



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

---

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
POSGRADO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

EFFECTO DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR SOBRE LA EXPRESIÓN  
DE MOLÉCULAS REGULADORAS DEL METABOLISMO Y CITOCINAS  
EN RATAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

P R E S E N T A :

M. en B.E. Malinalli Brianza Padilla

**Directores:**

Dr. Gonzalo Vázquez Palacios

Dra. Herlinda Bonilla Jaime

**Asesor:**

Dr. Julio César Almanza Pérez

Ciudad de México a 12 de Diciembre de 2016

## **Comité Tutorial**

Co-directora

**Dra. Herlinda Bonilla Jaime**

Profesor – Investigador Titular C

Departamento de Biología de la Reproducción

Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa

Co-director

**Dr. Gonzalo Vázquez Palacios**

Profesor – Investigador

Colegio de Ciencia y Tecnología

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

San Lorenzo Tezonco

Asesor

**Dr. Julio César Almanza Pérez**

Profesor Investigador - Titular C

Departamento de Ciencias de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa

El presente trabajo fue realizado en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, en el laboratorio de biología conductual y reproductiva, bajo la Co-dirección de la Dra. Herlinda Bonilla Jaime y el Dr. Gonzalo Vázquez Palacios, en el laboratorio de Farmacología bajo la asesoría del Dr. Julio César Almanza Pérez y en el Laboratorio de Inmunología en Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, bajo la colaboración del doctor Fausto Sánchez Muñoz.

Agradecemos al Laboratorio Divisional de Biología Molecular de Ciencias Biológicas y de la Salud (UAM-I) las facilidades otorgadas son el uso del equipo especializado.

“El programa de doctorado en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al programa nacional de posgrados de calidad (PNPC) del CONACyT, registro 001482, en el nivel Consolidado y cuenta con el apoyo del mismo consejo, clave: DAFCYT-2003IDPTNNN0020.

La alumna Malinalli Brianza Padilla recibió una beca CONACyT con número de registro: 248825 y CVU 372651

## Miembros de Jurado

Los miembros del jurado fueron designados por la comisión académica del posgrado en Biología Experimental de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa, los abajo firmantes aprobaron la tesis titulada "Efecto de la privación de sueño MOR sobre la expresión de moléculas reguladoras del metabolismo y citocinas en ratas", con fecha de presentación para obtener el grado de Doctorado, el día 12 de Diciembre de 2016.

**Dr. Rafael Bojalil Parra**

Departamento Ciencias de la salud - Medicina  
Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco



(PRESIDENTE)

**Dr. Fausto Sánchez Muñoz**

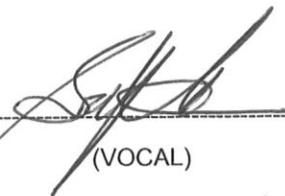
Departamento de Inmunología  
Instituto Nacional de Cardiología (Ignacio Chávez)



(SECRETARIO)

**Dra. Beatriz Gómez González**

Departamento de Biología de la Reproducción  
Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa



(VOCAL)

**Dr. Julio César Almanza Pérez**

Departamento de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa



(VOCAL)

## Dedicatoria

A mis amados hijos

### **Hasen y Alonso**

Les dedico cada sueño, cada ilusión, cada triunfo y también cada tropiezo que nos hace levantarnos con más ganas cada vez.

Les agradezco infinitamente toda su paciencia, su compañía y sus caritas hermosas que me hacen abrir mis brazos a la vida y verla con todo el amor que me hacen sentir, gracias por tomarme con sus manitas pegajosas que me recuerdan que no estoy sola y por sus sonrisas honestas que me ayudan a no sentir cansancio.

Disculpen las ausencias, las largas horas en la escuela / guardería esperando a su mamá que se moría de ganas por llegar a abrazarlos.

Gracias mis niños por ser mi fuerza y motor todos los días.

¡Los amo inmensamente!

### **A Iván**

Compañero de vida, maestro de paciencia, de bondad y de prudencia, gracias mi vida por estar conmigo y acompañarme siempre e incondicionalmente, por tener un espacio entre tus brazos para mí, por confiar en nosotros y regalarme todos los días una sonrisa.

¡Te amo!

*Lo que importa es cuanto amor ponemos en el trabajo que realizamos*

*\*Madre Teresa de Calcuta*

## **Agradecimientos**

### **Al jurado evaluador**

Agradezco su tiempo y sus enseñanzas, sus observaciones tan objetivas brindaron mayor calidad a este trabajo.

### **A mi Directora, Dra. Herlinda Bonilla**

Por la confianza, el apoyo y todas las experiencias vividas.

### **A mi asesor, Dr. Julio Almanza**

Por las palabras de aliento, por creer siempre en mí, por la paciencia y el apoyo incondicional.

### **Al Dr. Fausto Sánchez**

No tengo palabras para agradecerlo todo. El tiempo, la confianza, la motivación, el ejemplo, por siempre encontrar la forma de hacerme ver el lado más amable de la ciencia.

### **A mis compañeros de Laboratorio**

Por hacer los días divertidos, por su cariño y apoyo.

### **A mis amigos**

Por siempre ser la mano firme que me ayuda a no tambalear, por darle mucha alegría a mi vida y estar en los mejores y los peores momentos. ¡Los quiero muchísimo!

### **A Mario, mi hermano**

Por siempre estar a mi lado y no abandonar el barco, por ser mi confidente y siempre apoyar cada una de mis decisiones. ¡Te amo!

*"Hay personas que brillan con luz propia, y hacen más bello el existir. Gracias por alumbrarme."*

# Índice

	Página
Resumen	1
Abstract	3
1. Sueño	5
1.1 Etapas del sueño	5
1.2 Funciones del sueño	8
2. Privación de sueño	10
2.1 Métodos de privación de sueño MOR	11
2.2 Consecuencias en la salud por la privación de sueño	13
3. Metabolismo	15
3.1 Metabolismo energético	16
3.2 Hormonas que participan en la regulación del metabolismo	17
3.3 Adipocinas	22
3.4 Moléculas que participan en la regulación del metabolismo	23
4. Citocinas	27
5. Micro RNAs	29
6. Sueño y hormonas	32
7. Sueño y alteraciones metabólicas	35
8. Inflamación y citocinas	38
9. Relación inflamación - metabolismo	39
9.1 Inflamación – metabolismo – microRNAs	41
9.2 Alteraciones inflamatorias por falta de sueño	42
10. Antecedentes	44
11. Pregunta de	48

investigación	
12. Objetivo general	48
13. Objetivos particulares	48
14. Hipótesis	49
15. Diseño experimental	50
15.1 Método de privación de sueño MOR	50
15.2 Consumo de alimento	51
15.3 Cuantificación de adiponectina e interleucinas	51
15.4 Cuantificación de corticosterona	51
15.5 Extracción de RNA y RT –PCR en tiempo real	52
15.6 Cuantificación de microRNAs	56
15.7 Análisis estadístico	57
16. Resultados	58
17. Discusión	71
18. Conclusión	104
19. Bibliografía	106
20. Publicación	132

## Índice de tablas, figuras y esquemas

		Página
Tabla I	Secuencia de oligonucleótidos para la cuantificación de la expresión del RNAm de genes de adipocitocinas	53
Tabla II	Secuencia de oligonucleótidos para la cuantificación de la expresión del RNAm de genes que participan en la regulación del metabolismo energético	54
Tabla III	Secuencia de oligonucleótidos para la cuantificación de la expresión del RNAm de genes de citocinas	55
Tabla IV	Efecto de la PSMOR sobre las concentraciones séricas de hormonas relacionadas con el metabolismo energético	60
Tabla V	Recomendaciones sobre la higiene del sueño	105
Figura 1	Efecto de la PSMOR y su recuperación sobre el consumo de alimento	58
Figura 2	Efecto de diferentes periodos de PSMOR y su recuperación sobre los niveles de adiponectina y su RNAm	61
Figura 3	Expresión relativa del RNAm de resistina	62
Figura 4	Efecto de la PSMOR y su recuperación sobre la expresión de GLUT4, FATP y ASCL1	64
Figura 5	Efecto de la PSMOR y su recuperación sobre la expresión de	65

## PPAR $\gamma$ en hígado y tejido adiposo

Figura 6	Efecto de los diferentes periodos de PSMOR y su recuperación sobre las concentraciones de citocinas	67
Figura 7	Expresión relativa de RNAm de TNF e IL-6	68
Figura 8	Expresión relativa de miRNA's relacionados con la progresión de enfermedades inflamatorias	69
Figura 9	Efecto de la PSMOR y su recuperación sobre miRNA's relacionados con alteraciones metabólicas	70
Figura 10	Comparación de la secreción de citocinas	95
Figura 11	Comparación de la expresión de IL-6 y TNF en tejido adiposo	97
Esquema 1	Regulación de la ingesta de alimento	82
Esquema 2	Efectos de PPAR $\gamma$ en el tejido adiposo y en el hígado	87
Esquema 3	Efectos de PPAR $\gamma$ sobre adipocitocinas	88
Esquema 4	Participación de la resistina en la respuesta inflamatoria	99

## Abreviaturas

- (MOR) Movimientos oculares rápidos
- (SMOR) Sueño de movimientos oculares rápidos
- (SOL) Sueño de ondas lentas
- (PSMOR) Privación de sueño MOR
- (1PSMOR) 1 día de PSMOR
- (4PSMOR) 4 días de PSMOR
- (8PSMOR) 8 días de PSMOR
- (REC) 20 días de recuperación posterior a 8PSMOR
- (PS) Privación de sueño
- (RI) Resistencia a la insulina
- (DM2) Diabetes mellitus tipo 2
- (GLUT 4) Proteína facilitadora del transporte de glucosa tipo 4
- (FATP) Proteína transportadora de ácidos grasos
- (ACSL 1) Acil CoA sintetasa de ácidos grasos de cadena larga tipo 1
- (PPAR) Receptores activados por proliferadores de peroxisomas
- (IL) Interleucinas
- (TNF) Factor de necrosis tumoral
- (miRNAs) micro RNAs

## RESÚMEN

El sueño es una actividad fisiológica indispensable, se considera que el ser humano pasa una tercera parte de su vida durmiendo, lo que indica que las funciones del sueño son de vital relevancia. A pesar de que la función del sueño no está descrita en su totalidad se consideran varias teorías, entre ellas destaca la regulación del metabolismo y de la respuesta inmune. Se ha observado que la privación de sueño induce importantes alteraciones en el metabolismo de la glucosa, y se cree que existe una relación entre la obesidad y la falta de sueño, además de ello se ha demostrado que la privación de sueño induce alteraciones en la respuesta inmune. Dichas alteraciones también se relación con algunas alteraciones como la resistencia a la insulina, sin embargo poco se ha descrito sobre la respuesta del organismo ante diferentes periodos de privación de sueño y su recuperación. Por lo anterior se evaluó el efecto de la privación de sueño MOR a diferentes periodos (1 día, 4 días y 8 días) y 20 días de recuperación posterior a 8 días de privación de sueño MOR, sobre la concentración y expresión de moléculas reguladoras del metabolismo y citocinas en ratas, al primer día se encuentra una disminución en la concentración de leptina, insulina, IL-10 e IL-1 $\beta$  e incrementan los miRNAs 155, 146a y 223 así como la concentración de IL-6. Al día 4 se observa incremento en el consumo de alimento, en la expresión del RNAm de resistina, TNF, ACSL1 y PPAR $\gamma$  en hígado.

Así mismo disminuye la leptina, la expresión de GLUT4 y el miRNA 223. En el día 8 de privación de sueño MOR se mantiene el aumento en el consumo de alimento, se incrementa la grelina, la corticosterona, IL-10, IL-6 y disminuyen la leptina, insulina y los miRNAs 16 y 126.

Pasando el periodo de recuperación se incrementa la expresión de adiponectina, FATP, ACSL 1, PPAR $\gamma$ , IL-6, así como la concentración de TNF e IL-6 y disminuye la expresión de GLUT4 y la concentración de IL-10. Los resultados demuestran que la respuesta del organismo sometido a diferentes periodos de privación de sueño MOR es dependiente al tiempo de la misma y que es insuficiente un periodo prolongado de recuperación para revertir las alteraciones provocadas por la privación de sueño MOR.

## ABSTRACT

Sleep is an indispensable physiological activity, it is considered that the human being spends a third of his life sleeping, which indicates that the functions of sleep are of vital importance. Although the function of sleep is not fully described, several theories are considered, among them, it deters the regulation of metabolism and the immune response. It has been observed that sleep deprivation induces important alterations in glucose metabolism, and believes that there is a relation between obesity and lack of sleep, besides it has been shown that sleep deprivation induces alterations in the immune response , this alterations also are related with some alterations as the insulin resistance, however little has been described about the response of the organism to different periods of sleep deprivation and its recovery, therefore the effect of the MOR sleep deprivation was evaluated in different periods (1 day, 4 days and 8 days) and 20 days of recovery after 8 days of MOR sleep deprivation, on the concentration and expression of metabolic regulatory molecules and cytokines in rats, the first day it's found a decrease of concentration of leptin, insulin, IL-10 and IL-1 $\beta$  and increase the miRNAs 155, 146a and 223 as well as the concentration of IL-6.

At day 4, the increase in food consumption, in the expression of mRNA resistine, TNF, ACSL1 and PPAR $\gamma$  in liver were observed. It decreases leptin, expression of GLUT4 and miRNA 223. On day 8 of MOR sleep deprivation, the increase in food consumption is maintained, ghrelin, corticosterone, IL-10, IL-6 and Leptin, insulin and miRNAs 16 and 126.

Passing the recovery period the expression of adiponectin increases, FATP, ACSL 1, PPAR $\gamma$ , IL-6, as well as TNF and IL-6 concentration and decreased expression of GLUT4 and the concentration of IL-10. The results demonstrate that the response of the organism subjected to the different periods of MOR sleep deprivation depends on time of the same and that a prolonged recovery time is insufficient to reverse the alterations caused by MOR sleep deprivation.

## 1. SUEÑO

El sueño es una actividad fisiológica de gran relevancia, se caracteriza por una conducta de pasividad y una reducida capacidad de responder ante estímulos externos (Jones, 1998). El sueño es por tanto una necesidad vital e inevitable (Vázquez et. al., 2012). Una de las características neurobiológicas del sueño es su división en dos fases: el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) y el sueño de ondas lentas (SOL). El movimiento ocular marca una diferencia entre una fase y otra, en el sueño MOR aparece la atonía muscular generalizada, excepto en los músculos oculares y respiratorios, y es donde se presenta una actividad cerebral similar al estado de vigilia (Nilsson et.al., 2004).

### 1.1 Etapas del sueño

De acuerdo a sus características electrofisiológicas el sueño está constituido por diferentes fases, éstas se definen según los patrones característicos que se observan mediante el electroencefalograma (EEG), el electrooculograma (EOG) y el electromiograma (EMG). Estos perfiles generan dos estados del sueño que se alternan a lo largo de la noche y se presentan de manera cíclica: En el humano el SOL se ha clasificado en 3 fases con base a la normativa de sueño de la AASM de 2007 que son: estadio W, que corresponde a la fase de vigilia y N1 (estadio 1), N2, N3 (engloba estadio 3 y 4 de la nomenclatura de R&K) (Iber et. al., 2007) que son las divisiones del estado de SOL y sueño MOR.

