto mas alto) del ritmo circadico en la secreción de CORT se presentó a las 10:00 am, siendo significativo ( $p < 0.0001$ ) sobre el resto de las muestras basales durante las 24 horas.

Los niveles basales de CORT determinados en cada uno de los animales, demostraron la persistencia del patrón circadico de secreción, con predominio en el periodo activo (fotofase) y disminución en el periodo inactivo (escotofase); el promedio individual de las concentraciones sericas basales de CORT en 24 horas en la época reproductiva tuvieron un rango de 7.2 ng/ml a 17.05 ng/ml. La acrofase del ritmo circadico en la secreción de CORT se presentó en diferentes momentos del día (Graficas 2-7). En lo individual el avestruz no. 110 mostró durante las 24 horas del día tres picos significativos con respecto al resto de los individuos.

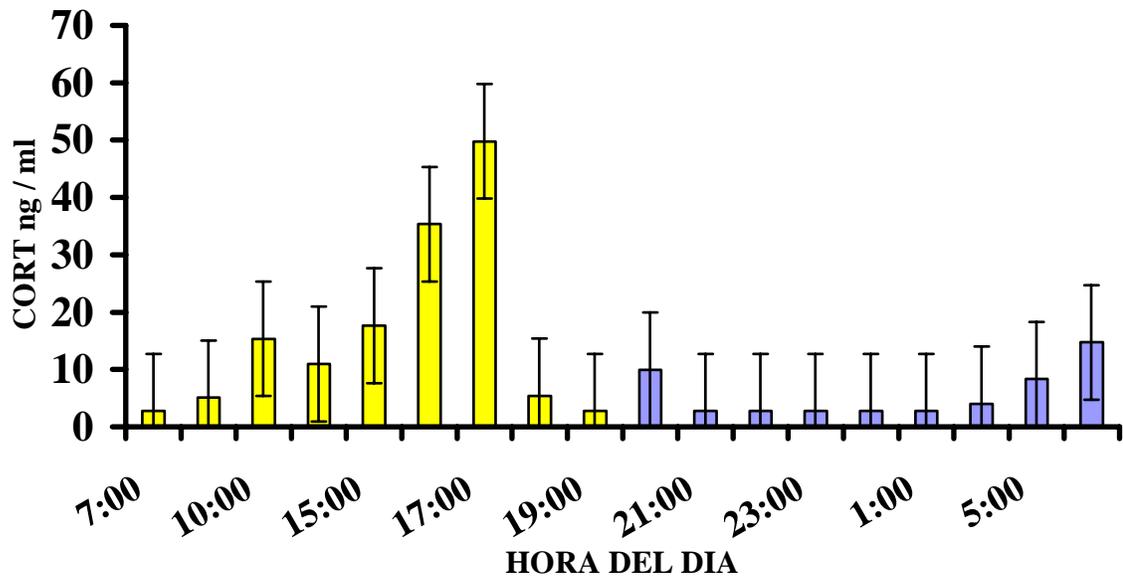
**GRAFICA 1. MEDIAS DE MINIMOS CAUSTRADOS Y ERROR ESTÁNDAR DE LOS NIVELES DE CORTICOESTERONA DE AVESTRUCCES MACHOS EN LA EPOCA REPRODUCTIVA**



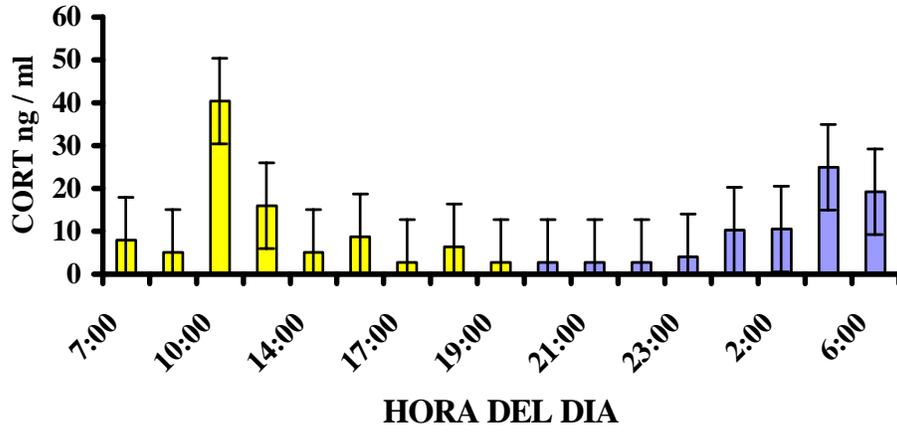
Gráfica 2 avestruz No 95



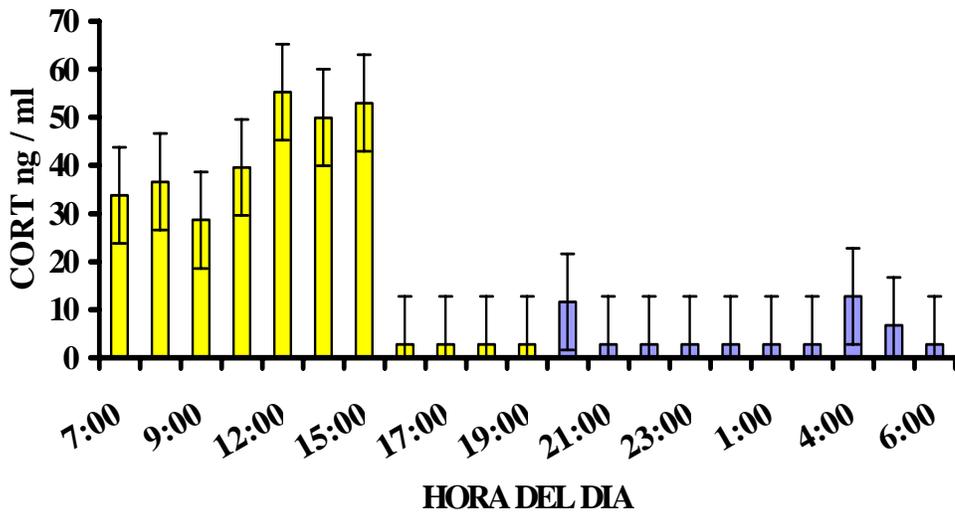
Gráfica 3 avestruz No. CA



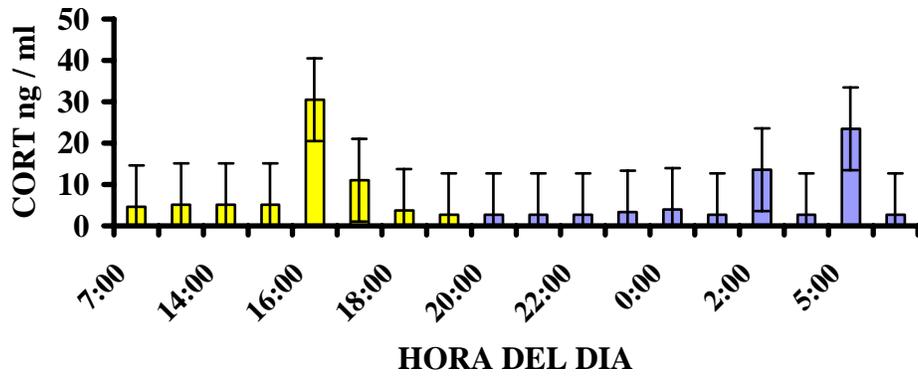
Gráfica 4 avestruz No. CRBC



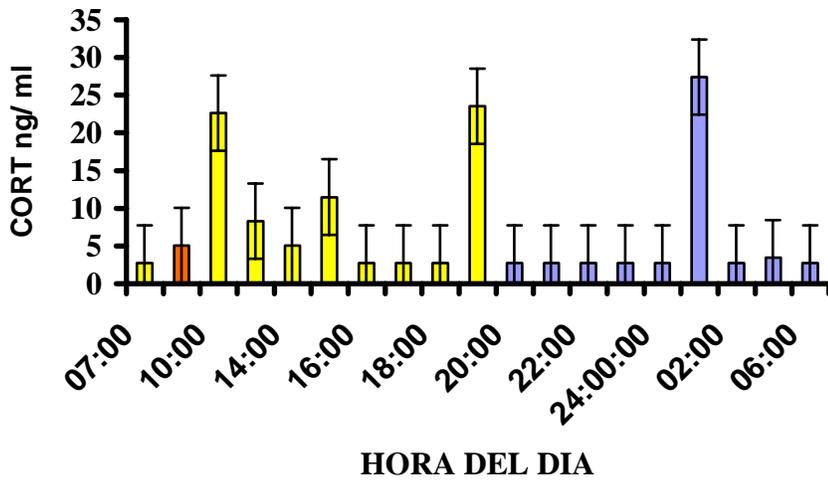
Gráfica 5 avestruz No. EA77



Gráfica 6 avestruz No. CB



Gráfica 7 avestruz No. 110



**Tabla 1. Medias de mínimos cuadrados y error estándar de los niveles de corticoesterona de avestruces machos en la época reproductiva.**