En el humano el estadio de vigilia (W) se caracteriza por presentar en más del 50% ritmo alfa y el tono EMG submentoniano elevado. En el estadio N1 se presenta un cambio de las ondas alfa por ondas de baja amplitud y la presencia de movimientos oculares lentos (no imprescindibles). El estadio N2, se inicia si aparecen complejos K no asociados a ondas negativas rápidas seguidas de ondas positivas lentas con duración de 0.5 a 3 segundos, se finaliza N2 si hay transición a W, a N3 y paso N1 o movimiento corporal seguido de movimientos oculares lentos. El estadio N3 se presenta cuando más del 20% de la fase presenta ondas lentas (frecuencia 0.5-2 Hz y amplitud de  $>75\mu\text{V}$ ) u ondas delta, pudiendo persistir husos de sueño (Iber et. al., 2007).

El estadio MOR se caracteriza por presentar ondas de baja amplitud y frecuencias mixtas (similar a N1), ausencia en el tono EMG submentoniano o baja amplitud, movimientos oculares rápidos (ondas puntiagudas conjugadas irregulares y rápidas  $<500\text{mseg.}$ ) se continúa considerando MOR si persisten ondas de baja amplitud y frecuencias mixtas sin husos y sin complejo K (aunque no se presenten movimientos oculares rápidos). Se finaliza la fase MOR si existe una transición a W o a N3, si se presenta aumento de tono y criterios de N1, si aparecen complejos K o husos y si presenta movimiento corporal seguido de movimientos oculares lentos. (Iber et. al., 2007).

En la rata se consideran 7 etapas del sueño – vigilia y cada ciclo comprende un tiempo aproximado de 10 a 12 minutos. En la etapa 1. Se presenta actividad teta en el hipocampo dorsal y sujeto tiene un comportamiento activo e intenso, en la etapa 2.

No se presenta actividad teta, y conductualmente el sujeto se encuentra tranquilo, en la etapa 3. Se observan ondas lentas de amplitud en aumento y de forma progresiva, en la etapa 4. Se presenta sueño profundo sincronizado y ejes progresivamente crecientes en el cortex anterior. En la etapa 5. Es la etapa que se presenta justo antes de sueño MOR es una fase intermedia con husillos corticales de alta amplitud y baja frecuencia de ritmo teta, se relaciona con la disminución masiva de procesos de transmisión talámicos sensoriales, en la etapa 6 se da el sueño MOR sin movimientos oculares, mientras que en la etapa 7 se presenta el sueño MOR con movimientos oculares (Gottesmann, 1992).

La visión de la regulación fisiológica del sueño sostiene que existen dos componentes:

- 1) Un componente homeostático en el que la necesidad de sueño se manifiesta por un aumento de la propensión a dormir después de la privación del sueño y una disminución de esta propensión a dormir cuando se consolida el tiempo necesario de sueño.
- 2) Un marcapaso circadiano, que es básicamente independiente del sueño y la vigilia, pero que determina los tiempos de inicio y terminación del sueño mediante el cambio del umbral de la necesidad del dormir (Borbely, 1982).

Tanto el marcapasos circadiano como el componente homeostático contribuyen a la consolidación del sueño. La interacción entre estos procesos es la base para una presión a consolidar el sueño por la noche y una presión a consolidar la vigilia durante el día. Así, la propensión a dormir depende de la cantidad de privación de sueño y de la fase del reloj circadiano. Los niveles de excitación y el estrés

desempeñan un papel fundamental en la inducción del sueño, un nivel de excitación más alto está asociado con una disminución de la propensión al sueño y viceversa (Germain y Nielsen, 2003).

## 1.2 Funciones del sueño (importancia del sueño)

Las hipótesis sobre la función del sueño son numerosas y muchas de ellas tratan de explicar la función del sueño como un proceso homeostático. Algunas de las hipótesis se centran en diferentes aspectos de la homeostasis como la restauración tisular, el balance energético, la termorregulación, la desintoxicación y la función inmune (Walker y Berger, 1980). La hipótesis de restauración fue propuesta por (Benington y Heller, 1995), ellos proponen que el sueño es un estado que permite la reposición de las reservas de glucógeno en el cerebro, que sirven como un importante amortiguador energético que sostiene la actividad neuronal durante la vigilia (Gruetter, 2003). Por tanto la pérdida crónica de sueño se asocia con una disminución del rendimiento psicomotor, somnolencia excesiva (tendencia casi inevitable a quedarse dormido), afectando el estado de ánimo y las funciones autónomas e inmunes (Malik y Kaplan, 2005), aunque el mecanismo exacto por el que se producen la mayoría de estos efectos es aún desconocido y/o poco explorado.

Se conoce que durante el sueño MOR se presentan nuestros sueños más vívidos, aquellos que son claramente recordados. El sueño MOR es «paradójico» ya que se observa una alta actividad cerebral tanto metabólica como neuronal.

La respiración y el ritmo cardíaco son variables, se producen movimientos oculares rápidos y, en el caso de los machos suelen presentarse erecciones penianas (Siegel, 2005). Tales características han hecho que las funciones del sueño MOR resulten particularmente misteriosas (Siegel, 2005).

La continuidad y función del sueño pueden ser fácilmente alteradas por influencias exógenas como la privación de sueño (PS), alteraciones de los horarios laborales, uso de medicamentos o la presencia de enfermedades. Las funciones afectadas por la pérdida de sueño incluyen disminución de la velocidad psicomotora y cognoscitiva de la vigilancia y atención ejecutiva de la memoria y habilidades cognoscitivas superiores (Vázquez et. al., 2012), pero el sueño también ejecuta importantes efectos moduladores sobre algunos de los componentes del sistema endocrino e inmune, como las hormonas de los ejes hipotálamo-hipófisis (p.ej. hormona del crecimiento, prolactina y cortisol) hasta hormonas que regulan el balance de electrolitos y agua, así como del metabolismo de lípidos y carbohidratos, es decir que el sueño participa en la regulación del sistema neuro-inmune-endócrino en el organismo (Gómez – González et. al., 2012).

Los niveles de excitación y el estrés también desempeñan un papel fundamental en el proceso de inducción del sueño (Germain y Nielsen, 2003). Estudios en animales indican que la privación de sueño (PS) activa la respuesta de estrés y al eje hipotálamo hipófisis adrenales (HHA), eje que entre múltiples funciones también tiene la de regular la respuesta de ingesta de alimento pues sus respectivos circuitos neuronales convergen en el núcleo paraventricular, el cual se forma de neuronas que inducen la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH), lo que quiere

decir que los sistemas que controlan la ingesta de alimento y la respuesta de estrés comparten el mismo sitio cerebral, favoreciendo a que cada sistema influya en el otro para generar una respuesta.

## 2. PRIVACIÓN DE SUEÑO

Para poder estudiar el sueño y sus efectos se han planteado métodos para quitarlo total o parcialmente, usando el concepto de PS, el cual se define como una falta del dormir durante un cierto periodo de tiempo, así como un desfase de la hora de dormir (Bonnet y Arand, 2001), las causas más comunes de la PS se relacionan con el estilo de vida contemporáneo y factores laborales, por lo que esta afección daña a un número considerable de personas a nivel mundial (Bonnet y Arand, 2001). Se ha considerado que la privación parcial crónica de sueño es consecuencia de la restricción voluntaria de sueño, lo que la convierte en una enfermedad endémica de la sociedad moderna (Parish et. al., 2007).

De manera habitual los humanos presentan trastornos de sueño que llevan a una privación parcial crónica de sueño, entre los que destacan: apnea, síndrome de piernas inquietas, jet lag, insomnio, entre otras (Tufik et. al., 2009). Así, la PS se presenta como un tipo común de estrés con importantes consecuencias fisiológicas que lleva a la muerte en animales de experimentación (Rechtschaffen et. al., 1983).

## 2.1 Métodos de privación de sueño MOR

Para el estudio del sueño se han recurrido a diferentes técnicas de PS tanto en humanos como en animales, la mayoría de los investigadores ha buscado la forma de aislar el efecto de la PS de los factores de estrés fisiológicos que esta produce, si bien es cierto que un animal aislado y privado de sueño origina una mayor manifestación de estrés que un animal con PS en condiciones de estabilidad social y movilidad, no podemos olvidar que la misma condición de PS es inductora de estrés, por lo que muchas de las respuestas que se observan a lo largo de tiempo de PS son respuestas al estrés. Es por ello que el tema del modelo de PS para roedores y su control ha sido ampliamente cuestionado, debido a que los animales deben ser habituados a la manipulación, a su condicionamiento social y a los métodos invasivos en caso de ser necesarios, como punciones y/o administración de sustancias, etc. Cualquiera que sea la técnica que se elija, se inducirán niveles de estrés, si el sueño es esencial para la salud y la vida, la PS es por naturaleza un factor de estrés biológico (Tufik et. al., 2009).

Diversas técnicas han sido desarrolladas para mantener a los animales despiertos o privarlos de una etapa específica de sueño, la más predominante es la privación de sueño MOR (PSMOR). Algunas técnicas experimentales de PS utilizadas en animales han sido las siguientes: a) Privación manual (Gentle handling) Durante el período de PS, los animales y registros polisomnográficos son vigilados continuamente, cuando el animal muestra señales electrofisiológicas de sueño o asume una postura conductual se le despierta con una señal acústica y si es

necesario se acompaña de estímulos táctiles (Franken et. al., 1991). Esta técnica se utiliza tanto para la privación total de sueño (PTS), como para la PSMOR y privación de SOL (PSOL), aunque para este último se requiere de la polisomnografía para vigilar la fase de sueño específica del animal. b) Método de plataforma única o de florero invertido: Desarrollado por Jouvét en 1964 con el objetivo de suprimir el sueño MOR. El método es muy simple, se basa en una característica típica del sueño MOR: la atonía muscular. Durante el período de PS, el animal se coloca en la base de un florero invertido que sirve de plataforma, el diámetro de la plataforma es pequeño en relación al tamaño del animal. La plataforma se sumerge en una tina con agua hasta 1 cm de altura. El animal descansa en la plataforma e incluso presenta SOL. Pero cuando el animal entra a la fase de sueño MOR, la atonía muscular y la pérdida de balance hace que toque el agua y despierte. Este fue uno de los primeros métodos de PSMOR desarrollados, originalmente desarrollado para privar de sueño MOR a gatos de experimentación (Jouvét et. al., 1964), al siguiente año fue modificado para roedores (Cohen y Dement, 1965). c) Método de plataformas múltiples (MPM), este método es similar al anterior solo que existen varias plataformas para que el animal pueda desplazarse y se evite la restricción de movimiento a la que se le obliga cuando solamente hay una plataforma (Coenen y Van Luijtelaar, 1985).

En general, el MPM consiste en colocar un grupo de 8 a 10 ratas en el interior de una caja de acrílico con 14 plataformas circulares de 6.5 cm de diámetro y 3 centímetros de altura, la caja de acrílico contiene agua con una profundidad de 1 cm. Este método reduce el factor de estrés por manipulación, aislamiento, inmovilidad o

restricción del movimiento inducido por las otras técnicas arriba mencionadas, evaluado a partir de los niveles de corticosterona en la rata (Suchecki et. al., 2000; Suchecki & Tufik, 2000; Suchecki et. al., 2002). Por estas ventajas, este es el método elegido para utilizar en el presente proyecto.

## 2.2 Consecuencias en la salud por la privación de sueño

En animales como en humanos, se ha demostrado que el sueño favorece las funciones cognitivas como la ejecución de tareas, la concentración y la consolidación de la memoria, mientras que la PTS y la PSMOR las deteriora considerablemente (Vázquez et. al., 2012).

Cuando se presenta una PS de manera continua y/o prolongada existen importantes consecuencias, algunas de las condiciones clínicas que mayormente se han asociado a la restricción de sueño son enfermedades cardiovasculares, enfermedades autoinmunes, fallas en procesos metabólicos como la aparición, desarrollo o agravamiento de la diabetes y obesidad, e incluso se ha descrito que algunos tipos de cáncer se han asociado a la activación de señales celulares que se originan con la expresión de citocinas pro inflamatorias, tal como ocurre en la falta de sueño (Volpato, 2001; Karin y Greten, 2005; Knutsson et. al., 2007; Irwin et. al., 2008).

Moléculas como grelina, leptina, factor liberador de corticotropina y citocinas tienen influencia sobre el sueño y por tanto pueden ser considerados como “factores de sueño” (Weikel et. al., 2003), entre las citocinas estudiadas hasta ahora, la evidencia indica que IL-1 $\beta$ , IL-6, y TNF están involucrados en la regulación del sueño (Majde, 2005) y estos a su vez se modifican por efecto de la PS, como una respuesta bidireccional de comunicación entre el cerebro y el sistema inmune-endocrino, que son capaces de modular la defensa del huésped y los mecanismos del sueño (Opp, 2005). Esto resulta interesante porque estos factores también están relacionados con la aparición de trastornos metabólicos como la diabetes y la obesidad.

Así, el sueño podría tener un efecto importante en el control del peso corporal, por sus funciones reguladoras sobre el apetito y la función endócrina, esto aunado a que el tejido adiposo juega un papel endócrino relevante para la regulación del apetito al secretar hormonas como la grelina y la leptina. Al mismo tiempo que se observa un desequilibrio fisiológico, el mismo tejido adiposo tiene la capacidad de inducir procesos inflamatorios por la liberación de factores pro- inflamatorios como TNF e IL-6, pudiendo ocasionar una falla en la regulación por la falta de sueño.

### 3. METABOLISMO

El metabolismo se define como la totalidad de las reacciones químicas que se producen en la materia viva (Mathews, 2002), los procesos considerados en el metabolismo contiene dos principios importantes: 1) el metabolismo se subdivide en dos categorías principales, el catabolismo (procesos relacionados con la degradación de las sustancias complejas) y el anabolismo (procesos relativos fundamentalmente a la síntesis de las moléculas orgánicas y 2) tanto las rutas catabólicas como anabólicas se producen en tres niveles de complejidad: 1. Interconversión de los polímeros y los lípidos complejos con los intermediarios monoméricos; 2. Interconversión de los azúcares monoméricos, aminoácidos y lípidos con los compuestos orgánicos aún más sencillos y 3. Degradación final hasta compuestos inorgánicos como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{NH}_3$  o la síntesis a partir de los mismos (Mathews, 2002).

El metabolismo intermediario comprende todas las reacciones relacionadas con el almacenamiento y la generación de energía metabólica y con el empleo de esa energía en la biosíntesis de compuestos de bajo peso molecular y compuestos de almacenamiento de energía (Mathews, 2002).

### 3.1 Metabolismo energético

El metabolismo energético, por tanto, se refiere a la parte del metabolismo intermediario formada por las rutas que almacenan o generan energía metabólica.

Las rutas centrales del metabolismo explican las cantidades relativamente grandes de transferencia de masa y de generación de energía que se producen en el interior de una célula; son las rutas principales desde el punto de vista cuantitativo (Mathews, 2002).

En los seres humanos muchos aspectos del metabolismo responden a los ciclos circadianos, incluyendo el metabolismo de la glucosa, de insulina y los niveles de leptina (Van Cauter et. al., 1997). Por tanto el apetito y el metabolismo energético son regulados por la interacción de señales metabólicas, hormonales y neuronales.

Algunas de las hormonas que son importantes en la regulación de los carbohidratos y lípidos son la insulina, la grelina y la leptina (Daniel et. al., 2013).

### 3.2 Hormonas que participan en la regulación del metabolismo energético

Como sabemos, la célula viva utiliza múltiples controles de regulación para dirigir todas sus funciones, una hormona es una sustancia que se sintetiza en células especializadas y se transporta por la circulación hasta su célula diana, interactuando con sus receptores específicos, por ello las hormonas son excelentes mensajeros químicos que actúan a todos los niveles de regulación (Mathews,2002).

Entre las hormonas que regulan el metabolismo se encuentran la insulina, glucagón, adrenalina, y cortisol (Daniel et. al., 2013). Mientras que leptina, grelina e insulina regulan la ingesta de alimento en función de la regulación de la energía en el organismo (Scheja y Heeren, 2016).

#### Leptina

En 1995 se identificó en el ratón el producto del gen *ob*. Los ratones que portan dos alelos defectuosos del gen *ob* crecen hasta pesos corporales tres veces superiores al normal. El gen *ob* codifica la proteína denominada leptina. (Mathews,2002)

La leptina es un péptido constituido de 167 aa, producida principalmente por el tejido adiposo (Reseland et. al., 2001). Se secreta en proporción directa a la masa grasa total (Margentic, 2002) y su principal efecto es inhibir el hambre y el consumo de alimentos incrementando el gasto energético y promoviendo el uso de los lípidos corporales (Ahima et. al., 2000).

La Leptina es considerada un “lipostato” pues cuando los depósitos de grasa son los adecuados, las concentraciones de leptina se elevan y los sistemas de señalización

controlan el comportamiento alimenticio para limitar la deposición de grasa, durante el ayuno las concentraciones de leptina disminuyen, lo que estimula la alimentación y el almacenamiento de grasa en los adipocitos (Mathews,2002).

Los niveles elevados de leptina activan la vía metabólica anorexigénica y los niveles bajos de leptina por deficiencia de nutrientes aumenta la señalización orexigénica mediada por el péptido pro-opiomelanocortina (POMC) (Moran et. al., 2006). Esta señal orexigénica se obtiene al existir una interferencia en la respuesta del neuropéptido Y estimulando la ingesta de alimento activada frente a la caída de los niveles de leptina, en dicha cascada participa la hormona concentradora de melatonina y los opioides. (Cardona, 2006).

### Grelina

La grelina es un péptido de 28 aminoácidos, se produce en las glándulas endocrinas del estómago (Kojima et. al., 1999) y en menor proporción por el duodeno y por algunas estructuras cerebrales (Cowley et. al., 2003) las concentraciones de grelina se incrementan en periodos de ayuno provocando la sensación de hambre (Van der Lely et. al., 2004).

Las concentraciones de grelina son reguladas por el núcleo arcuato (Bagnasco et. al., 2003), que es una estructura involucrada en el control central de la ingesta (Kalra et. al., 1999), al estimular la motilidad gastrointestinal (Masuda et. al., 2000).

Las concentraciones plasmáticas de grelina se correlacionan inversamente con la cantidad de alimento ingerido (Bodosi et. al., 2004), se cree que su participación en

la red neuroendócrina de regulación de energía es como hormona periférica que junto con la leptina e insulina informan a la central de energía cuando las reservas disminuyen, lo que provoca el aumento del deseo orexigénico y disminuye el gasto energético. (Van der Lely et. al., 2004).

### Insulina

La insulina es una proteína que se sintetiza en las células B del páncreas quienes detectan las concentraciones de glucosa y secretan insulina en respuesta a una concentración elevada de glucosa, la insulina señala el estado de ingesta e impulsa a la captación de sustratos comestibles, almacenamiento de lípidos y glucógeno y a la biosíntesis de ácidos nucleicos y proteínas (Mathews, 2002).

Por tanto, la homeostasis de la glucosa se regula principalmente por la insulina, que juega un papel crucial por inhibir la producción de glucosa hepática y estimular la captación de glucosa en tejidos sensibles a la insulina como son el tejido adiposo, el músculo esquelético, entre otros (Spiegel et. al., 2005).

Debido a que la insulina aumenta la captación de glucosa en el músculo y en el tejido adiposo, activa la glucólisis en el hígado, aumenta la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos en el hígado y en el tejido adiposo, inhibe la gluconeogénesis en el hígado y aumenta la síntesis de glucógeno, aumenta la captación de aminoácidos activando la síntesis de proteínas musculares e inhibe la degradación proteica (Mathews, 2002).

Cualquier alteración en la insulina, conlleva a importantes alteraciones metabólicas, tal es el caso de la resistencia a la insulina (RI) que ocurre cuando se requieren más niveles de insulina para reducir los niveles de glucosa en sangre tras la administración de la misma cantidad de glucosa exógena (Morselli et. al., 2012), y representa uno de los predisponentes más importantes para el desarrollo de la diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), la cual se define como un conjunto de patologías en la que existe una insuficiencia funcional de la insulina que deteriora la capacidad del organismo para utilizar la glucosa, a pesar de que ésta se encuentre presente en abundancia.

Este déficit de insulina bloquea la captación de glucosa en el músculo y tejido adiposo y reduce el catabolismo de la glucosa en todos los tejidos, se incrementa la proteólisis del músculo y la lipólisis del tejido adiposo y se incrementa también la oxidación de ácidos grasos y la cetogénesis. (Mattews et. al., 2002).

### Corticosterona

Los glucocorticoides (cortisol y corticosterona) estimulan la gluconeogénesis y a dosis farmacológicas suprimen las reacciones inflamatorias, su concentración circulante se controla fundamentalmente mediante su tasa de síntesis, la cual en última instancia se controla por señales procedentes del cerebro, señales que actúan a través de hormonas intermediarias. La neurohormona factor liberador de corticotropina (CRF) se libera en el hipotálamo en respuesta a señales del sistema nervioso central (SNC) y se estimula la liberación de corticotropina (ACTH) por la

glándula hipofisiaria estimulando la síntesis de glucocorticoides en la corteza suprarrenal. (Mathews, 2002).

Las concentraciones de corticosterona son fluctuantes a lo largo del día, presentando un pico máximo en las primeras horas del día y un mínimo a media noche, pero su liberación se puede ver influenciada como respuesta a una desestabilización física o emocional y de esa forma romper su regulación circadiana. (Cortés, 2011).

Ante el incremento en las concentraciones de corticosterona sérica se genera una respuesta celular rápida por agentes de acción inmediata (catecolaminas y neuropéptidos) garantizando un estado de alerta y atención máxima (Cortés, 2011).

El impacto clínico del estrés y la relación con los niveles de cortisol en humanos se manifiesta en diferentes formas que van desde trastornos gastrointestinales, insomnio, alteraciones de la memoria, RI, hipertensión y obesidad. (Dvorkin et.al., 2010).

### 3.3 Adipocinas

La adiponectina es una hormona de 244 aminoácidos con propiedades anti diabéticas, anti inflamatorias y anti aterogénicas, con concentraciones séricas mil veces mayor a la insulina y a la leptina (Haluzik et. al., 2004). Aunque el papel fisiológico de la adiponectina no se ha esclarecido del todo, se considera como un marcador de la sensibilidad a la insulina (Arner, 2005). Siendo así que las concentraciones plasmáticas de adiponectina se correlacionan negativamente con la RI (Lindsay et. al., 2002).

Se ha demostrado que la administración de adiponectina en ratones mejora la sensibilidad a la insulina con una disminución en la producción de glucosa hepática y el incremento de la oxidación de ácidos grasos en el músculo (Combs et, al., 2001; Arner, 2005; Yamauchi et. al., 2001), por el contrario los pacientes con DT2 tienen una menor concentración plasmática de adiponectina (Hotta et. al., 2000).

Evidencias sugieren que la adiponectina actúa de forma autócrina regulando la función secretora del adipocito e induce una reducción en la secreción de IL-6 e IL-8 (citocinas anti-inflamatorias) (Dietze-Schroeder et.al., 2005), como parte de otros de los beneficios que brinda la adiponectina se consideran también cualidades anti-apoptóticas y pro-angiogénicas (Landskroner-Eiger et. al., 2009).

Otra adipocitocina de interés es la Resistina que es una proteína de 114 aminoácidos secretada en el proceso de maduración de los pre adipocitos, y sintetizadas en zonas de inflamación, en inicio se mostró que los niveles circulantes de resistina aumentan en estados de RI, pero al mismo tiempo se han observado resultados variables en relación a los niveles de RNAm en ratones obesos (Silha et. al., 2003; Bokerewa, 2005).

Se ha observado que la insulina tiene efecto supresor de la síntesis de RNAm de resistina en adipocitos 3T3-L1 (Haugen et. al., 2001) mientras que niveles elevados de glucosa aumentan la expresión de resistina (Shojima et. al., 2002).

#### 3.4. Moléculas que participan en la regulación del metabolismo

Existen diferentes moléculas que al igual que las hormonas y adipocitocinas participan en la regulación del metabolismo, entre ellas se encuentra la Proteína Facilitadora del Transporte de Glucosa 4 (GLUT 4). La glucosa ingresa a las células por dos posibles mecanismos: por acarreadores de glucosa asociados al sodio (SGLT) que están presentes principalmente en epitelios donde se absorben y reabsorben los nutrientes. Y por sistemas facilitadores del transporte de glucosa (GLUT) presentes en todas las células del organismo para la movilidad de la glucosa de un compartimento a otro (Castrejón et. al., 2007).

Existen 14 GLUT y se clasifican en familias según su función, sustrato, secuencia o respuesta a bloqueadores. El GLUT 4 se expresa en tejidos sensibles a la insulina

(músculo esquelético, tejido adiposo, corazón), la insulina estimula la incorporación del GLUT 4 a la membrana plasmática por vesículas intracelulares (Castrejón et. al., 2007).

Para la incorporación de ácidos grasos también se utilizan moléculas de transporte como la Proteína Transportadora de Ácidos Grasos (FATP). Existen mecanismos saturables de incorporación de ácidos grasos de cadena larga a distintos tejidos (Stahl et. al., 2001): proteínas de unión de ácidos grasos a membrana plasmática (PM-FABP), Translocasas de ácidos grasos (FAT/CD36) y proteína transportadora de ácidos grasos (FATP) (Dourlen et. al., 2012).

Los ácidos grasos de la lipólisis del tejido adiposo son transportados en unión a la albúmina en la sangre para ser transportados al interior de los tejidos, la acumulación de los lípidos dentro de la célula muscular se relaciona con la RI, las proteínas transportadoras son importantes en la regulación del transporte de ácidos grasos en el músculo y se sugiere que el transporte de ácidos grasos al músculo se incrementa en la obesidad y en la DM2, puesto que la deficiencia de FATP protege de la RI inducida por ácidos grasos (Blaak et. al., 2000).

El metabolismo de los ácidos grasos requiere de algunas moléculas como la Acil CoA sintetasa de ácidos grasos de cadena larga (ACSL1). Gen implicado en el metabolismo de los ácidos grasos, considerado un excelente marcador adipogénico (Ntambi y Young-Cheui, 2000). El ACSL1 participa en el proceso catabólico de los ácidos grasos mediante el proceso de oxidación.

Otras moléculas de importante relevancia son los Receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR's). Nombrados así en su descubrimiento en el año de 1990 donde se observó que existían factores que estimulaban la generación de peroxisomas en el hígado de roedores (Issemann y Green, 1990). Ahora se sabe que son activados gracias a la unión con ligandos del exterior de la célula y que regulan una multitud de genes no relacionados a los peroxisomas (Carbajal, 2007).

Son receptores nucleares que actúan como factores de transcripción y que se activan gracias a la unión de ligandos específicos, regulando la expresión de genes involucrados en el metabolismo de los lípidos y glucosa. Existen tres isoformas tejido específicas de PPARs denominadas alfa, beta/delta y gamma, son moléculas que inciden sobre la regulación de la adipogénesis, metabolismo de lípidos, sensibilidad a la insulina, inflamación, combustión de energía y presión sanguínea (Kelly et. al., 1998).

El PPAR- $\gamma$ : Regulador clave del tejido adiposo y balance energético corporal, implicado en diversas funciones biológicas como inflamación, diferenciación celular y regulación del metabolismo, por lo que lo relaciona ampliamente con el desarrollo de la DM2, obesidad y cáncer pancreático (Polvani et. al., 2014). Se encarga de estimular el almacenamiento de ácidos grasos en el tejido adiposo mediante un incremento en la capacidad de almacenaje y por el aumento en el influjo de ácidos grasos al tejido adiposo, su gen se expresa en células epiteliales, linfocitos B y T, macrófagos, células endonucleares, músculo, hígado y predominantemente en tejido

adiposo, en donde es indispensable para la diferenciación de los adipocitos (Walczak y Tontonoz, 2002).

La activación de PPAR- $\gamma$  induce la adipogénesis (proceso de diferenciación celular de pre adipocito a adipocito) y la lipogénesis (síntesis de ácidos grasos), reduce la lipotoxicidad (acumulación de grasa ectópica que provoca muerte celular o disfunción orgánica) en hígado y músculo, por tanto mejora la sensibilidad a la insulina en esos tejidos (Mendivil et. al., 2015), además tiene la capacidad de regular de manera negativa la transcripción de varios genes que promueven alteraciones en la acción de la insulina, como TNF, leptina, proteínas desacoplantes de la cadena respiratoria mitocondrial (UCPs) y otras citocinas pro inflamatorias secretadas por el adipocito que se asocian con la RI, es regulador del GLUT-4, de la FATP y de la adiponectina (Bonet et. al., 2003; Fatehi- Hassanabad y Chan, 2005).

El PPAR- $\alpha$  es el primer miembro descrito de la superfamilia, expresado en múltiples tejidos como hígado, riñón, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo marrón, monocitos y endotelio vascular (Fatehi- Hassanabad y Chan, 2005). Este factor tiene una acción importante en la activación y beta-oxidación de los ácidos grasos principalmente en el hígado, posee unión preferencial a los ácidos de cadena larga, como el ácido araquidónico, ácido linoleico (Fatehi- Hassanabad y Chan, 2005).

PPAR-  $\delta$  se expresa en diversos tejidos y células, detectándose altos niveles de expresión en el tracto gastrointestinal, corazón, riñón, tejido adiposo y cerebro (Escher et.al., 2001). Está implicado en la diferenciación del adipocito, inducida por

ácidos grasos de cadena larga que son los ligandos preferenciales de este receptor (Escher et.al., 2001).

#### 4. CITOCINAS

Las citocinas son un grupo de proteínas y glucoproteínas producidas por diversos tipos celulares que actúan fundamentalmente como reguladores de las respuestas inmunitaria e inflamatoria. Dentro del grupo de las citocinas se incluyen las interleucinas (IL), los factores de necrosis tumoral (TNF), los interferones (IFN), los factores estimuladores de colonias (CSF) y las quimiocinas (Filella y Molina,2002).

Las citocinas actúan como reguladores sistémicos a concentraciones del orden de nano o picomoles, modulando la actividad de un amplio espectro de tipos celulares que, en general, es bastante superior al de las hormonas.

Interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) Su principal fuente son los macrófagos activados pero también puede secretarse por células epiteliales y endoteliales, la IL-1 $\beta$  es la forma predominante de IL-1 en el espacio extracelular y es una citocina que destaca por su capacidad proinflamatoria.

De hecho, la IL-1 y el TNF tienen un efecto sinérgico sobre la inflamación, que también es promovida por el IFN- $\gamma$  a través del aumento del TNF (Filella y Molina, 2002).