<b>PERIODO DE LUZ</b>			<b>PERIODO DE OSCURIDAD</b>		
<b>HORA</b>	<b>MEDIA</b>	<b>EE</b>	<b>HORA</b>	<b>MEDIA</b>	<b>EE</b>
<b>07:00</b>	9.4800*	4.9557	20:00	5.4317	4.9557
<b>08:00</b>	12.6748	5.3733	21:00	2.7500	4.9557
<b>09:00</b>	15.8218	11.2153	22:00	2.7500	4.9557
<b>10:00</b>	22.7317**	4.9557	23:00	3.4883	4.9557
<b>11:00</b>	NE	NE	24:00	4.1883	4.9557
<b>12:00</b>	21.3595**	6.0107	1:00	8.9407	5.3763
<b>13:00</b>	NE	NE	2:00	6.7583	4.9557
<b>14:00</b>	13.9452**	5.3741	3:00	NE	NE
<b>15:00</b>	17.6704**	5.3488	4:00	10.5394*	5.3755
<b>16:00</b>	21.9850**	4.9557	5:00	11.2577*	5.8935
<b>17:00</b>	11.9633**	4.9557	6:00	8.3183	4.9557
<b>18:00</b>	7.2767	4.9557			
<b>19:00</b>	6.2133	4.9557			

**EE= Error estándar**  
**NE= Dato no estimado**  
**\*\*=diferencia significativa <0.0001**  
**\* =diferencia significativa <0.05**

## DISCUSIÓN

La actividad del eje H-H-A en las aves se manifiesta a través de su principal hormona la CORT, la secreción de la misma varía, y se ve reflejado en dos situaciones, la primera a considerar es la que se presenta en respuesta a funciones fisiológicas comunes entre las especies las que pertenecen exclusivamente a aves con condiciones fisiológicas y de comportamiento propio de la especie, la segunda es la que se desencadena en condiciones de cambios ambientales que inciden en la respuesta sobre todo por las perturbaciones que se presentan, así el individuo debe estar preparado a tales acontecimientos lo que se considera estrés, con la modulación en la secreción y concentración de la hormona (**Sapolsky, 2000**).

La función en aves ha sido motivo de muchos estudios y se considera que la variabilidad entre especies depende de la historia de vida propia del individuo, estado reproductivo, condición corporal y momento del día.

Las determinaciones en las fluctuaciones diarias de CORT han proporcionado una gran cantidad de información que abre un campo de investigación importante; al encontrar una diversidad de hallazgos entre las diferentes especies y considerando la plasticidad de acción.

La secreción episódica (en pulsos) de las hormonas es considerada ubicua en la endocrinología tanto en el humano como en diferentes especies de animales (**Pincus, 1999**), la persistencia de ciertos patrones provee de la comprensión de un estado subjetivo a la información biológica esencial del individuo.

Los hallazgos en el presente estudio revelaron que el avestruz macho (*Struthio camelus*) en época reproductiva (abril) presentó un ritmo basal circadico de CORT, de predominio diurno en un fotoperiodo de 13L /11O (día de duración larga) (Krieger, 1977; Chrousos, 1998).

Los niveles basales de la hormona se caracterizaron por concentraciones bajas en el período inactivo (escotofase), iniciando su incremento en el último tercio de la fase considerado el pico “preactivo” localizado 3 horas antes de iniciada la fase de luz, (fotofase) , seguido de incrementos significativos en el periodo activo (fotofase) a partir de la primera hora del periodo, manteniendose las secreciones de carácter pulsátil hasta dos horas antes de terminar la fotofase e iniciar la escotofase.

El patrón de secreción en los niveles basales detectados es contrastante con el ritmo caracterizado en humanos (Aschoff, 1965; Weitzmann, 1971) y roedores (Krieger, 1975; Keller-Wood, 1984; Windle, 1998) con un pico basal justo antes del periodo activo de su día, que corresponde a la fase de luz en el humano y la fase de oscuridad en roedores (Muglia 97; Dallman 1978) sincronizado por el alimento ó el ciclo sueño-vigilia (Saito, 19889); la literatura que se tiene en diferentes especies de aves con respecto a la ritmicidad circádica de la función endócrina del eje HHA se considera flexible, no solo los factores externos como la luz y la hora de alimento pueden cambiar el estado endócrino del organismo dando como resultado en un cambio de ritmo en las funciones, las variaciones circadicas de la CORT se han establecido en diferentes especies de aves, algunas con similitudes al ritmo demostrado en avestruz, en el presente trabajo (Joseph, 1973; Kovacs 1983; Romero y Remage-Healey, 2000; Piersma, 2000) y en otras especies difieren, en características en el patrón de secreción; en donde el patrón está correlacionado con la actividad del periodo más que al ciclo luz/oscuridad (Dufty y Belthoff, 1997); en el gallo se caracteriza por un pico de secreción en el ultimo tercio del periodo de luz, en el estornino (*Sturnus vulgaris*) los niveles basales de CORT en fotoperiodos cortos y largos se incrementan en el periodo inactivo (escotofase) y disminuyen en el periodo activo (fotofase) (Romero y Remage-Healey, 2000).

La función de los niveles basales de CORT, es la regulación en la adquisición de energía, su movilización y deposito (Remage-Healey y Romero, 2001) el pico preactivo en CORT puede ser necesario para preparar un estado fisiológico adecuado para satisfacer las demandas energéticas que se requieren en el periodo activo (Deeming, 2001) de manera similar ocurre en el ritmo que presentan los mamíferos, se tiene el mismo pico preactivo justo antes de iniciado el periodo activo, manteniendo los niveles altos durante este periodo.

En las aves sus requerimientos energéticos se obtienen a través de la oxidación de los nutrientes que se absorben; la TMB varía con la masa de las aves, en las que se consideran grandes como el avestruz, utilizan más energía en terminos absolutos pero menos, por unidad de masa para actividades como la producción de calor en ambientes de baja temperatura; además esta energía se hace necesaria para todas las actividades físicas llegando a un nivel máximo de alcance metabólico hasta 28 veces la TMB que será dependiendo de la época anual y de los factores ambientales (Suarez, 1998).

Es importante señalar que en las aves el papel que desempeña la CORT es fundamental para estas especies como es la facilitación de aumento de masa antes de la migración (Landys, 2003), la preparación para la crianza (Heath, 1997), así como para la dispersión posnatal, actividad locomotora (Belthoff y Dufty, 1998) y la movilización de sustratos energéticos de los lípidos (Landys, 2003). En primavera se tiene un aumento de peso y elevadas concentraciones de CORT, los glucocorticoides estimulan el comportamiento de consumo de alimento y la secreción de insulina (Davidson, 1983; Ramage-Healey y Romero 2001).