Interleucina 10 (IL-10) Producida por los linfocitos T de tipo Th2 y con capacidad de inhibir la síntesis de IFN y de IL-2 por parte de los linfocitos T. Es la principal citocina

anti inflamatoria, efecto que ejerce a través de la inhibición de la síntesis de IL-1, IL-6 y TNF por parte de los macrófagos (Filella y Molina, 2002).

Interleucina 6 (IL-6) Sus fuentes principales son macrófagos activados, células del endotelio vascular, fibroblastos y adipocito. Es una citocina pro inflamatoria que modifica la sensibilidad a la insulina (Glund et. al., 2007). Interviene en la regulación de la respuesta inmunológica, en la hematopoyesis y en las reacciones de fase aguda, con efectos tanto pro inflamatorios como anti inflamatorios (Glund et. al., 2007).

Su vía de señalización esta mediada por proteín cinasa AMP (AMPK) (Carey et. al., 2006) y 3 – fosfatidil-inositol cinasa (Al-khalili et. al., 2006), se ha demostrado que los efectos de IL-6 están implicados en el metabolismo de la glucosa, de todas las adipocinas IL-6 tiene la correlación más fuerte con la RI y sus complicaciones (Glund et. al., 2007), los niveles de IL-6 en plasma son 2-3 veces mayores en pacientes con obesidad y DM2 (Glund et. al., 2007), dicha elevación se relaciona con el incremento de glucosa en sangre y con la disminución de la tolerancia a la glucosa y a la sensibilidad a la insulina (Glund et. al., 2007).

Factor de Necrosis Tumoral (TNF) Se expresa principalmente en macrófagos, monocitos y linfocitos, con efecto anti tumoral a través de un doble mecanismo que incluye la inhibición de la angiogénesis, que produce la necrosis hemorrágica del tumor y el incremento de la respuesta inmunitaria anti tumoral, en donde actúa de manera sinérgica con Interferón (INF), También actúa como mediador en el

desarrollo del shock séptico y en la caquexia, estado catabólico asociado a las enfermedades crónicas con pérdida de peso, anorexia y anemia (Filella y Molina, 2002).

Su expresión está regulada en el tejido adiposo y músculo esquelético principalmente en condiciones de obesidad y resistencia a la insulina (Hotamisligil, 2000), se ha propuesto que TNFa puede ser considerado como enlace molecular entre la obesidad y la RI (Hotamisligil, 2000).

## 5. MICRO RNAs

Existen moléculas con funciones biomarcadoras, que pueden modificarse en relación al progreso de una enfermedad (Bager, 2014), actualmente se han descrito como biomarcadores a los microRNAs que han abierto ampliamente la posibilidad de emplearlos como biomarcadores de varios tipos de cáncer y otras enfermedades (Cortez, 2009) dado que son moléculas estables que se encuentran en fluidos protegidas de la degradación por RNAsas (Nguyen et. al., 2013).

Los microRNAs (miRNAs) se constituyen por aproximadamente 22 nucleótidos y favorecen la regulación postranscripcional, el 33% representan biomarcadores biológicos. Los microRNAs son pequeños RNAs intrínsecos que bloquean la traducción o promueven la degradación del mensaje a través del complejo inductor de silenciamiento RISC. (Bartel, 2004).

Cuando se desarrolla una alteración metabólica, se habla de un importante problema de salud pública, las enfermedades metabólicas se caracterizan por una falla en la respuesta efectiva de genes o reguladores de la transcripción ante nutrientes, reconociendo así el papel que juegan los miRNAs en la regulación post transcripcional de la expresión génica y su participación en múltiples procesos biológicos en los que se incluye la regulación metabólica (Price y Chen, 2014).

Los miRNAs juegan un papel importante en la capacidad del hígado para regular tanto la homeostasis de la glucosa como la de lípidos (Price y Chen, 2014). Existen también miRNAs que regulan la función pancreática provocando cambios en la función hepática debido a las alteraciones en los niveles de insulina y glucagón, además se ha demostrado que la sensibilidad a la insulina en un número de tejidos incluyendo al hígado, es modulada por miRNAs (Rottiers et. al., 2011). Se ha demostrado en los últimos años que los miRNAs pueden afectar el metabolismo del colesterol porque regulan proteínas implicadas en la síntesis, absorción y transporte del mismo en el hígado (Price y Chen, 2014) entre los miRNAs implicados en la regulación de lípidos, miRNA 122 es el más estudiado en hígado y constituye el 75% del contenido total de los miRNAs hepáticos, y es crucial para una amplia gama de funciones hepáticas (Chang et.al., 2004) . Existen miRNAs que regulan la diferenciación y función de tejido adiposo blanco, entre ellos se encuentran: miRNA 21, 26b, 30, 103, 143, 146b, 181, 204/211, 210, 375, 637 y se ha determinado que promueven la adipogénesis, importante proceso de equilibrio metabólico. Además de regular la adipogénesis, los niveles de colesterol y la sensibilización de la insulina,

los miRNAs son importantes reguladores de la función de los adipocitos incluyendo a factores circulantes como ácidos grasos libres, adipocinas (leptina y resistina) y citocinas (TNF e IL-6) (Zhu et. al., 2013). En general los miRNAs han demostrado desempeñar un papel crítico en la regulación de la diferenciación y función tanto de tejido adiposo blanco como marrón y así proporcionar terapias prometedoras para la obesidad y síndrome metabólico (Price y Chen, 2014). Un número de miRNAs circulantes se han identificado que se encuentran mal regulados durante la obesidad y enfermedades metabólicas, entre ellos miRNA 15, 21, 29, 34<sup>a</sup>, 122, 126, 146, 150, 155, 221 y 222 (Price y Chen, 2014). Se han propuesto 6 importantes miRNAs que participan en la progresión de 9 o más enfermedades no neoplásicas y que están relacionadas con la inflamación que las desencadena, considerándolos biomarcadores para enfermedades cardiovasculares y desórdenes neurodegenerativos miRNA 16, 223, 146a, 155, 21 y 126

## 6. SUEÑO Y HORMONAS

La relación entre la leptina y el sueño es aparentemente bidireccional, la administración sistemática de leptina aumenta SOL y disminuye MOR (Sinton et. al., 1999). Se ha propuesto también que existe una relación en la liberación de leptina durante el sueño, ya que los niveles son más elevados en la noche que en el estado de vigilia (Simon et. al., 1998), se cree que el sueño por sí mismo puede afectar la regulación de la leptina pues se ha observado que la elevación en el sueño persiste en sujetos con nutrición enteral continua a pesar de que la hora de sueño se consolide durante el día (Spiegel et. al., 2004).

Se sabe que la restricción de sueño puede cambiar la capacidad de la leptina para responder al equilibrio energético del cuerpo y producir la señal de saciedad cuando las necesidades de energía han sido adecuadamente satisfechas (Spiegel y Tasali, 2004).

El impacto de la duración de sueño en los niveles de leptina pueden involucrar varios mecanismos. Teniendo en cuenta que la liberación de leptina es inhibida por el sistema nervioso simpático (SNS) (Rayner y Trayhurn, 2001), otra posibilidad es que los resultados de la PS disminuyan la leptina por un incremento en la actividad simpática (Spiegel y Tasali, 2004).

Se ha sugerido que la reducción de los niveles de leptina después de la PS puede ser una adaptación a una mayor demanda de energía debido a un incremento en el tiempo de vigilia (Spiegel et. al., 2004).

Existe evidencia de que la leptina no sea la única hormona que puede alterar el sueño, la grelina también es un factor promotor del sueño (Schussler et. al., 2006) pues induce SOL e induce la secreción nocturna de la hormona de crecimiento (Weikel et. al., 2003). Los niveles de grelina durante el sueño se incrementan y disminuyen por la mañana unas horas antes del desayuno, causa extrañeza que una hormona que estimula el apetito se incremente en la noche, lo que sugiere que juega otras funciones endócrinas muy importantes y no del todo esclarecidas (Weikel et. al., 2003).

Al igual que en el caso de la leptina, el sueño parece influir en el patrón de secreción de la grelina, ya que el aumento en los niveles de grelina responde a la PS en humanos (Spiegel y Tasali, 2004), se sugiere que el incremento en los niveles de grelina por PS puede ser respuesta a la necesidad de energía (alimento) como resultado al tiempo de vigilia. La PS no solo parece aumentar el apetito sino la preferencia por alimentos que contienen mayor índice calórico (energía) (Taheri et. al., 2004), relacionado se ha observado una preferencia por el consumo de comida rápida en las horas de trabajo nocturnas, lo que incrementa el riesgo a padecer obesidad (Ha y Park, 2005).

Con el paso de los años y a partir de la relación del sueño y las hormonas relacionadas con la ingesta de alimentos, se ha estudiado más a la leptina en relación al sueño que a la grelina, principalmente por la función que desempeña y su participación directa con algunas patologías metabólicas, sin embargo se ha visto que cuando hay PS, se inhiben los niveles de grelina total en el inicio de la noche y

se incrementa su concentración en la segunda parte de la noche (Benedict et. al., 2011).

La grelina puede ser acilada por la enzima gelina – O – acil transferasa (GOAT) y dicho efecto es importante para la respuesta orexigénica (Van der Lely, 2009), un estudio reportó que la elevación de la grelina en la noche se relaciona al reflejo del rebote de sueño, se señala también que existe una relación entre la grelina acilada y la grelina total que es menor durante la noche, lo que sugiere que la actividad de GOAT se disminuye durante las horas de sueño con la consecuente disminución de actividad orexigénica (Spiegel et. al., 2011). Esta idea estaría apoyando el efecto inhibitorio del sueño mediado por la grelina.

Como se ha descrito anteriormente existen algunos receptores que participan en la regulación de vías metabólicas esenciales como son los PPAR's, se ha observado que tienen un efecto sobre el reloj circadiano, independiente al SNC y que estos receptores pueden ser un potente blanco terapéutico con la finalidad de tratar trastornos circadianos o el ritmo del sueño. (Hideroni et. al, 2007).

Se ha reportado también que PPAR $\alpha$  es una molécula clave para la regulación circadiana del metabolismo de los lípidos (Oishi et. al., 2005).

No existe evidencia alguna que muestre los efectos de la PSMOR en estos receptores, de ahí su importancia para el entendimiento de las alteraciones metabólicas derivadas de los diferentes periodos de PSMOR

## 7. SUEÑO Y ALTERACIONES METABÓLICAS

Hasta ahora los factores adquiridos más comunes y reconocidos que contribuyen al desarrollo de la DM2 y la obesidad tienen que ver con la falta de actividad física y la elevada ingesta de alimentos ricos en carbohidratos y lípidos. Sin embargo, cada vez hay más evidencia de que el estilo de vida moderno: la privación y el acortamiento de las horas de sueño, también están contribuyendo al aumento en la incidencia de estas enfermedades (Knutsson et. al., 2008; Barone y Menna-Barreto, 2011). En la actualidad, hay un limitado reconocimiento público sobre la importancia del dormir en relación a la salud y en particular sobre la DM2 y el síndrome metabólico. A pesar que en la literatura existen estudios que consideran a la PS como un factor de riesgo para la aparición, desarrollo o agravamiento de la DM2 (Larcher et. al., 2015), falta mucho trabajar en la parte de prevención.

La relación entre e la alimentación y el sueño presenta evidencias que se han acumulado en los últimos años (Morselli et. al., 2012), los mecanismos implicados en los hábitos de alimentación no están bien esclarecidos, pero se sabe que las alteraciones de sueño-vigilia afectan a los relojes circadianos intracelulares en donde mecanismos moleculares permiten que la célula, tejido u organismo anticipe variaciones diurnas del medio ambiente incluyendo los niveles de nutrientes circulantes como glucosa, ácidos grasos, triglicéridos y las hormonas (Morselli et. al., 2012).

Las alteraciones del sueño pueden inducir cambios nutricionales que potencialicen la perturbación metabólica (Bray et. al., 2007), influyendo sobre el apetito y saciedad y por consecuencia en la ingesta de alimento (Spiegel et. al., 2004).

Entre las particularidades que se conocen, el sueño podría tener un efecto importante sobre el peso corporal, debido a sus funciones reguladoras sobre el apetito y la función endocrina (Born et al, 1997; Rechtschaffen and Bergamm, 2002; Bodosi et al, 2004; Everson and Crowley, 2004; Koban and Swinson, 2005; Li et al, 2010)

Con las observaciones epidemiológicas y las evidencias obtenidas al paso de los años se llegó a entender que la falta de sueño y las alteraciones metabólicas como la obesidad van íntimamente relacionadas. En nuestro país que recientemente fue reconocido como el país con mayor índice de población obesa tanto infantil como adulta, se necesitan de programas de divulgación para la sociedad a manera de prevenir las numerosas complicaciones secundarias derivadas de la obesidad, en particular el síndrome metabólico que incluye la RI, hiperglucemia, dislipidemia, hipertensión, inflamación y trastornos de coagulación (Aaron, 2008).

Se ha observado que existe asociación entre dormir poco y el incremento del índice de masa corporal (IMC) y es particularmente más fuerte y consistente en niños (Knutsson et. al., 2008, Marshall et. al., 2008; Patel y Hu, 2008). De manera general, el impacto de la relación de sueño y el riesgo de obesidad es más claro en la población pediátrica, probablemente por mecanismos fisiológicos y de comportamiento asociadas a edades más tempranas, una explicación a ello es que

probablemente el peso corporal no se gana linealmente en periodos cortos de sueño (Magee et. al., 2012). Hay autores que sostienen que existe una relación bidireccional entre el sueño corto y la obesidad, es decir que no solo el poco sueño predice el aumento de peso corporal (Hasler et. al., 2004), sino que la obesidad también es agente causal de una baja cantidad de sueño (Vgontzas Y Bixler, 2008), lo que sugiere un círculo vicioso donde dormir poco predice ganancia de peso corporal y la excedente adiposidad induce alteraciones del sueño (Morselli et. al., 2012).

Se ha reportado que una noche de 4 h en cama en comparación a una de 8h incrementa 22% el consumo de calorías al siguiente día en hombres jóvenes sanos (Brondel et. al., 2010), y que mujeres jóvenes expuestas a una dieta a libre demanda con PS de 5.5 h noche por 4 días en comparación a 2 noches de 9 h, aumenta 20% el consumo de alimento durante la restricción de sueño (Bosy- Westphal et. al., 2008).

En otro experimento, jóvenes de peso normal de ambos sexos, incrementaron la ingesta de calorías en un 14% especialmente de alimentos ricos en carbohidratos luego de estar con restricción de sueño de 4 noches de 4.5h cama en comparación a un grupo de 4 noches de 8.5 h cama (Tasali et. al., 2009).

## 8. INFLAMACIÓN Y CITOCINAS

Posteriormente, al observar el daño metabólico y su relación con los tejidos energéticamente activos, se consideró que el tejido adiposo no solo es un órgano de almacenamiento de energía sino que participa de manera fundamental en funciones fisiológicas como la inmunidad e inflamación (Fantuzzi et. al., 2005). El tejido adiposo tiene funciones como órgano endócrino y secreta numerosos péptidos y proteínas bioactivas llamadas adipocinas, que incluyen leptina, adiponectina, resistina, así como citocinas: TNF, IL-6 (Ronti et. al., 2006). Se ha demostrado que las adipocinas como el TNF, IL-6 y la proteína C reactiva (PC- R) se encuentran presentes en mayor concentración en individuos con RI y obesidad y que son biomarcadores que predicen el desarrollo de DM2 (Ronti et. al., 2006).

Ya mucho se ha descrito que la liberación de adipocinas ya sea por adipocitos o por macrófagos infiltrados del tejido adiposo conducen a una enfermedad crónica de estado sub inflamatorio que podría desempeñar un papel central en el desarrollo de trastornos del metabolismo de la glucosa (Ronti et. al., 2006).

Se sugiere que es suficiente una sola noche de PS para provocar una respuesta de estrés que incluye la estimulación de las citocinas pro inflamatorias en sujetos jóvenes sanos (Boesen y Pollock, 2007), debido a que la IL-6 es producida por muchos tipos de células periféricas incluidas las células endoteliales, los factores de la activación de las células como vasoconstricción y tensión arterial son importantes determinantes de la respuesta por la PS (Boesen y Pollock, 2007).

La leptina actualmente también ha sido considerada como una citocina y entre sus múltiples funciones se sugiere una acción periférica con la insulina, en la movilización de los combustibles y mecanismos de almacenamiento de energía inhibitorias, la insulina incrementa la producción de leptina (Ahima et. al., 2000). Aunque el papel central de la leptina es sobre la ingesta de alimento y gasto energético y su control en el SNC, en la obesidad existe una relación significativa entre leptinemia y estado subinflamatorio crónico (Padilha et. al., 2011).

La leptina induce el incremento de las concentraciones de TNF y activar su producción en los macrófagos (Lashan, 2006). La adiponectina – Producida predominantemente por el adipocito puede reducir la respuesta inflamatoria inducida por TNF, en estudios in vivo la actividad de los macrófagos y la producción de TNF disminuyen después del tratamiento con adiponectina (Trujillo y Scherer, 2005).

## 9. RELACIÓN INFLAMACIÓN – METABOLISMO

La DM2 y las enfermedades cardiovasculares representan un desafío muy grande para la comprensión de como los sistemas metabólicos e inflamatorios interactúan (Hotamisligil, 2010), se conoce que los mediadores inflamatorios al verse alterados favorecen al desarrollo de la RI y que están estrechamente acoplados a sistemas homeostáticos (Hotamisligil, 2006; Mullington et. al., 2010). Siempre se ha establecido que procesos inflamatorios se activan en obesidad y DM2 (Paniagua, 2016).

En las alteraciones metabólicas existe una importante implicación del tejido adiposo, que además de participar en la homeostasis de la glucosa y el metabolismo de los lípidos, también influye en procesos inflamatorios y anti inflamatorios (Calvani et. al., 2016)

El tejido adiposo tiene la capacidad de secretar citocinas tanto pro inflamatorias como anti inflamatorias (TNF, IL-1, IL-6, adiponectina, resistina y leptina) (González, 2002), siendo que IL-6, adiponectina y resistina se relacionan con la generación de resistencia a la insulina, así como a complicaciones de tipo macrovasculares y microvasculares que se presentan en los pacientes con obesidad y/o DM2 (Hotamisligil et. al., 1993; Galic et. al., 2010).

Es un enigma aún para la ciencia poder describir una función puntual del sueño, pues cada vez existe más evidencia de que el SNC y el sistema inmune mantienen una comunicación bidireccional, si el sueño se altera hay una interrupción en la respuesta contra los patógenos en un estado de infección, así mismo como la respuesta inmune puede inducir alteraciones en el sueño. (Gómez- González et. al., 2012).

## 9.1 Inflamación metabolismo y microRNA´s

Algunos de los procesos biológicos regulados por miRNAs, incluyen la diferenciación celular, la proliferación, la apoptosis y el control del ciclo celular (Esteller, 2011). Se sabe que los miRNAs están involucrados en el desarrollo de células inmunes y el control de sus funciones (Neilson et. al., 2007), al no regular solamente el desarrollo de las células de la inmunidad innata o adaptativa sino que también el delicado equilibrio de su respuesta (Lindsay, 2008), por ejemplo, la expresión de miR-155 se incrementa por moléculas pro inflamatorias como TNF e IL-1 $\beta$  (Li et. al., 2010) como el caso de miR-146 que restringe la vía del factor nuclear Kappa B (NF-KB) y es sobre regulado por citocinas pro inflamatorias (Niimoto et. al., 2010).

Para el caso de la DM1, existen pocos estudios que relacionen a los miRNAs y la patogénesis pero se cree que los miRNA´s pueden influir en la causa de citotoxicidad, que es alcanzada cuando IL-1 $\beta$  y TNF inducen la expresión de miR-21 y mir146a en los islotes pancreáticos provocando una falla en las células  $\beta$  por el incremento en la concentración de citocinas pro inflamatorias. (Mi, 2010)

## 9.2 Alteraciones inflamatorias por falta de sueño

Como tal, la falta de sueño tiene un sinnúmero de efectos fisiológicos desfavorables y uno de ellos es alterar la respuesta inmune (Irwin et. al., 1996) a partir del incremento considerable de los niveles circulantes de marcadores inflamatorios como IL-6, TNF y Proteína C reactiva (Shearer et. al., 2001; Meier-Ewert et. al., 2004). Muchas de estas moléculas participan de manera directa en la regulación de los estados del sueño, se ha observado que la PS produce una excesiva secreción diurna de IL-6 (Vgontzas et. al., 1999). Citocinas pro inflamatorias como IL-1 y TNF incrementan el sueño de ondas lentas (SOL) (Kapás et. al., 1992; Opp et. al., 1991), mientras que IL-10 lo inhibe en animales (Opp y Smith, 1995).

Las concentraciones circulantes de IL-6 varían a lo largo de las etapas de sueño presentando una mayor concentración en SOL 1 y 2 así como en sueño de movimientos oculares rápidos MOR (Irwin, 2002). La mayor concentración de IL-6 se relaciona con el aumento de SOL y disminución de MOR que son característicos de las infecciones agudas no neurotrópicas ya sea de origen viral, bacteriano, fúngico o parasitario (Toth, 1999; Madje, 2005) el grado en el que se alteran los estados de sueño dependen de la severidad de la infección (Madje, 2005).

En relación a la duración del sueño se han identificado marcadores inflamatorios que se modifican de manera directa con la calidad del sueño, tales moléculas incluyen a TNF, IL-6, IL-17, proteína C reactiva, moléculas de coagulación, moléculas de adhesión celular y visfatina (Grandner et. al., 2013).

Pero la regulación del sueño por parte de las citocinas no es la única actividad fisiológica en la que se ha observado que participan. Las citocinas también son moléculas que favorecen a la regulación de otras funciones del organismo, un ejemplo de ello es la IL-6, que estimula el metabolismo intermediario, regula el metabolismo de lípidos y favorece a la función endotelial (Akira et. al., 1993; Keller et. al., 2011).

## 10. ANTECEDENTES

El acortamiento del sueño se ha relacionado con enormes costos sociales, y económicos debido a la disminución del rendimiento cognoscitivo al aumentar la propensión al sueño y la inestabilidad para cumplir con las funciones neuroconductuales de la vigilia (Vázquez et. al., 2012). Dormir pocas horas representa un desgaste fisiológico muy grave, se ha observado en roedores que 3 semanas de PTS produce un importante deterioro físico: ulceraciones en la piel, patas y cola, incremento en la ingesta de alimento asociados con una excesiva pérdida de peso corporal que finalmente ocasionan la muerte (Hicks et.al., 1979; Everson y Crowley, 2004).

Todo ello acompañado de una severa afectación de los procesos cognitivos (Vázquez et. al., 2012) y conductuales (agresividad e incremento en la actividad sexual) (Hicks et.al., 1979). Las alteraciones provocadas por el tiempo de sueño influyen en aspectos asociados a la nutrición y equilibrio metabólico del cuerpo (Holmback et. al., 2002; Kripke D, 2002; Taheri et. al., 2004), control de la ingesta de alimento (Knutsson, 1989; Scheen et. al., 1999), niveles de glucosa (Spiegel, 2008; Van Cauter et. al., 1991) y niveles de colesterol y triglicéridos (Knutsson, 1989; Ghiasvand et.al., 2006). En animales sometidos a PSMOR superiores a los 4 días por el método modificado de plataformas múltiples se observa hiperfagia acompañada de la pérdida del peso corporal, desbalance en las concentraciones de lípidos e hipoglucemia. Acompañando a dichas alteraciones se ha observado en humanos sanos que alimentados en condiciones normales, el perfil de secreción de

leptina a lo largo de 24 h muestra niveles crecientes en el día y culminan con un pico máximo nocturno (Gómez – Abellán et. al., 2012).

Muchos estudios refieren el impacto de la PS sobre la leptina y la grelina y se reporta que los niveles de leptina disminuyen después de la pérdida de sueño (Guilleminaut, 2003; Spiegel y Tasali, 2004). Spiegel y Cols reportaron la evaluación de un perfil diurno de leptina y grelina en jóvenes de sexo masculino con peso corporal normal después de haber pasado una PS que consistió en 2 noches de sueño de 4 h cada una, comparado a un grupo bajo las mismas medidas de inclusión que durmieron 2 noches continuas 10 horas por noche, observando que la leptina se redujo en un 18% y la grelina incrementó en un 28% (Spiegel y Tasali, 2004).

De la misma manera, se ha observado que las concentraciones de leptina disminuyen, mientras que las de grelina se incrementa por efecto de la PSMOR en roedores. Bodosi en 2004 describe la relación sueño – alimentación, identificado que la reducción de tiempo de sueño se asocia con dos comportamientos endócrinos y paralelos que alteran la ingesta de alimentos: 1. Reducción de los niveles de leptina (TaHERi et. al., 2004; Mullington et. al., 2003; Spiegel y Tasali, 2004) y 2. Incremento en los niveles de grelina (TaHERi et. al., 2004; Spiegel y Tasali, 2004; Bodosi et. al., 2004).

Muchas citocinas participan de manera directa en la regulación de los estados del sueño, se ha observado que la PS produce una excesiva secreción diurna de IL-6 (Vgontzas et. al., 1999). Y que citocinas pro inflamatorias como IL-1 y TNF incrementan el sueño de ondas lentas (SOL) (Kapas, 1992; Opp et. al., 1991),

mientras que IL-10 lo inhibe en animales (Opp y Smith, 1995). La concentraciones circulantes de IL-6 varían a lo largo de las etapas de sueño presentando una mayor concentración en SOL 1 y 2 así como en SMOR (Irwin, 2002) . Un estudio en humanos en el que se hace una imitación de una semana laboral: 5 días de 6 horas de sueño y el fin de semana de 10 horas de sueño a modo de recuperación, se observó que existen alteraciones en los marcadores inflamatorios principalmente después del periodo de recuperación, por lo que se sugiere que dos noches de sueño prolongado después de una semana de trabajo no permiten por completo el rendimiento óptimo para una nueva jornada laboral y se requiere para ello más de 2 días de sueño de recuperación (Slobodanka, 2013).

Al igual que las citocinas, existen moléculas que pueden verse alterados por la falta de un balance energético y por una respuesta inflamatoria, ambos sucesos como posible consecuencia a la PS, estos son los miRNAs, que se relacionaron con el sueño por primera vez en el año 2007, en donde se describe cómo la pérdida de sueño se asocia con cambios en la expresión de algunos miRNAs en diferentes regiones del cerebro: el hipocampo, la corteza prefrontal, la corteza somatosensorial y el hipotálamo (Davis et. al., 2007). Trabajos más recientes han demostrado que algunos niveles plasmáticos de miRNAs se alteran como parte de la fisiopatología de la hipersomnia central (Holm et. al., 2014); Sin embargo, aunque se ha sugerido que la pérdida de sueño puede inducir cambios en las concentraciones de miRNAs (Davis et. al., 2011; Matos et. al., 2014; Davis et. al.de, 2012) se desconoce su participación. Hasta ahora no se conocen estudios que evalúen la participación de

los miRNA's como reguladores de la respuesta inflamatoria derivada de diferentes períodos de PSMOR y su recuperación.

El incremento en el gasto energético es un elemento central en el denominado síndrome de la PS y en ratas se correlaciona negativamente con la tasa de supervivencia, desgraciadamente los mecanismos relacionados con el fenómeno no han quedado esclarecidos del todo, por lo que consideramos necesario realizar evaluaciones que sustenten esta idea, así como observar el efecto dependiendo del tiempo de exposición a la PSMOR.

No existen antecedentes en donde se relacionen a las moléculas que participan en la regulación del balance energético como son Glu4, FATP, ACSL1 y PPARγ con la privación de sueño y su recuperación, sin embargo algunas citocinas han sido propuestas como mediadores de la somnolencia patológica o somnolencia experimental inducida en humanos , esto con asociación a un perfil metabólico desfavorable , mayor riesgo de eventos cardiovasculares y una disminución progresiva de la longevidad (Ridker et. al., 2000).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, y empleando el modelo de PSMOR por el método modificado de plataformas múltiples (Suchecki y Tufik, 2000), a diferentes períodos de PSMOR y su recuperación, se pretende evaluar si la PSMOR puede generar alteraciones en la concentración y expresión de moléculas que participan en la regulación tanto del metabolismo energético como de la respuesta inflamatoria y

si la respuesta es dependiente al tiempo de PSMOR y si es suficiente un periodo extendido de recuperación para reestablecer las alteraciones ocasionadas por la PSMOR.

#### 11. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La PSMOR, puede alterar la expresión de moléculas que participan en la regulación del metabolismo y de marcadores inflamatorios en relación al tiempo de exposición a la PSMOR?

#### 12. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de varios periodos de PSMOR y su recuperación, sobre la expresión y concentración de moléculas que participan en la regulación de la respuesta metabólica e inflamatoria en ratas macho Wistar.

#### 13. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el efecto de diferentes periodos de PSMOR y del periodo de recuperación, sobre el consumo de alimento en ratas.
- Determinar la concentración de adiponectina en suero a diferentes periodos de PSMOR y recuperación.

- Evaluar el efecto de diferentes periodos de PSMOR y del periodo de recuperación, sobre la expresión de genes reguladores del metabolismo (PPAR $\gamma$ , GLUT4, FAPT y ACSL1) en tejido adiposo de rata.
- Determinar el efecto de diferentes periodos de PSMOR y del periodo de recuperación, sobre la concentración y expresión de adipocinas (adiponectina, TNF e IL-6) en tejido adiposo de ratas.
- Determinar el efecto de diferentes periodos de PSMOR y del periodo de recuperación, sobre la expresión de miRNAs en suero de ratas.

#### 14. HIPÓTESIS

La PSMOR inducirá alteraciones en las concentraciones y niveles de expresión de RNAm en algunas moléculas que participan en la regulación del metabolismo energético, hormonas y moléculas que participan tanto en el proceso inflamatorio como metabólico, dichas alteraciones dependerán del tiempo de exposición a la PSMOR.

## 15. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizaron ratas macho Wistar de aproximadamente 3 meses de edad criadas en el bioterio de la UAM-Iztapalapa bajo las condiciones establecidas por la norma oficial mexicana (NOM-062-ZOO-1999, revisada en el 2001). Los animales fueron asignados a los siguientes grupos experimentales: 1 día de PSMOR (1PSMOR), 4 días de PSMOR (4PSMOR), 8 días de PSMOR (8PSMOR) y un grupo con 20 días recuperación después de haber sido sometido a 8PSMOR (Rec). Cada evaluación se realizó con una n=5. El grupo control se mantuvo en la misma caja de PSMOR pero en lugar de colocar agua, se colocó aserrín a la misma altura. Los animales se mantuvieron en un ciclo de luz-oscuridad (9am-9pm).