La variación en los niveles de CORT son importantes; en el avestruz observamos que se presenta una disminución lenta en las secreciones durante el periodo activo a diferencia de otras especies (Nichols, 1981; Breuner, 1999).

La cantidad de CORT secretada a la circulación en cada episodio parece estar regulada primero por la amplitud más que la frecuencia, la modulación en la amplitud parece estar controlada por el oscilador circadico a través de la liberación de ACTH (Chrousos, 1998; Brown, 2001; Keenan, 2001).

El ingreso de CORT a la circulación periférica es de manera rápida, así está disponible para su metabolismo e inactivación, de un 3-10% de la hormona está libre y el resto está unida a proteínas transportadoras (albumina o globulinas unidoras de CORT) (Breuner y Orchinick, 2002).

El volumen en el que se distribuye depende de las condiciones fisiológicas del individuo; son inactivados de manera exponencial con una vida media que varía, con un promedio de 15 minutos, además la concentración basal de la hormona en circulación varia entre diferentes especies la hormona activa es entonces la libre y la tasa metabólica de inactivación es proporcional al porcentaje unido (Breuner y Orchinick 2002). Una de las acciones en las aves es la movilización de sustratos energéticos; siendo los lípidos la mayor fuente de energía en las aves especialmente durante la migración; la movilización de glucosa en los hepatocitos, también es una fuente energética (Ramage-Healey y Romero 2001).

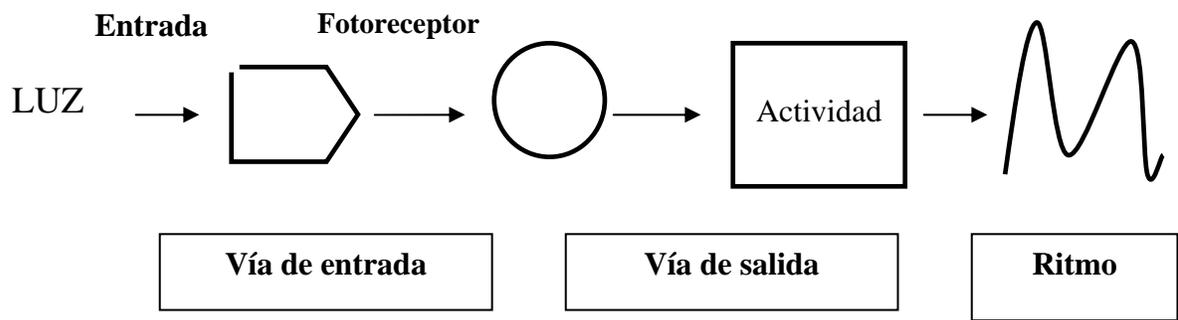
En las aves los androgenos tienen la característica de unirse a las proteínas a las proteínas unidoras de CORT, siendo importantes en el papel de regulación de los niveles de testosterona libre en la época de reproducción (Klukowski, *et al.*, 1997; Breuner y Wingfield 2002).

Los niveles basales de CORT séricas reportados en el mantenimiento y el decaimiento de los mismos estarían funcionando en la fisiología propia del individuo; el avestruz durante las horas del día (6:00 a 19:00 horas) el 60% del tiempo lo ocupan caminando, 20% picoteando y 16% estando de pie el resto lo ocupan en la limpieza del plumaje con diferencias entre sexos.

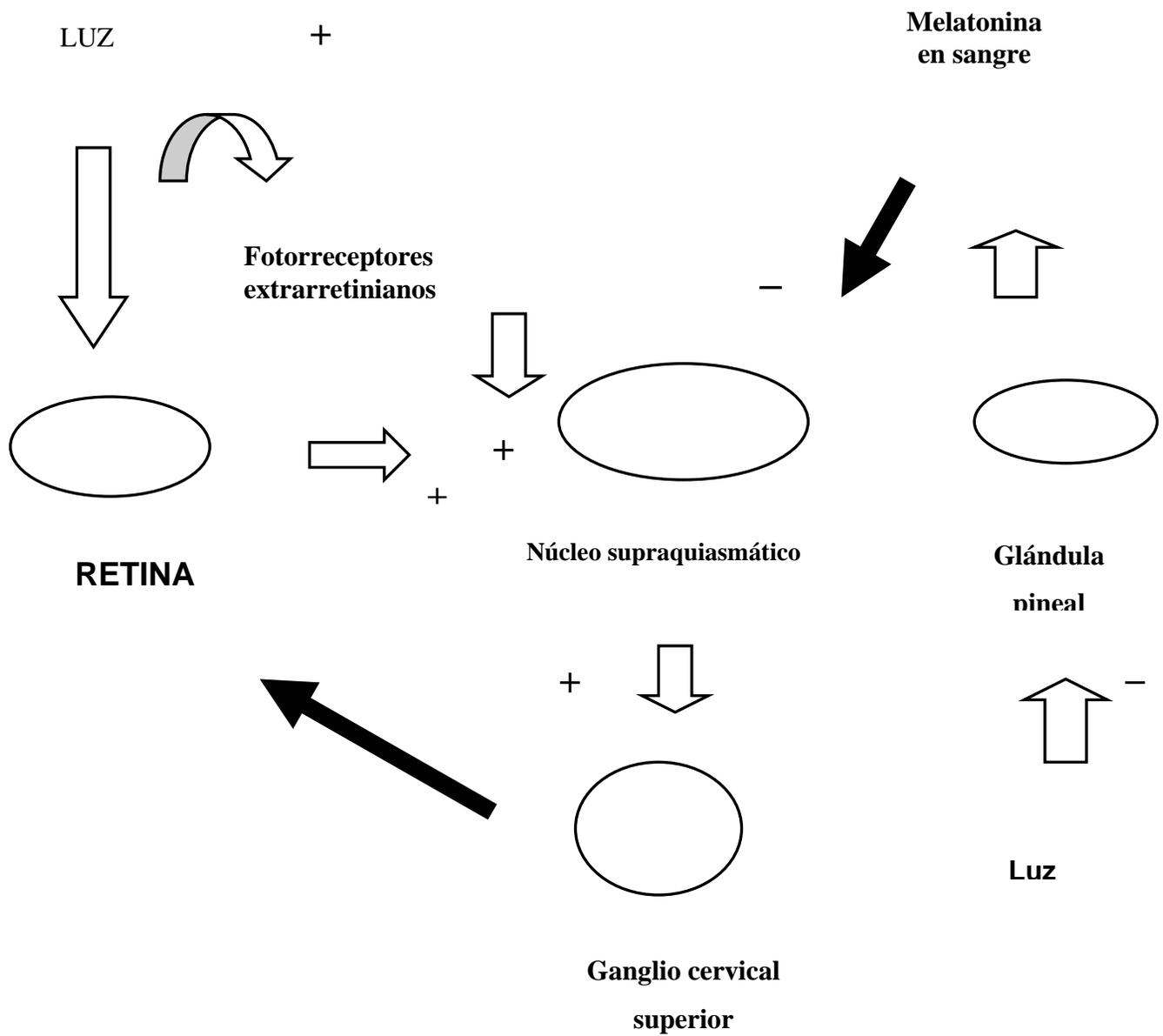
En zonas de confinamiento los machos además vigilan las vallas de limitación (Sauer, 1967); el pico anticipatorio de CORT antes del periodo activo se ha relacionado con el ciclo circadiano de consumo de alimento. En época reproductiva se presenta el comportamiento de cortejo y de alimentación sincronizado que se pudiera relacionar con los niveles basales de CORT.

## **CONCLUSION**

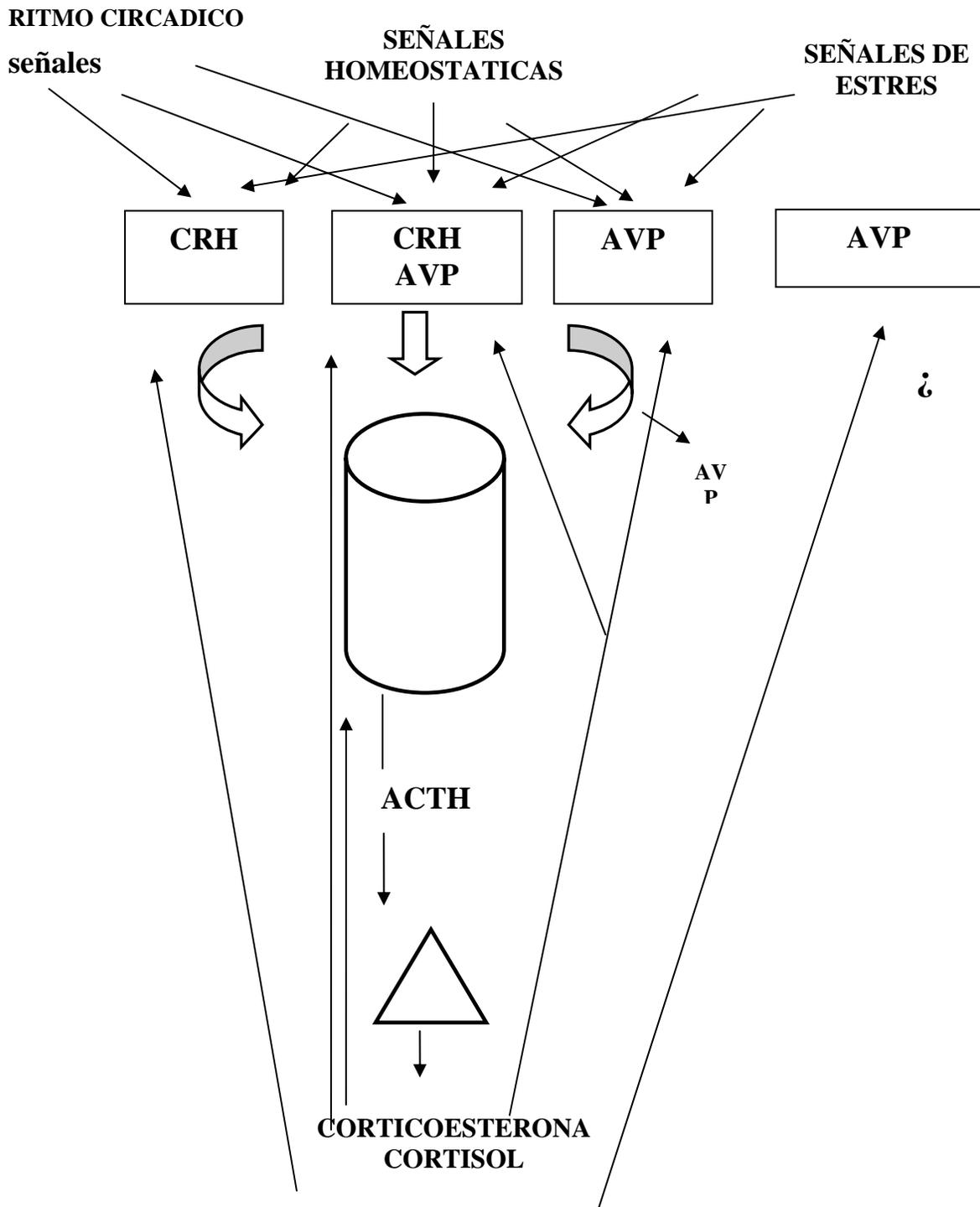
La determinación de los niveles plasmáticos de glucocorticoides en 24 horas se han realizado en diferentes especies incluyendo al hombre siendo raros los realizados en especies de la fauna silvestre aún aquellos que se tienen en cautiverio, el conocimiento en este campo permite entender los efectos de las mismas en su fisiología y en su comportamiento y así poder trasladar este conocimiento al éxito de la especie para el desarrollo de su historia de vida que incluye la subsistencia y reproducción en su medio ambiente.



**Figura 1. Esquema del modelo de los componentes de un sistema circadico (Takahashi, 1982)**



**Fig. 2 Modelo del sistema circadiano de las aves. Los relojes circadianos localizados en la glándula pineal, el núcleo supraquiasmático y la retina interactúan por medio de asas de retroalimentación positivas y / o negativas**