### 15.1 Método de PSMOR

Para la privación de sueño se utilizó el modelo modificado de plataformas múltiples (Suchecky y Tufik, 2000), en este método los roedores son introducidos en una caja de acrílico (120 x45 x 45) en cuya base se encuentran distribuidas 14 plataformas de 6cm de diámetro y 3cm de altura, con 10 cm de distancia de una plataforma a otra, en el tanque colocando aproximadamente 1cm de altura de agua de la base a la plataforma (Suchecky y Tufik, 2000). El fundamento del método se basa en la pérdida del tono muscular en los roedores, característico del estado de SMOR, una vez que se entra al sueño MOR los animales caen al agua ocasionando una pérdida abrupta del ciclo de sueño.

## 15.2 Consumo de alimento

El consumo de alimento se obtuvo revisando diariamente el peso del alimento entre las 9:00 y las 10:00 hrs y se determinó calculando la diferencia entre los pesos iniciales del alimento con los pesos finales, una verificación visual indicó que existió poco derramamiento de alimento en el agua.

## 15.3 Cuantificación de los niveles séricos de adiponectina e interleucinas

Para la evaluación de las concentraciones de citocinas se utilizó suero obtenido por la técnica de decapitación siempre cuidando la hora de eutanasia (9:00am), una vez obtenido el suero en tubos vacutainer con gel de separación, las muestras fueron alicuotadas y conservadas a una temperatura de  $-70^{\circ}$  hasta su utilización (aproximadamente 3 meses), las determinaciones se realizaron por el método de ELISA como se describe por Pierce para IL-6 (Thermo Fisher Scientific Rockford, IL, EE.UU), Fisher para IL-1 $\beta$  y TNF (Thermo Fisher Scientific Rockford, IL, EE.UU) y por R&D Systems para adiponectina (R&D, Minneapolis, MN, EE.UU.).

## 15.4 Cuantificación de los niveles séricos de corticosterona

Para la evaluación de las concentraciones en suero de corticosterona se realizó la técnica de ELISA basado a las indicaciones del proveedor utilizando un Kit de ensayo (Alpco Immunoassays, EE.UU.)

## 15.5 Extracción de RNA y RT-PCR en tiempo real

Para evaluar el índice de expresión del RNA mensajero en tejido adiposo de PPAR $\gamma$ , FATP, Adiponectina, Resistina, GLUT4, IL-6 y TNF se obtuvo tejido adiposo visceral que se almacenó a -70°C en RNAlater (QIAGEN Science, Germantown, MD, EE.UU.). Se obtuvo también el lóbulo frontal del hígado para evaluar PPAR $\gamma$  y ACSL1. Se pesaron 100mg del tejido adiposo Y 30mg de hígado, ambos se homogenizaron con 1ml del reactivo de lisis QIAzol, para comprobar la integridad del RNA se realizó un gel de agarosa al 1% con bromuro de etidio (Bio-Rad Laboratories, Valencia, C.A., EE.UU.)

Dos microgramos de RNA total se transcribieron usando el sistema de transcripción inversa ImProm II (Promega, Madison, WI, EE.UU.), la reacción de 20ul se incubó en un termociclador (Applied Biosystems GeneAmp PCR System 2700HT, Foster City, E.E.U.U) con el programa de ciclos: incubación de 5min a 25°C, extensión de 55 min a 42°C, la enzima es inactivada a 70°C por 15min, las muestras se enfriaron a 4°C por 5min, el cDNA obtenido se amplificó con SYBER Green Master Mix (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Alemania) y las reacciones se evaluaron en un sistema de tiempo real LightCycler 2.0 (Roche Molecular Biochemicals), con 0.5mM de primer para cada citocina (Tabla I, II y III), las reacciones finales fueron de 5 $\mu$ l de cDNA con 0.5ul de primer, 0.8 $\mu$ l de CIMg, 2.0 $\mu$ l de master mix y 1.2 $\mu$ l de agua, las condiciones para la PCR en tiempo real fueron: pre incubación de la enzima: 10min a 95°C, 40 ciclos con desnaturalización a 95°C por 10 segundos, temperatura de alineamiento 61°C por 7 seg, amplificación a 72°C por 10 seg.

La pureza de los productos se corroboró con una electroforesis en gel de agarosa al 2%. Las concentraciones de mRNA de las citocinas se normalizaron con las concentraciones del mRNA de  $\beta$ -actina, los valores  $\Delta$ Ct se calcularon con Ct de problema – Ct de referencia donde  $\beta$ -actina se tomó como gen de referencia, los cambios relativos en la expresión de un gen en específico ( $\Delta\Delta$ Ct) se calcularon con el  $\Delta$ Ct de la muestra menos el  $\Delta$ Ct de la referencia y se representa como  $2^{-\Delta\Delta$ Ct (Dehoux et. al., 2003).

**Tabla I.** Secuencia de oligonucleótidos para la cuantificación de la expresión del RNAm de genes de adipocitocinas.

Gene	Secuencia (F-sentido/R-antisentido)	Gene Bank Access	Tamaño del producto
Adiponectina	F5'-AATCCTGCCCAGTCATGAAG-3' R5'-TCTCCAGGAGTGCCATCTCT3'	NM_144744.3	159pb
Resistina	F5'-CTACTGCCAGCTGCAATGAA-3' R5'-AGGGCAAGCTCAGTTCTCAA-3'	NM_144741.1	249pb

**Tabla II.** Secuencia de oligonucleótidos para la cuantificación de la expresión del RNAm de genes que participan en la regulación del metabolismo energético.

Gene	Secuencia (F-sentido/R-antisentido)	Gene Bank Access	Tamaño del producto
GLUT 4	F5'-GCTTCTGTTGCCCTTCTGTC-3' R5'-TGGACGCTCTCTTTCCAAC-3'	NM_012751.1	166pb
FATP	F5'-CCTCACATCACAGCAGGAGA-3' R5'-GCTCTGTCCACACCCTTCAT-3'	NM_053580.2	238pb
ACSL 1	F5'-AACGATGTACGATGGCTTCC-3' R5'-GGTCACCCACTCAGGTCTGT-3'	NM_012820.1	217pb
PPAR $\gamma$	F5'-CCCTGGCAAAGCATTGTAT-3' R5'-ACTGGCACCCCTTGAAAATG-3'	NM_013124.3	222pb

**Tabla III.** Secuencia de oligonucleótidos para la cuantificación de la expresión del RNAm de genes de citocinas.

Gene	Secuencia (F-sentido/R-antisentido)	Gene Bank Access	Tamaño del producto
IL-6	F5'-CCCTTCAGGAACAGCTATGAA-3' R5'-ACAACATCAGTCCCAAGAAGG-3'	NM_012589.2	74pb
TNF	F5'- CTCCCAGAAAAGCAAGCAAC-3' R5'- CGAGCAGGAATGAGAAGAGG-3'	NM_012675.3	210pb

Como gen de normalización se utilizó la proteína  $\beta$ -actina (F5'-GTGGGTATGGGTCAGAAGGA-3', F5'-AGCGCGTAACCCTCATAGAT-3' gene Bank (NM\_031144.3) y tamaño de producto es de 380pb.

## 15.6 Cuantificación sérica miRNAs

La extracción de RNA se realizó utilizando el kit miRNeasy suero / plasma de (Qiagen). Los RNA se transcribieron de forma inversa utilizando el kit de transcripción inversa TaqMan MicroRNA (Applied Biosystems). La reacción de RT se incubó durante 30 minutos a 16 ° C, 30 minutos a 42 ° C, y 5 minutos a 85 ° C.

Los miRNAs se amplificaron utilizando un kit TaqMan MicroRNA RT (Applied Biosystems), y se detectaron con TaqMan TM microRNA. Se utilizaron cebadores y sondas para HSA / Mus-miR-21, miR-146a, miR-155, miR-223, miR-16 y miR-126 (Applied Biosystems). Las condiciones para los ciclos fueron: desnaturalización inicial a 95 ° C durante 10 min, seguido de 45 ciclos a 95 ° C durante 15 s, 60 ° C durante 40 s, y 72 ° C por 10 s. La PCR se realizó con un sistema LightCycler TM 480 II (Roche Applied Science, Basilea, Suiza) con el kit de sondas Maester LightCycler 480 (Roche Applied Science).

Las concentraciones de miRNA se normalizaron con las concentraciones de miR-39, los valores de Ct se representan como 2-Ct (Dehoux, 2003).

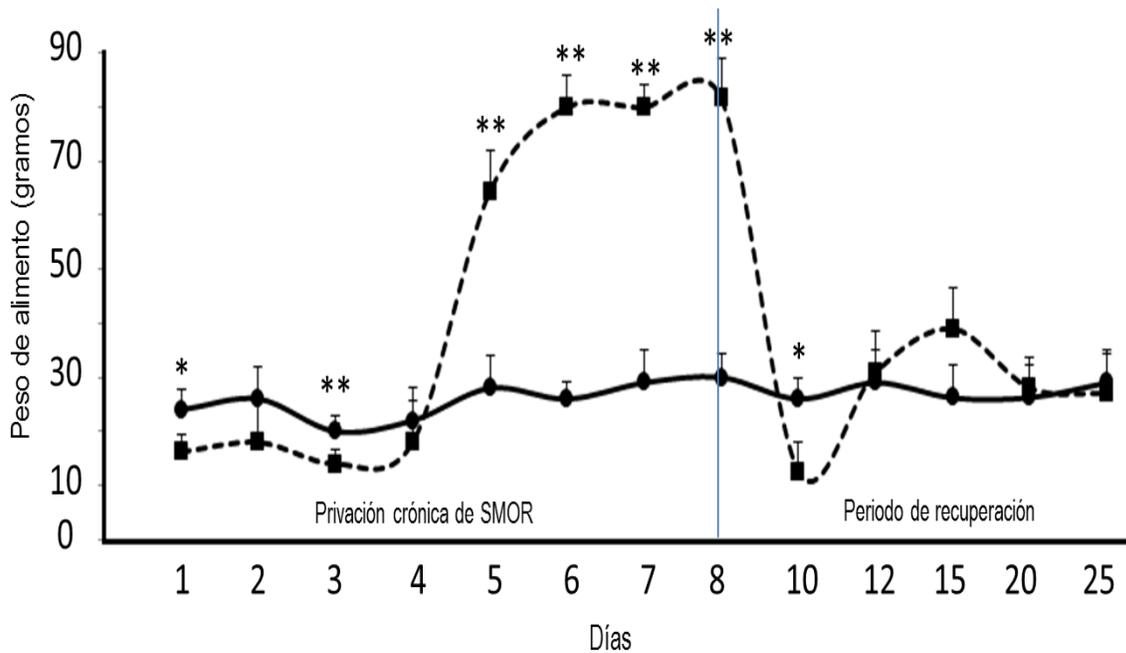
## 15.7 Análisis estadístico

Las concentraciones de citocinas en suero y los niveles de miRNA de suero se analizaron mediante un ANOVA de una vía, seguido de una prueba post hoc de Tukey-Kramer para las muestras que mostraban la normalidad (corticosterona, citoquinas y miR-223, miR-146a, miR-21) y una prueba de Kruskal-Wallis para aquellos que no lo hicieron, con Dunn como el test post hoc (miR-126, miR-155 y miR-126). Para la expresión de RNAm por efecto de PSMOR se analizó mediante una ANOVA seguida de Tukey como prueba post hoc, para estos análisis se utilizó el software GraphPadPrism5, la significancia estadística en relación al grupo control y entre grupos fue establecida con una  $p < 0.05$

## 16. RESULTADOS

### Consumo de alimento

La PSMOR incrementó significativamente el consumo de alimento a los 4PSMOR en relación al grupo control ( $F [4,25]=13.63$   $p<0.01$ ), sin embargo a los 8PSMOR el consumo de alimento disminuye ( $p<0.0001$ ), pasando el periodo de recuperación el consumo de alimento se reestablece hasta alcanzar valores basales de consumo de alimento.



**Figura 1.** Efecto de la PSMOR y recuperación sobre el consumo de alimento, cada punto representa la Media $\pm$ EEM. Se observa un incremento del consumo de alimento a partir del día 4 de PSMOR, Los resultados se analizaron con ANOVA seguida de Tukey, diferencias significativas con respecto al grupo control \*\* $p<0.01$  y \* $p<0.05$

## Hormonas

La leptina, disminuye progresivamente con la PSMOR, después 1PSMOR las concentraciones disminuyen en relación al grupo control ( $F [4,25] = 23.8, p < 0.01$ ), y aún más en el grupo de 8PSMOR ( $p < 0.05$ ), pero pasando el periodo de recuperación los niveles de leptina se reestablecen (Tabla IV). Respecto a las concentraciones de grelina, esta hormona aumenta significativamente en 8PSMOR con relación al grupo control ( $F [4,25] = 15.1, p < 0.05$ ) y después del periodo de recuperación los niveles vuelven a su línea base (Tabla IV).

La Insulina, se observa con niveles bajos en relación al grupo control en los grupos de 1PSMOR y 8PSMOR ( $F [4,25] = 10.9, p < 0.01$ ), sin embargo los niveles se reestablecen posterior al periodo de recuperación (Tabla IV).

En el caso de las concentraciones de Corticosterona, sólo se observa una diferencia significativa en 8PSMOR ( $F [4,25] = 11.04 P < 0.05$ ) (Tabla IV).

**Tabla IV.** Efecto de la privación de sueño MOR sobre las concentraciones séricas de hormonas relacionadas con la regulación de la ingesta de alimento y metabolismo energético.

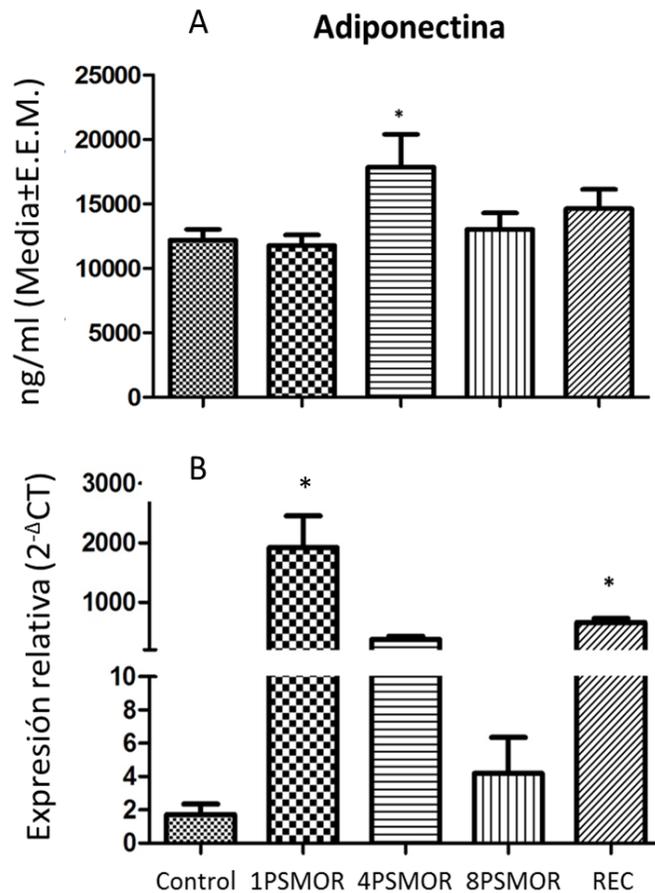
<i>ng/mL</i>	<i>Control</i>	<i>1PSMOR</i>	<i>4PSMOR</i>	<i>8PSMOR</i>	<i>8PSMOR/REC</i>
<i>Leptina</i>	44.115±6.15	<b>25.77±4.46*</b>	<b>9.603±2.4**</b>	<b>2.715±0.78**</b>	37.30±5.48
<i>Grelina</i>	0.176±0.028	0.591±0.085	0.459±0.050	<b>1.474±0.323**</b>	0.563±0.20
<i>Insulina</i>	4.101±1.027	<b>1.138±0.486**</b>	2.14±0.117	<b>0.495±0.02**</b>	3.075±1.15
<i>Corticosterona</i>	0.281±0.024	0.212±0.212	0.747±0.250	<b>2.936±0.411**</b>	0.939±0.120

Los resultados son expresados como Media ±D.E. analizados en NCSS mediante Anova seguida de Tukey \*p<0.05 en relación al grupo control.