**Fig. 3 EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-ADRENAL. REGULACION. Ref. Chrousos 98**

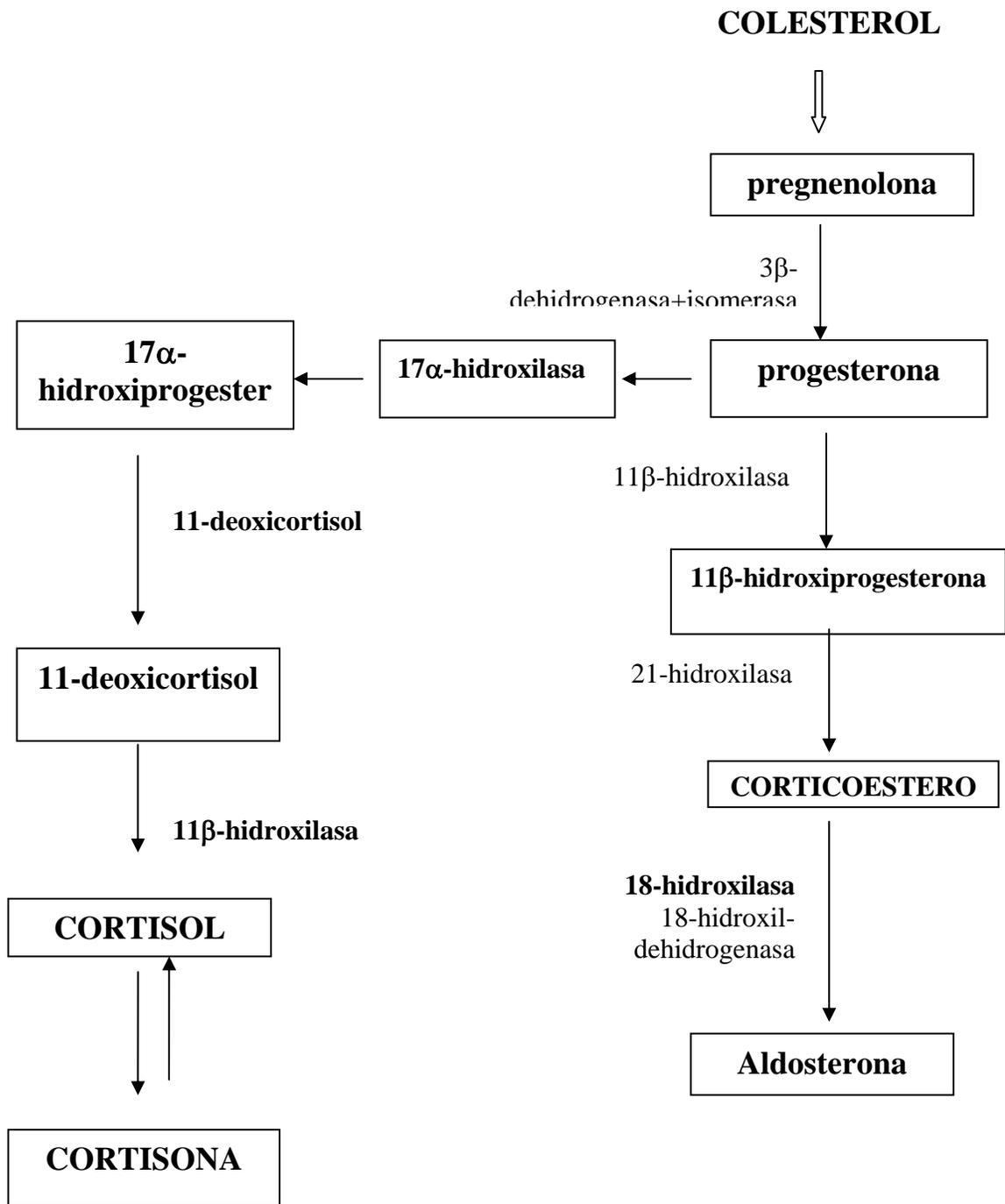


Fig. 4. Esteroidogenesis en glándula adrenal de aves. Ref. Sturkie 86

## BIBLIOGRAFÍA

- Adam**, N.J., and W.R.J. Dean. 1993. Field metabolism water requirements and foraging behaviour of wild ostriches in the Namib. *Ecology* 74: 390-404
- Aganga**, A.A., A.O. Aganga and U.J. Omphile. 2003. Ostrich feeding and Nutrition. *Pakistan Journal of Nutrition* 2(2):60-67.
- Al-Dujaili**, F.A.S., B.C. Williams and C.R.W. Edwards. 1981. The development and application of a direct radioimmunoassay for corticoesterone. *Steroids* 37: 157-76
- Aschoff**, J. 1965. Circadian rhythms in man; a self-sustained oscillator with an inherent frequency underlies human 24 hour periodicity. *Science* 148: 1427-1432
- Barinaga**, M. 2002. How the brain's clock gets daily enlightenment. *Science* 295: 955-957
- Barraclough**, A. C., M.P. Wise and J. Turgeon. 1979. Recent studies on regulation of pituitary LH and FSH secretion. *Biology of Reproduction* 20: 86-97.
- Bertram**, B.C.R. 1980. Vigilance and group size in ostriches. *Animal Behaviour* 28: 278 – 286
- Bkoff**, M. 1994. Cognitive ethology and the and the treatment of non-human animals: how matters of mind inform matters of welfare. 3: 75-96
- Belthoff**, JR and A.M. Jr. Dufty 1998. Corticoesterone, body condition and locomotor activity. A model for dispersal in screech-owls. *Animal Behaviour* 55: 405-415
- Binkley**, A.S., B.J Riebman and B.K. Reilly 1978. The pineal gland: A Biological clock in vitro. *Science* 202: 1198-1200.
- Bolwig**, N. 1973. Agonistic and sexual behaviour of the African ostrich (*Struthio camelus*). *Condor* 75: 100-105
- Bradbury**, M.J., C.S. Cascio, K.A. Scribner, and M.F. Dallmann. 1991. Stress-induced adrenocorticotropin secretion; diurnal responses and decreases during stress in the evening are not dependent on corticoesterone. *Endocrinology* 128:680-688.
- Brandstätter**, R., V. Kumar., U. Abraham and E. Gwinner. 2000. Photoperiodic information acquired and stored in vivo is retained in vitro by a circadian oscillator, the avian pineal gland. *Proceedings of the National Academy Science* 97 (22): 12324-12328.
- Brandstätter**, R. 2003. Encoding time of day and time of year by the avian circadian system. *Journal Neuroendocrinology* 15 (4): 398-404
- Breuner**, C.W and M. Orchinick. 2001. Seasonal regulation of membrane and intracellular corticoesteroid receptors in the house sparrow brain. *Journal of Neuroendocrinology* 13:412-420.
- Breuner**, C.W. and C.J. Wingfield. 2002. Rapid behavioral response to corticosterone varies with photoperiod and dose. *Hormones and Behavior* 37: 23-30
- Breuner** C.W. and M Orchinik. 2002. Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid action in vertebrates. *Journal of Endocrinology* 175:99-112
- Breuner** C.W. and J.C. Wingfield . 2000. Rapid behavioral response to corticoesterone varies with photoperiod and dose. *Hormone Behaviour* 37(1):23-30

- Breuner, C.W., J.C. Wingfield and L.M. Romero.** 1999. Diel rhythms of basal and stress-induced corticosterone in a wild seasonal vertebrate, Gambel's white-crowned sparrow. *J.Exp. Zool* 284:334-342
- Brown N.E., M.P. Meehan and P.D Arthur** 2001. Astochastic differential equation model of diurnal cortisol patterns. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* 280:E450-E461
- Buijs, R.M., J. Wortel, J.J. van Heerikhuize, and A. Kalsbeek.** 1997. Novel environment induced inhibition of corticosterone secretion: physiological evidence for a suprachiasmatic nucleus mediated neuronal hypothalamo-adrenal cortex pathway. *Brain Res.* 758:229-236
- Calvano, S.E., R.W. Reynolds and L.D. Keith.** 1980. Comparison of plasma corticosterone and progesterone binding activity in rat and human. *Steroids* 36: 355-63
- Carnes, M., S. Lent J. Feyzi and D. Hazle.** 1989. Plasma adrenocorticotrophic hormone in the rat demonstrate three different rhythms within the 24 hrs . *Neuroendocrinology* 50:17-25
- Cascio, C.S., J.Shinsako, and M.F.Dallman.** 1987. The suprachiasmatic nuclei stimulate evening ACTH secretion in the rat. *Brain Res.* 423:173-178.
- Cassone, V.M. and Menaker.** 1984. Is the avian circadian system a neuroendocrine loop? *J. Exp. Zool* 232:539-549.
- Cassone, V.M.** 1990. Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. *Trends Neurosci.* 13:457-464.
- Cocken, JF and B Silverin.** 2002. Variation within and between birds in corticosterone responses on great tits (*Parus major*). *General and Comparative Endocrinology* 125(2):197-206
- Correa A., A. Lewis., V.A. Green, J.I. March and H.R. Gomer.** 2003. Multiple oscillators regulate circadian gene expression in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy Science.* 100 (23): 13597-13602.
- Cloudsley-Thompson, J.L., and R.M. El Mohamed** 1967. Water economy of the ostrich. *Nature* 216: 1040
- Crawford EC. Jr and Schmidt – Nielsen** 1967. Temperature regulation and evaporative cooling in the ostrich. *American Journal of Physiology* 212: 347-353
- Chrousos, G.P.** 1998. Editorial. Ultradian, Circadian, and stress-related hypothalamic-pituitary-adrenal-axis activity-A Dynamic digital-to-analog modulation. *Endocrinology* 139(2):437-440
- Chrousos, G.P. and G.P. Gold.** 1992. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 267: 1244-52.
- Chrousos, G.P.** 1995. The hypothalamic pituitary adrenal axis and immune-mediated inflammation. *Nengland J. Med* 332:1351-1362.
- Dallman, M.F., W.E. Engeland., J.C. Rose., C.W. Wilkinson., J. Shinako and F. Siedenburg.** 1978. Nyctthemeral rhythm in adrenal responsiveness to ACTH. *Am. J. Physiol Regulatory Integrative comp.. Physiol.* 235:R210-R218.
- Davis E.D.** 1980. *Endogenous Cycles Testicular Development, Structure and Function.* Ed. Steinberger and E. Steinberger Raven Press New York pp 359
- Davies D.T and B.K. Follett** 1980. Neuroendocrine regulation of gonadotrophin releasing hormone secretion in the Japanese quail. *General and Comparative Endocrinology* 40: 220

- Davidson, T.F, JG Rea** 1983. Effects of dietary corticoesterone on the growth and metabolism of immature *Gallus domesticus*. *General and Comparative Endocrinology* 50:463-468.
- Deeming, D.C.** 1996. Production, fertility and hatchability of ostric (*Struthio camelus*) eggs on a farm in the United Kingdom. *Animal Science* 67: 329-336
- Deeming, D.C.** 1997. Effect of winter climatic conditions on the behaviour of adult ostriches (*Struthio camelus*) in Britain. *Animal Welfare* 6: 349-356
- Deeming D.C..** 1998. Effect of winter climatic conditions on the behaviour of adult ostriches (*Struthio camelus*) on a farm in Britain. *Animal Welfare* 7: 307-315.
- Deeming, D.C.** 2001
- Degen, A.A. S.R., Weil and M. Kam.** 1994. seasonal plasma levels of luteinizing and steroid hormones in male and female domestic ostriches (*Struthio camelus*) *General and Comparative Endocrinology* 93 (1): 21-7
- Deguchi, Takeo.** 1979. Circadian rhythm of serotonin N-Acetyltransferase activity in organ culture of chicken pineal gland 203: 1245-124
- Degushi, T.** 1981. Rhodopsin-like photosensitivity of isolates chicken pineal gland. *Nature* 290:706-707.
- Deviche P., C. Breuner, and M. Orchinick .** 2001. Testosterone, corticoesterone, and photoperiod interact to regulate plasma levels of binding globulin and free steroid hormone in dark-eyed-junco (*Junco hyemalis*). *General and Comparative Endocrinology* 122: 67-77
- Doddamani, L.S.** 2000. Development of the adrenal gland in the tropical lizard calotes versicolor. *General and Comparative Endocrinology* 117:89-102
- Dufty, A.M and J.R. Belthoff .** 1997. Corticoesterone and the stress response in young western screech owls: effects of captivity, gender, and activity period. *Physiol.Zool* 70(2):143-9
- Dufty, A.M., J. Clobert and A.P. Moller.** 2002. Hormones, developmenta, plasticity and adaptation . *Trends in Ecology and Evolution.* 17(4):190-194
- Eskin A.** 1979. Identification and physiology of circadian pacemakers. *Federal Proceedings* 38 (12): 2570-2572
- Folkard, S., R.A. Wever and C.M. Wildgrubert.** 1989. Multi-oscillatory control of circadian rhythms in human performance. *Nature* 305: 223-225
- Froehlich, C.A., J.J. Liu Y, and J.C. Dunlap .** 2002. White Collar-1, a circadian blue light photoreceptor, binding to the frecuency promoter. *Science* 297: 815-819
- Freitag S. And T.J. Robinson .** 1993. Phylogeographic patterns in mitochondrial DNA of the ostrich (*Struthio camelus*). *Auk* 110: 614-622
- Gallo-Bona, A.P., I.I.Licht and Papkoff P.** 1983. Biological and binding activities of pituitary hormones from the ostrich, (*Struthio camelus*). *General and Comparative Endocrinology* 51 (1): 50-60
- García Ponce de Leon, E. y A. Schevenin.** 2001. Reproducción del avestruz(*Struthio amelus*) Reproducci{on y Mnejo de Fauna Silvestre. Cap. 12 pp 170-180.
- Girouard, R.J, and B.K.Hall.** 1973. Pituitary-adrenalinteraction and growth of the embryonic avian adrenal gland. *J. Exp. Zool.* 183:323-32

- Ghosh, A** and W.S. Carmichael. 2001: Avian adrenal medulla: cytomorphology and function *Acta Biologica Szegediensis* 45(1-4): 1-11
- Gray, J.M., D.Yarin** and M. Ramenosfsky. 1990: Corticoesterone, foraging behavior and metabolism in dark-eyed juncos. *Junco hyemalis*. *General and Comparative Endocrinology* 79: 375-384
- Grossmann, R., S.Kisliuk., B.Xu,** and E. Muhlbauer. 1995. The hypothalamo-neurohypophyseal system in bird. *Adv Exp. Med. Biol.* 395:657-66
- Grundschober, C., F. Delaunay., A. Pühlhofer., G. Triqueneaux** and V.B.T. Laudet BT 2001. Circadian regulation of diverse gene products revealed by mRNA expression profiling of synchronized fibroblast. *The Journal of Biological Chemistry* 276 (50) : 46751-46758
- Hall, C.J.** and M. Rosbash. 1993. Oscillating molecules and how they move circadian clocks across evolutionary boundaries. *Proceeding of the National Academy Science.* 90: 5382-5383
- Harmer, L.S., B.J. Hogenesch., M. Straume,** and Hur-Song C 2000.Orchestrated transcription of key pathways in arabidopsis by the circadian clock. *Science* 290: 2110-2113
- Heath, J.** 1997 Corticoesterone levels during nest departure of juvenile American kestrels. *Condor* 99: 806-811
- Hirunagi, K., S. Ebihara., T. Okano,** and Y. Tacaña. 1997. Immunoelectron-microscopic investigation on the subcellular localization of pinopsin in the pineal organ of the chicken. *Cell tissue Res.* 289:235-241.
- Jarvis, M.F., C. Jarvis,** and R.H. Keffen. 1985. Breeding seasons and laying patterns of the Southern African ostrich *Struthio camelus*. *Ibis* 127, 442-449
- Jenkins, S.A.** and T.E. Porter. 2004. Ontogeny of the hypothalamo-pituitary adrenocortical axis in the chicken embryo: a review. *Domestic Animal Endocrinology* 26:267-275
- Joseph, M.M.** and A.H. Meier. 1973.Daily rhythms of plasma corticoesterone in the common pigeon. *Columbia livia*. *General And Comparative Endocrinology* 20(2):326-330.
- Jozsa, R., S. Vigh., B. Mess** and A.V. Schally. 1986. Ontogenic development of corticotropin-releasin factor(CRF)- containing neural elements in the brain of the chicken during incubation and after hatching. *Cell Tissue Res* 244:681-5
- Kaneko, M., T. Hiroshige., J. Shinsako,** and M.F. Dallman. 1980. Diurnal changes in amplification of hormone rhythms in the adrenocortical system. *Am. J. Physiol Regulatory Integrative comp.. Physiol* 239:R309-R316.
- Kaneko, M., K.Kaneko., J. Shinsako,** and M.F. Dallman. 1981. Adrenal sensitivity to adrenocorticotropin varies diurnally. *Endocrinology* 109:70-75
- Kasal, C.A., m. Menaker,** and J.R. Pérez-Polo. 1979. Circadian clock in culture:N-acetyltransferase activity of chick pineal glands oscillates in vitro. *Science* 203:656-658.
- Keenan, D.M., J. Licino,** and J.D.Veldhuis . 2001. *PNAS.* 98(7):4028-4033
- King, J.R.** and D.S. Farner 1963. The relationship of fat deposition to Zugunruhe and migration. *Condor.* 65:200-233.
- King, J.R.** and D.S. Farner. 1965. Studies of fat deposition in migratory birds. *Annual N.Y. Academic Science* 131: 422-440

- King, J.R., D.S. Farner, and M.L. Morton.** 1965. The lipid reserves of white-crowned sparrows in the breeding ground in central Alaska. *Auk* 82: 236-252
- King, J.A., and R.P. Millar** 1982a. Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone I structural determination on partially purified material. *Journal of Biological Chemistry* 257: 10722
- Kitayski, A.S., Kitayski, E.V., J.F. Piatt and J.C. Wingfield.** 2003. Benefits and cost of increased levels of corticosterone in seabird chicks. *Hormones and Behaviour* 43:140-149.
- Klukowski, A.L., M. Cawthorn, and D.E. Ketterson.** 1997. Effects of experimentally elevated testosterone on plasma corticosterone and corticosteroid-binding globulin in Dark-eyed Juncos (*Junco hyemalis*) *General and Comparative Endocrinology* 108: 141-151
- Koide, Y., H. Papkoff, and H. Kawauchi.** 1996. Complete amino acid sequence of follitropin and lutropin in the ostrich *Struthio camelus*. *European Journal of Biochemistry* 240: 262-267
- Kovacs, K, and P. Peczely.** 1983. Phase shifts in circadian rhythmicity of total, free corticosterone and transcortin plasma levels in hypothyroid male Japanese quails. *General and Comparative Endocrinology* 50:483
- Krieger, D.T.** 1977. Regulation of circadian periodicity of plasma ACTH levels. *Ann. NY Acad. Sci.* 297:561-567.
- Lynn, S.E., C.W. Breuner, and J.C. Wingfield.** 2003. Short-term fasting affects locomotor activity, corticosterone, and corticosterone binding globulin in a migratory songbird. *Horm. Behav.* 43:150-157.
- Leuthold, W.** 1977. Notes on the breeding biology of the ostrich *Struthio camelus* in Tsavo East National Park, Kenya. *Ibis* 119, 541-544
- Lormée, H., P. Jouventin., A. Lacroix., J. Lallemand, and O. Chastel .** 2000. Reproductive Endocrinology of tropical seabirds: sex-specific patterns in LH, steroids, and prolactin secretion in relation to parental care. *General and Comparative Endocrinology* 117: 413-426
- Love, P.O., M.D. Bird, and J.L. Shutt.** 2003. Corticosterone levels during post-natal development in captive American kestrels (*Falco sparverius*) . *General and Comparative Endocrinology* 130: 135-141
- Marie, C.** 1981. Ontogenesis of the adrenal glucocorticoids and the target function of the enzymatic tyrosine transaminase activity in the chick embryo. *J. Endocrinol* 90:193-200
- McEwen, S.B. and J.C. Wingfield.** 2003. The concept of allostasis in biology and medicine. *43:2-15*
- Menaker, M.** 2003. Circadian photoreception *Science* 299:213-214
- Meier, A.H, and A.J. Fivizzani.** 1975. Changes in the daily rhythm of plasma corticosterone concentration related to seasonal conditions in the white-throated sparrow, *Zonotrichia albicollis*. *Proc Soc. Exp. Biol. Med.* 150(2):356-62
- Milewski, N., R. Ivell., R. Grossmann, and F. Ellendoff.** 1989. Ontogeny of vasotocin/mesotocin gene expression in the hypothalamo-neurohypophysial system of the chick embryo. *J. Neuroendocrinol* 1:473-84
- Milton, S.J., W.R.J. Dean, and W.R. Siegfried.** 1994. Food selection by ostrich in Southern Africa. *Journal of Wildlife Management* 58: 234-248