## Adiponectina

La concentración de adiponectina en suero se incrementa significativamente solo en el grupo de 4PSMOR ( $F [4,25] = 13.37 P < 0.05$ ) (Fig. 2A).

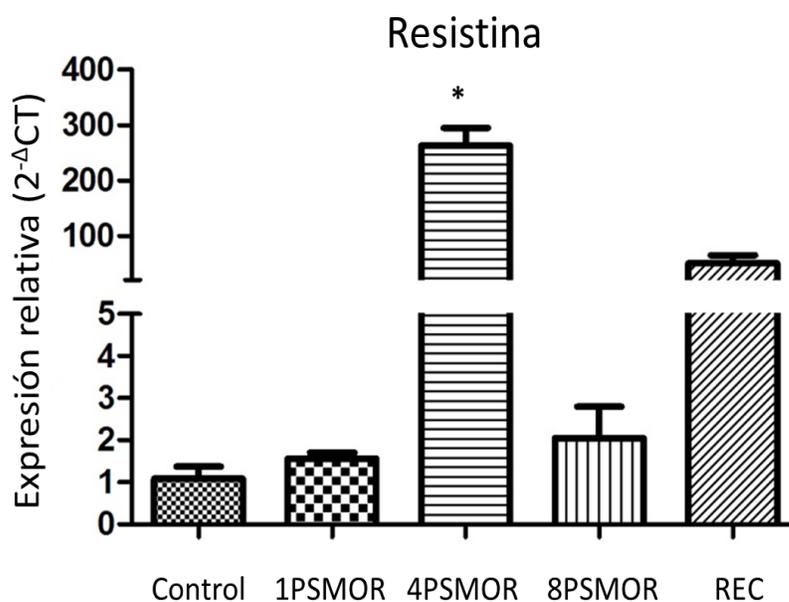
Mientras que la expresión de su RNAm, presenta un incremento en 1PSMOR, por el resto de la PSMOR la expresión no muestra diferencias, pero pasando el periodo de recuperación la expresión del RNAm se incrementa nuevamente, se observa una diferencia significativa en relación al grupo control ( $F [4,25] = 8.11 P < 0.05$ ). (Fig.2B)



**Fig. 2** Efecto de diferentes periodos de PSMOR y su recuperación sobre los niveles circulantes de adiponectina y la expresión relativa de su RNAm. En la concentración de proteína se observa un incremento significativo en 4PSMOR, sin embargo el resto de los periodos así como la recuperación no muestran diferencias en relación al grupo control (Fig.2A), la expresión relativa muestra una sobreexpresión en 1PSMOR pero al extenderse el tiempo de PSMOR la expresión disminuye, sin embargo pasado el tiempo de recuperación nuevamente se incrementa (Fig.2B).

### Resistina

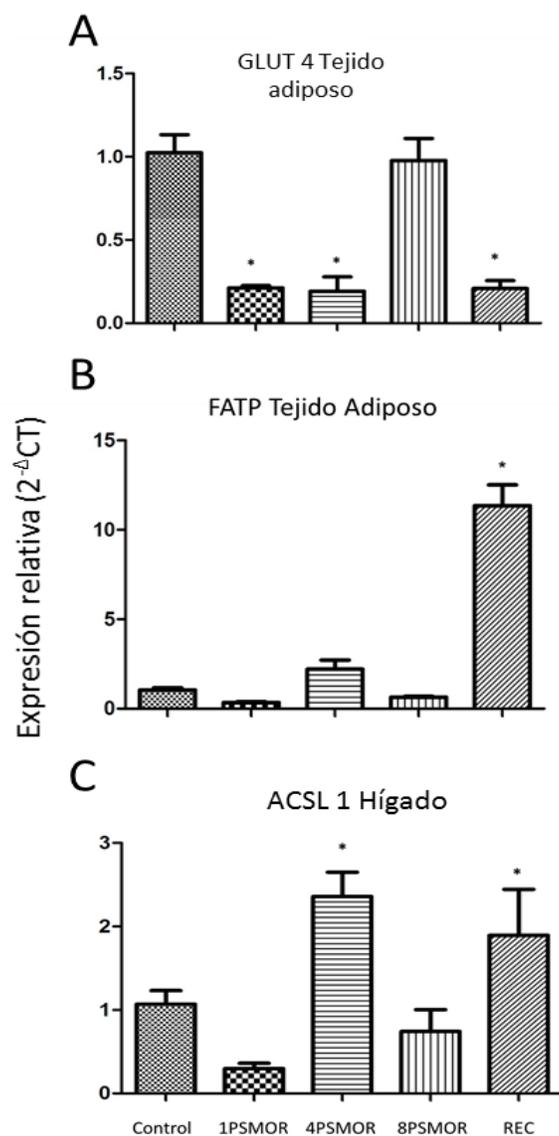
En el caso de la resistina, la expresión de su RNAm se incrementa significativamente solo en 4PSMOR ( $F [4,25] = 48.67$   $P < 0.05$ ), sin efecto en el resto de los tiempos de PSMOR (Fig.3)



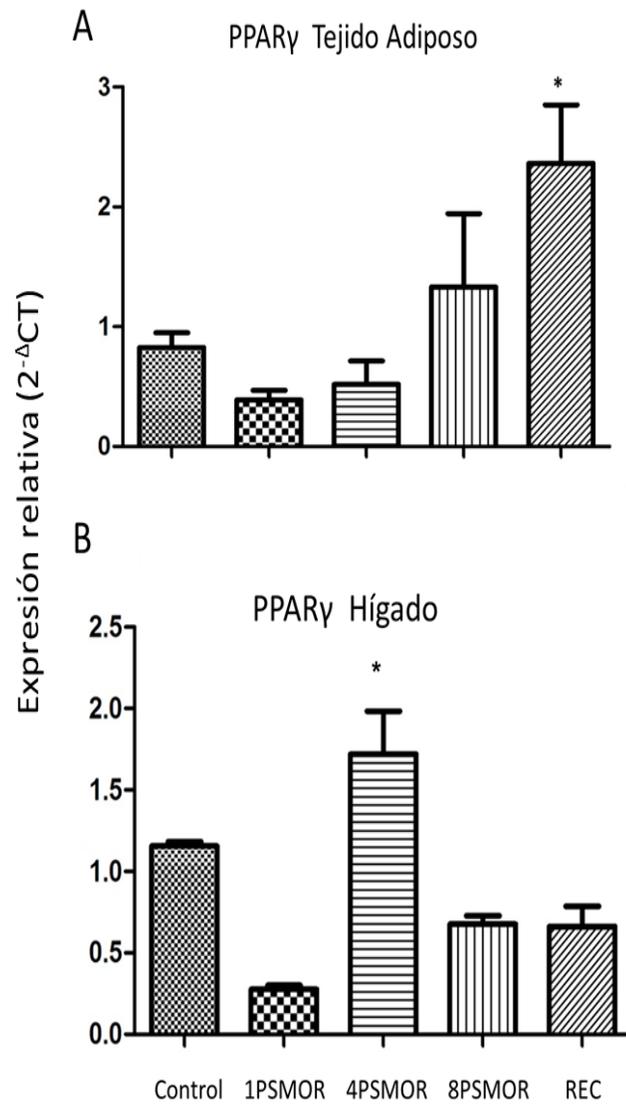
**Fig.3** Expresión relativa de RNAm de Resistina, se observa un incremento en 4PSMOR, sin embargo no existen diferencias significativas pasando el periodo de recuperación. los resultados son expresados como Media  $\pm$  E.E.M.

## Moléculas que participan en la regulación del metabolismo energético

El RNAm de GLUT 4 en tejido adiposo disminuye significativamente en el día 1, 4 de PSMOR y pasando el periodo de recuperación ( $F [4,25] = 22.88 P < 0.05$ ). (Fig.4A). A diferencia de los Glut 4, la FATP sólo se incrementa significativamente pasando el periodo de recuperación ( $F [4,25] = 65.81 P < 0.05$ ). (Fig.4B) Mientras que ASCL1 se incrementa significativamente en el grupo de 4PSMOR y en el periodo de recuperación ( $F [4,25] = 15.86 P < 0.05$ ). (Fig.4C) Por su parte PPAR $\gamma$  en tejido adiposo incrementa significativamente después del periodo de recuperación ( $F [4,25] = 16.35 P < 0.05$ ). (Fig.5) Mientras que en el hígado se incrementa significativamente en 4PSMOR ( $F [4,25] = 10.44 P < 0.05$ ).



**Fig.4** Efecto de la privación de sueño MOR sobre la expresión de Glut 4, FATP y ACSL1. La expresión de Glut 4 disminuye en 1PSMOR, 4PSMOR y después del periodo de recuperación (Fig. 4A) La expresión de FATP únicamente se ve incrementada pasando el periodo de recuperación (Fig. 4B), mientras que ACSL 1 incrementa su expresión en 4PSMOR y posterior al periodo de recuperación (Fig. 4C), los resultados son expresados como Media  $\pm$  E.E.M.

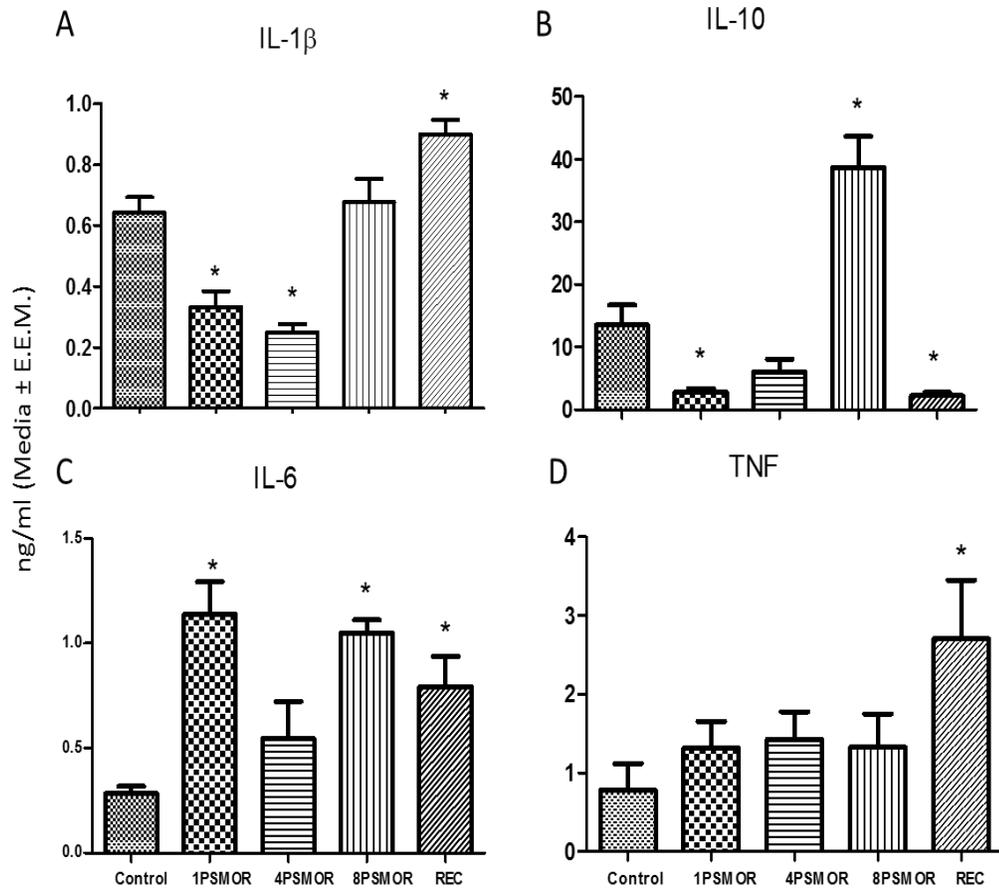


**Fig. 5** Efecto de la privación de sueño MOR sobre la expresión relativa de PPAR $\gamma$  en hígado y en tejido adiposo. En tejido adiposo la expresión se incrementa pasando el periodo de recuperación (Fig. 5A), mientras que en hígado se incrementa en 4PSMOR, y pasando el periodo de recuperación los niveles de expresión se reestablecen (Fig. 5B). Los resultados son expresados como Media  $\pm$  E.E.M.

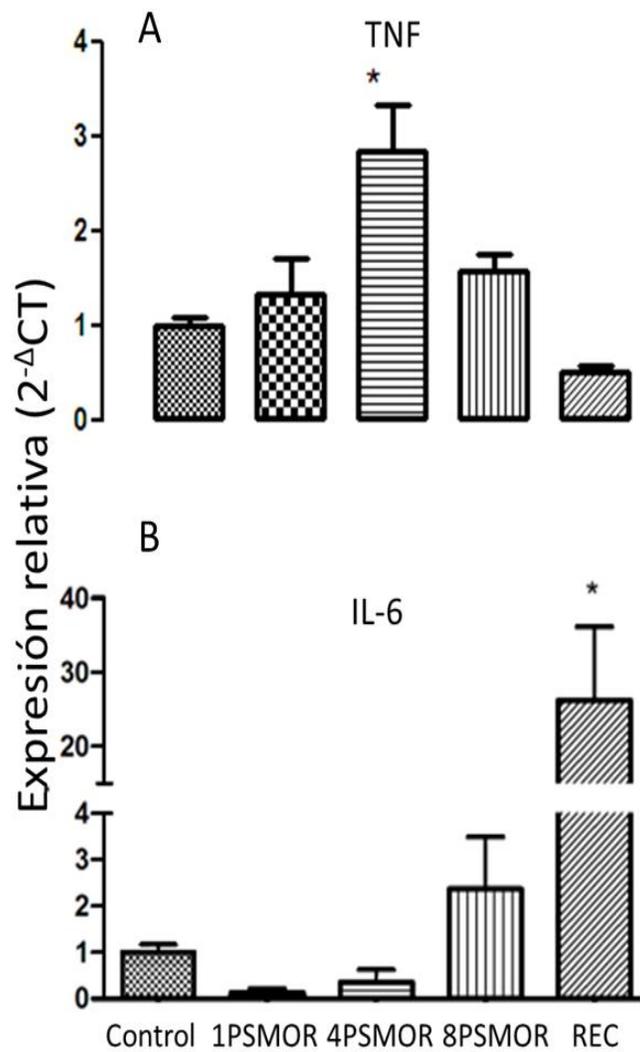
## Citocinas

La concentración sérica de IL-1 $\beta$  disminuye significativamente en el grupo de 1PSMOR y 4PSMOR, pero pasando el periodo de recuperación su concentración se eleva (F [4,25] = 27.88 P<0.05). (Fig.6A). En el caso de la IL-10 disminuye significativamente en el día 1PSMOR, se incrementa a los 8PSMOR pero pasando el periodo de recuperación nuevamente disminuye (F [4,25] = 31.38P<0.05). (Fig.6B). Mientras que la IL-6 aumenta significativamente en el grupo de 1PSMOR, 8PSMOR y pasando el periodo de recuperación (F [4,25] = 18.37 P<0.05). (Fig.6C), mientras que TNF sólo se incrementa su concentración pasando el periodo de recuperación. (F [4,25] = 33.28 P<0.05). (Fig.6D).