- Moore-Eden** MC 1986. Physiology of the circadian timing system: predictive vs reactive homeostasis. *American Journal of Physiology* 250: R737-R752
- Munck**, A. P.M. Guyre, and N.J. Holbrook. 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr. Rev* 5:25-44
- Nakamura**, T., T. Yuichi, and H. Hirokazu. 1978. Evidence on the in vitro formation of cortisol by the adrenal gland of embryonic and young chickens (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology* 35:302-308
- Natesen**, A., L. Geetha and M. Zatz. 2002. Rhythm and soul in the avian pineal. *Cell Tissue Res* 309:35-45
- Niles**, P.L., G.M. Brown, and L.J. Grotta . 1979. Role of the pineal gland in diurnal endocrine secretion and rhythm regulation. *Neuroendocrine* 29: 14-21
- Okano**, T., D. Kojima., Y. Fukada and Y. Shichida . 1992. Primary structures of chicken cone visual pigments: vertebrate rhodopsins have evolved out of cone visual pigments. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89: 5932-5936
- Okano**, T., K. Yamamoto., K. Okano., T. Hirota., T. Kasahara., M. Sasaki., Y. Tacaña, AND y. Fukada. 2001. Chicken pineal clock genes: implication of BMAL2 as a bidirectional regulator in circadian clock oscillation. *Genes Cells* 6:825-836.
- Okano**, T., T. Yoshizawa, and Y. Fukada . 2002 Pinopsin is a chicken pineal photoreceptive molecule 372 (3)
- Olivera López**, J.I. y T. Jaramillo Jaimes 2001. Fotoperiodo y reproducción animal. *Reproducción y manejo de Fauna silvestre*. cap. 4 pp 36-52
- Otteweller**, J.E. and A.H. Meier. 1982. Adrenal innervation may be an extrapituitary mechanism able to regulate adrenocortical rhythmicity in rats. *Endocrinology* 11:1334-1338
- Papkoff**, H.P., A. Lecht, D.S. Gallo., W.O. Mackenzie, and M.J. Oosthuizen 1982. Biochemical and immunological characterization of pituitary hormones from the ostrich (*Struthio camelus*). *General Comparative Endocrinology* 48: 181
- Pereyra**, M. And C.J. Wingfield . 2003. Changes in plasma corticosterone and adrenocortical response to stress during the breeding cycle in high altitude flycatchers. *General and Comparative Endocrinology* 130: 222-231
- Powell**, R.C., H.M. Jach, and J.A. King. 1987. Identification of Glu<sup>8</sup> GnRh and His<sup>5</sup> Trp<sup>3</sup> Tyr<sup>8</sup> GnRh in the hypothalamus and extrahypothalamic brain of the ostrich *Struthio camelus*. *Peptides* 8: 185-190
- Radke**, W.J. and S. Harvey. 1984. Dietary sodium and adrenocortical activity in ducks (*Anas platyrhynchos*) and chickens (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology* 56:171
- Rees**, A., S. Harvey, and G.J. Phillips. 1985. Adrenocortical responses to novel stressors in acutely or repeatedly starved Chickens. *General and Comparative Endocrinology* 59:105-109
- Reiter**, J.R. 1991. Pineal Gland Interface between the photoperiodic environment and the endocrine system. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2: 13-19
- Reiter**, J.R. 1991. Melatonin: That Ubiquitously acting pineal hormone News in physiological. *Science* 6: 223-227

- Remage-Healey, L.** And M. Romero. 2001. Corticosterone and insuline interact to regulate glucose and triglyceride levels during stress in a bird. American Journal Physiology Regulatory Integrative Comp. Physiol. 281: R994-R1003
- Rennerkens, J., T. Piersma, and M.R. Ramenofsky.** 2002. An experimental test of the relationship between temporal variability of feeding opportunities and baseline levels of corticoesterone in a shorebird. J. Exp. Zool 293(1):81-8
- Rich, E.L. and L.M. Romero** 2001. Corticoesterone response to variable doses of dexamethasone, CRF and ACTH in the European Starling(*Struthio vulgaris*).Am Zool. 41:1566
- Rittmaster, R., G.B.Jr, Cutler., P.W. Gold., D.Brandon, and T. Tomai,** 1987. The relationship of saline induced changes in vasopressin secretion to blood and corticotropin-releasing hormone.stimulated adrenocorticotropic and cortisol secretion in man. J. Clin. Endocrinol Metab. 64:371-376.
- Roenneberg, T.** And M. Merrow. 2002 Life before the clock: modeling circadian evolution. Journal of biological rhythms 17 No. 6 495-505
- Romero, M., K.K.Soma, and C.J. Wingfield.** 1998. Hypothalamus and adrenal regulate modulation corticosterone release in redpolls (*Carduelis flammea* – an Arctic-Breeding song Bird) General and Comparative Endocrinology 109: 347-355
- Romero, L.M, K.K. Soma, and C.J. Wingfield.** 1998. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis changes allow seasonal modulation of corticoesterone in a bird. Am. J Physiol 274 (Regulatory Integrative Comp. Physiol 43) 43: R1338-R1344
- Romero L.M. and L. Remage-Healey.** 2000. Daily and seasonal variation in response to stress in captive starlings (*Sturnus vulgaris* ): corticoesterone. General and Comparative Endocrinology 119: 52-59
- Sabih, N.A., J.M. Bahr, and A.G. Gilbert.** 1978. Effect of LH injection on plasma and follicular steroids in the chicken . Endocrinology 96: 969
- Sapolsky, R., M. Romero and A. Munck.** 2000. How Do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. Endocrine Reviews. 21(1): 55-89.
- Sauer, E.G.F..** 1972. Aberrant sexual behaviour in the South African ostrich. Auk 89: 717-737
- Sauer, E.G. and E.M. Sauer.** 1967. Yawning and other maintenance activities in the South African ostrich. Auk 84: 571-587
- Schmidt-Nielsen, K., J. Kanwisher., R.C. Lasiewski, and J.E. Cohn.** 1969. Temperature regulation and respiration in the ostrich. Condor 71: 341-352
- Schulkin, J.** 2003. Allostasis: a neural behavioral perspective. Hormones and Behaviour 43:21-27
- Selye, H.** 1936. A syndrome produced by diverse nocous agents. Nature 138: 32
- Sherwood, M.N., C.J.Wingfield and F.G. Ball.** 1988. Identity of gonadotropin-releasing hormone in passerine birds: comparison of GnRH in song Sparrow (*Melospiza melodia*) and starling (*Sturnus vulgaris*) with five vertebrate GnRHs. General and Comparative Endocrinology 69: 341-351

- Sims, C.G.**, and R.L. Holberton. 2000. Development of the corticosterone stress response in young northern mockinbirds (*Mimus polyglottos*). *General and Comparative Endocrinology* 119:193-201.
- Sockman, K.W.** and H. Schwabl. 2001. Plasma corticosterone in nestling american kestrels: effects of age, handling stress, yolk androgens, and body condition. *General Comparative Endocrinology* 122(2):205-12
- Suarez, K.R.** 1998. Oxygen and the upper limits to animal design and performance. *The Journal of Experimental Biology* 201:1065-1072
- Takahashi, S.J.**, N. Murakami., S.S. Nikaido., B.L. Pratt, and L.M. Robertson. 1989. The avian pineal a vertebrate model system of the circadian oscillator: cellular regulation++
- Takahashi, S. J.** 1992. Circadian clock genes are ticking. *Science* 258: 238-24
- Takahashi, S.J.** and M. Zatz. 1982. Regulation of circadian rhythmicity. *Science* 217:1104-1111
- Takashi, Y.**, S. Yoshikazu and E. Makino. 2000. Molecular analysis of avian circadian clock genes. *Molecular Brain Research* 78: Issuea 1-2, 31 207-215
- Tanabe, Y.**, T. Nakamura., F. Koro, and D. Osamu. 1979. Production and secretion of sex steroid hormones by the testes, the ovary, and the adrenal glands of embryonic young chickens (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology* 39:26-33.
- Tanabe, Y.**, N. Saito., and T. Nakamura. 1986. Ontogenetic steroidogenesis by testes, ovary, and adrenals of embryonic and postembryonic chickens (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology* 63:456-63
- Underwood, H.**, C.T. Steele, and B. Zivkovic. 2001. Circadian organization and the role of the pineal in bird. *Micrsc. Res. Tech.* 53(1):48-62
- Vamvakopoulos, N.C.** and G.P. Chrousos. 1994. Hormonal regulation of human corticotrophic releasing hormone gene expresión: implication for the stress response and immune inflammatory reaction. *Endocr. Rev.* 15:409-420.
- Van Tuinen, M.** And G.C. Sibley 1998 Phylogeny and Biogeography of ratite birds inferred from DNA sequences of the mitochondrial ribosomal genes. *Molecular Biol. Evol.* 15(4): 370-376
- Vylitová, M.**, I. Miksík, and J. Pachá. 1998. Metabolism of corticosterone es different in avian and mammalian intestine. *Journal of Physiology* 2:511-18
- Weitzman, E.D.**, D. Fukushima., C. Nogueira., H. Roffwarg., T.F. Gallagher, and L. Hellman. 1971. Twenty-four hours pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J. Clin Endocrinol Metab.* 33:14-22
- Wiepkema, P.R.** and J.M. Koolhaas 1993. Stress and animal welfare. 2: 195-218
- Williams, J.R.**, W.R. Siegfried., S.J. Milton., N.J. Adam., W.R.J. Dean, and M.A. Du Plessis. 1993. Field metabolism, water requirements, and foraging behaviour of wild ostriches in the Namib. *Ecology* 74: 390-404
- Wingfield, J.C.** and S.D. Farner. 1975 The determination of five steroids in avian plasma by radioimmunoassay and competitive protein-binding. *Steroids* 26 (3) 311-327

- Wingfield, J.C.**, C.M. Vleck, and M.C. Moore. 1992. Seasonal changes of adrenocortical response to stress in bird the Sonoran desert. *J. Exp. Zool.* 264(4): 419-28.
- Wingfield, J.C.**, K.S. Matt, and D.S. Farner. 1984. Physiologic properties of steroid hormone-binding proteins in a blood. *General and Comparative Endocrinology* 53(2):281-92.
- Wingfield, J.C.** and R.M. Sapolsky. 2003 Reproduction and resistance to stress: when and how *Journal of Neuroendocrinology* 15: 711-724
- Wise, P.M.** and B.E. Frye. 1973. Funtional development of the hypothalamo-hypophyseal-adrenal cortex axis in the chick embryo gallo domesticus. *J. Exp. Zool* 185:277-92
- Wood, C.E. J.** Shinsako., L.C.Ramsay, and M.F. Dallman. 1982. Apparent dissociation of adrenocorticotropin and corticosteroid responses to 15ml/kg hemorrhage in conscious dogs. *Endocrinology* 110:1416-1421.
- Woodley, S.K.**, D.L. Painter., M.C. Moore., M.Wikelski and L.M. Romero. 2003. Effect of tidal cycle and food intake on the baseline plasma corticosterone rhythm in intertidally foraging marine iguanas. *General Comparative Endocrinology* 132(2):216-22
- Wright, W.M.**, and J.K. Bowmaker. 2001. Retinal photoreceptors of paleognathous bird: the ostrich(*Struthio camelus*) and rhea(*Rhea americana*). *Vision Research.* 41(1):1-12
- Yoshimura, T.**, S. Yoshikasu., E. Makino.,T. Suzuki and E.Shizumufumi. 2000. Molecular análisis of avian circadian clock. *Molecular Brain Research* 78(1-2):207-215.
- Zawilska, J.B.** and Z.J. Nowak 1992. Regulatory mechanisms in melatonin biosynthesis in retina. *Neuroscience Int.* 20 (1): 23-36
- Zawilska, J.B.**, B. Vivien-Roels., D.J. Skene, and P. Pénet. 2000. Phase shifting effects of light on the circadian rhythms of 5-methoxytryptophol and melatonin in the chick pineal gland. *J. Pineal Res.* 29: 1-7
- Zawilska, J.B.**, J. Rosiak., B.Vivien-Roels, and D.J. Skene. 2002. Daily variation in the concentration of 5-methoxytryptophol and melatonin in the duck pineal gland and plasma.
- Zawilska, J.B.**, M.Benezéka., J. Roseak, and R.Vivien. 2003. Dayly variations in the concentration of melatonin and 5-methoxytryptophol in the gland pineal gland, action and plasma. *General and Comparative Endocrinology* 134: 296-302
- Zimmerman, E.** and V. Critchow. 1967. Effects of diurnal variation in plasma corticoesterone levels on adrenocortical response in stress. *PSEBM.* 125:658-663
- Zimmerman, H.N.** and M. Menaker. 1979. The pineal gland : A pacemaker within the circadian system of the hours sparrow. *Proc. Natl. Acad. Sci.*76 (2) : 999-1003



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00001

PATRON CIRCADICO DE  
SECRECIÓN DE CORTICOESTERONA  
EN AVESTRUZ MACHO (*Struthio  
camelus*) EN EPOCA  
REPRODUCTIVA.

En México, D.F., se presentaron a las 10:00 horas del día 2 del mes de diciembre del año 2004 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

M. EN C. ARTURO LEOPOLDO PRECIADO LOPEZ

M. EN C. JORGE IVAN OLIVERA LOPEZ

M. EN C. MARIA TERESA JARAMILLO JAIMES

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL

DE: GABRIELA RODRIGUEZ ESQUIVEL

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

*APROBAR*

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



GABRIELA RODRIGUEZ ESQUIVEL  
FIRMA DE LA ALUMNA

REVISÓ

*[Signature]*  
LIC. JOSEMAN LLORENS FABREGAT  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

*[Signature]*  
DR. OSCAR ARMANDO MONROY  
HERMOSILLO

PRESIDENTE

*[Signature]*  
M. EN C. ARTURO LEOPOLDO  
PRECIADO LOPEZ

VOCAL

*[Signature]*  
M. EN C. JORGE IVAN OLIVERA  
LOPEZ

SECRETARIA

*[Signature]*  
M. EN C. MARIA TERESA  
JARAMILLO JAIMES