La expresión relativa del RNAm de TNF en tejido adiposo solo se aumenta en 4PSMOR (F [4,25] = 29.98 P<0.05). (Fig.7A) mientras que la de IL-6 se incrementa significativamente pasando el periodo de recuperación (F [4,25] = 33.37 P<0.05). (Fig.7B).



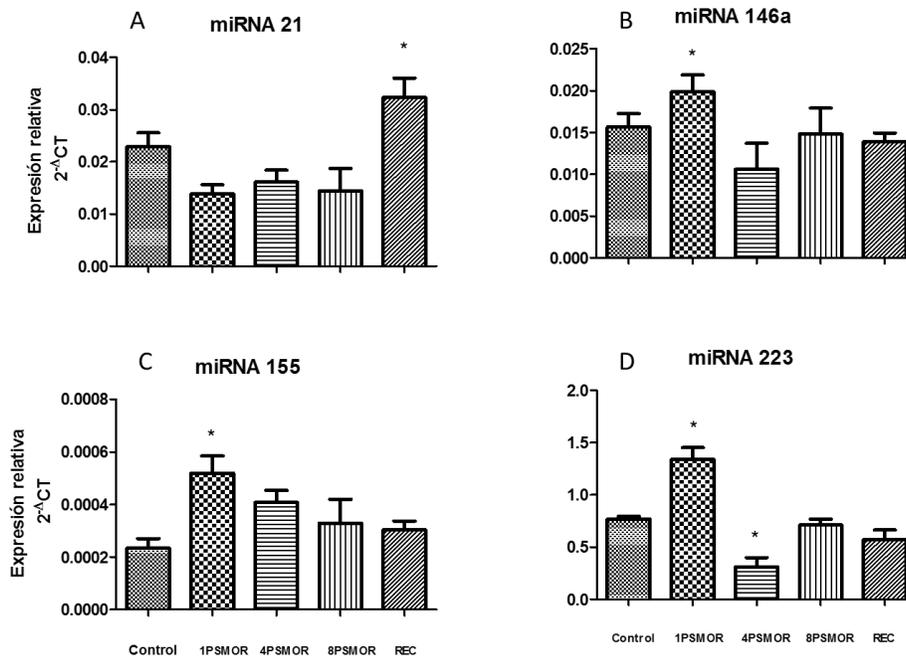
**Fig. 6** Efecto de los diferentes periodos de sueño MOR y su recuperación sobre las concentraciones circulantes de citocinas pro y anti inflamatorias. La concentraciones de IL-1 $\beta$  disminuyen en 1PSMOR y 4PSMOR, sin embargo cuando la PSMOR se prolonga más sus concentraciones se reestablecen, pero pasando el periodo de recuperación las concentraciones se encuentran elevadas en comparación al grupo control (Fig. 6A), las concentraciones de IL-10 disminuyen en 1PSMOR sin embargo en 8PSMOR se encuentra considerablemente elevada, y pasando los 8 días de recuperación dichas concentraciones nuevamente se abaten (Fig 6B), La IL-6 se modifica en cada grupo de PSMOR pues se encuentra elevada su concentración en 1PSMOR, 8PSMOR y pasando el periodo de recuperación (Fig.6C), Las concentraciones de TNF únicamente se elevan pasando el periodo de recuperación, todos los resultados son expresados como Media  $\pm$  E.E.M.



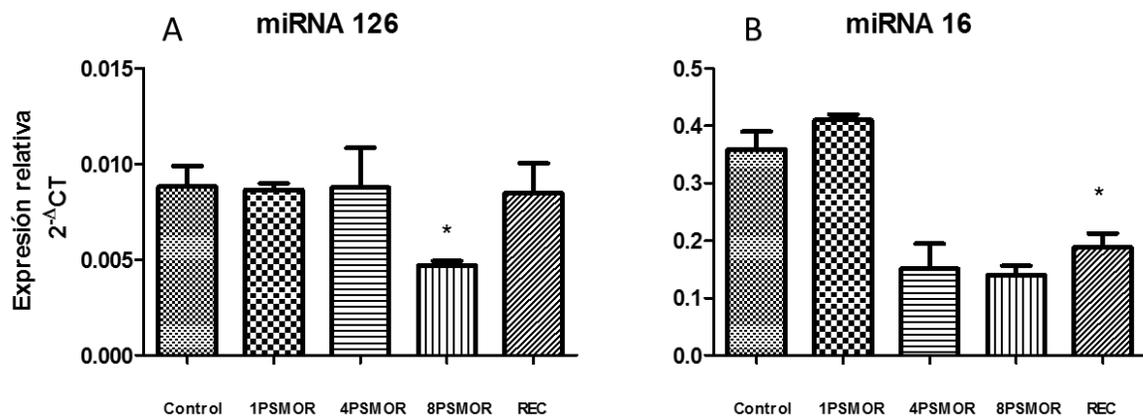
**Fig. 7** .TNF e IL6. Expresión relativa del RNAm de TNF e IL-6 en tejido adiposo por efecto de diferentes periodos de PSMOR y su recuperación, en TNF únicamente se observa un incremento en 4PSMOR (Fig 7A), para IL-6 se observa una expresión muy elevada parando el periodo de recuperación (Fig. 7B) Los resultados son expresados como Media  $\pm$  E.E.M.

## miRNAs

mRNA16 disminuye significativamente sólo en el grupo de Rec ( $p < 0.0041$ ) (Fig.9B). Mientras que el miRNA126 disminuye a los 8PSMOR ( $p < 0.0080$ ) (Fig.9A) a diferencia del miRNA16 y miRNA 126, el miRNA155 se incrementa iniciando el periodo de PSMOR ( $p < 0.0076$ ) (Fig.8), miRNA146a se incrementa en 1PSMOR ( $p < 0.05$ ) (Fig.8C), al igual que miRNA 223 ( $p < 0.0342$ ) (Fig.8D)



**Fig.8** miRNAs relacionados con inflamación. Expresión relativa de miRNAs relacionados con la progresión de enfermedades inflamatorias, miRNA 21 incrementa en el periodo de recuperación (Fig.8A), miRNA146a se incrementa en el periodo de 1PSMOR (Fig.8B), miRNA155 incrementa en el periodo de 1PSMOR (Fig.8C), mientras que miRNA223 se incrementa en el periodo de 1PSMOR, pero disminuye para el periodo de 4PSMOR, posterior a ello, no se observan nuevas alteraciones (Fig.8D). Los resultados son expresados como  $2^{-\Delta CT}$ , analizados por NCSS mediante Kruskal –Wallis seguido de Dune (miRNA 21) y ANOVA seguido de Tukey (miRNA155 y miRNA146) en relación al grupo control. miRNA 21 ( $p < 0.003$ ) mir155, ( $p < 0.0076$ ) miR146,  $p < 0.0342$ .



**Fig.9** miRNAs relacionados con alteraciones metabólicas. Efecto de la PSMOR en diferentes periodos y su recuperación sobre miRNAs relacionados con alteraciones metabólicas se observa que miRNA126 disminuye en 8PSMOR, sin embargo el periodo de recuperación de 20 días es suficiente para que los niveles logren reestablecerse (Fig.9A), miRNA16 se incrementa pasando el periodo de recuperación, posterior a 8PSMOR (Fig.9B) Los resultados son expresados como 2<sup>-ΔCT</sup>, analizados por NCSS mediante Kruskal –Wallis seguido de Dune (miRNA126) y ANOVA seguido de Tukey (miRNA16) en relación al grupo control. miRNA 126 (P<0.0080).

## 17. DISCUSIÓN

Durante el primer día de PSMOR se observa que las concentraciones de leptina e insulina en suero disminuyen. Así mismo se incrementa la expresión de adiponectina y disminuye la de GLUT 4, aumenta la concentración de IL-6 y de algunos miRNAs como miR155, miR146a y miR223. Además que disminuyen la concentraciones de IL-1 $\beta$  y de IL-10. En 4PSMOR se incrementa el consumo de alimento, disminuyen las concentraciones de leptina, disminuye la expresión de GLUT 4, bajan las concentraciones de IL-1 $\beta$ , y disminuye la expresión de miRNA223, pero , se incrementan las concentraciones de adiponectina, la expresión de resistina y la de ASCL-1, al igual que PPAR $\gamma$  en hígado y se incrementa la expresión del RNAm del TNF. El incremento en el consumo de alimento y la disminución en las concentraciones de leptina se mantienen al 8PSMOR , además de observarse un aumento en las concentraciones de grelina, de IL-10, IL-6 y de corticosterona, en este mismo grupo experimental se registró un descenso en las concentraciones de insulina y de la expresión de miR126. Aún después del 20 días de recuperación posterior a 8PSMOR se observa que se incrementa la expresión del RNAm de adiponectina, la expresión de FATP, la de ASCL1 y de PPAR $\gamma$  en tejido adiposo. Las citocinas en suero IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF aumentan y disminuye IL-10. Se observa una disminución en la expresión de GLUT 4 y aumenta la expresión de IL-6 y del miRNA 21. Mientras disminuye miRNA16.

El SMOR representa una etapa de estudio muy interesante pues en esta fase ocurre una pérdida del tono muscular y una pérdida de la regulación de la temperatura; así mismo, la respiración y la frecuencia cardiaca se tornan irregulares. Mientras que durante el sueño, la actividad de la corteza cerebral es rápida y su actividad se asemeja a que se presenta en la vigilia en el registro encefalográfico (de ahí el nombre de sueño paradójico). La profundidad y la duración del SOL dependerán del tiempo de vigilia o de falta de sueño que se haya tenido; de tal manera que será más abundante y profundo cuando se haya tenido una pérdida de sueño o un sueño fragmentado en noches anteriores. (Stewart et. al., 2002).

La falta de sueño es un mal que afecta a toda la sociedad, se ha descrito que al privar a una persona de sueño, esta presenta irritabilidad, falta de concentración, nerviosismo, estrés, mal humor y cambios en la actividad cerebral, por ello la importancia del estudio del sueño y las consecuencias que produce el no dormir bien, en muchos de los estudios que se han desarrollado se han observado importantes alteraciones en la polisomnografía (Culebras, 1992; Vergara et. al., 1999; Howard y Wong, 2001)

A pesar de la diferencia en los métodos utilizados en la PS, se ha observado que cuando los animales experimentales son sometidos a ella, se enfrentan a una pérdida del peso corporal, acompañado de un incremento en la ingesta de alimento. (Elomaa, 1981, Everson et. al, 1989; Suchecki et al., 2000; Rechtschaffen y Bergmann, 2002; Koban y Stewart, 2006, Koban et. al., 2008; Barf et. al., 2012; Mavanji et. al., 2013; Brianza et. al., 2015). Algunos otros estudios no reflejan

cambios (Mendelson et al, 1974; Elomaa, 1981; Martins et. al, 2006; de Mattos et. al., 2008). Otros sugieren que esta discrepancia podría deberse al desperdicio de alimento que cae al agua, al no contar con un método seguro que garantice que el peso del alimento restante corresponde exclusivamente al que no fue consumido (Martins et al, 2006). Sin embargo, el incremento en la pérdida de alimento se debe al comportamiento producido por la misma PS, lo que origina una sobreestimación de la ingesta (Martins et. al., 2008). Se ha observado también que la hiperfagia inicia en periodos intermedios de PSMOR en ratas y que posterior al término de un periodo prolongado (8PSMOR) la ingesta de alimento baja de manera significativa, es decir al inicio de un periodo de recuperación. (Brianza et. al., 2015).

La mayoría de los estudios han utilizado períodos de privación de menos de 5 días, lo que no permite observar claramente el aumento en el consumo de alimento (Martins et al, 2006; de Mattos et. al., 2008), esto quiere decir que, la hiperfagia producida por PS puede ser irrelevante en periodos cortos (menos de 4 días), pero cuando el periodo de PS se extiende resulta evidente. (Koban y Swinson, 2005; Koban y Stewart, 2006; Koban et. al., 2008; Brianza et. al., 2015). Los resultados demuestran que el incremento en la ingesta de alimento es significativamente mayor después de 4PSMOR, y se ha considerado que el periodo entre los 4 y 6 días es crucial para observar dichas alteraciones (Koban et. al., 2008). Además de ello, las ratas con PSMOR no logran recuperar el peso corporal inicial, aún después de 20 días de recuperación (Brianza et.al., 2015). Nuestros datos sugieren que la

recuperación en el peso corporal, en caso de concretarse podría hacerlo pasando un periodo superior a los 20 días de recuperación.

Cuando se observa que los animales después de haber sido privados de SMOR de manera prolongada (8PSMOR) y al empezar su periodo de recuperación disminuyen la ingesta de alimento, creemos que se debe a un rebote de sueño; se sabe que en modelos animales, el rebote compensatorio de SMOR es completo (Amici et. al., 2008) y se presenta en las horas inmediatamente consecutivas a la PS, por ello podemos observar dicho fenómeno al concluir la PSMOR. Un criterio fundamental sobre el rebote de sueño es la existencia de deudas de sueño que deben ser cubiertas, de tal forma que, ante situaciones de pérdida de sueño, el balance es restituido gracias al rebote compensatorio (De Ocampo, 2012). Esto sugiere que posterior a 8PSMOR se induce una propensión a dormir, que aumenta conforme transcurre el tiempo de PSMOR, debido a que los animales duermen de manera continua y dejan de comer, sin embargo son suficientes dos días para que logren regular nuevamente la ingesta de alimento (Brianza et. al., 2015).

Acompañada de una respuesta de hiperfagia producida por la PSMOR, se presenta una condición de estrés, una de las definiciones más utilizadas de estrés es que “el estrés, es una respuesta no específica del organismo frente a cualquier demanda” (Berczi, 1998), se considera que el estrés ejerce un efecto dual sobre los procesos reguladores del sueño, eso quiere decir que el estado de activación fisiológica asociado con el estado de alerta a su vez inhibe la aparición del sueño y por otro

lado, la intensificación de la vigilia acelera la acumulación de la deuda de sueño aumentando la propensión (Vázquez et. al., 2000).

La PS por si misma genera una respuesta de estrés fisiológico que puede identificarse por el incremento en las concentraciones de cortisol/corticosterona.

En modelos experimentales de PS se ha observado un incremento en los niveles plasmáticos de corticosterona después de 96 h (4 días) de PSMOR por el método de plataformas múltiples (Suchecki et. al., 1998) y posterior a 8 días de PSMOR por el método modificado de plataformas múltiples (Brianza et.al., 2015) (Tabla IV). Uno de los principales debates en el uso de los métodos para la PSMOR, mismos que han sido relacionados con las concentraciones de corticosterona, hormona inherente a la condición de estrés, Al respecto, diferentes métodos de PSMOR (plataforma única, plataforma múltiple y técnicas de péndulo) también inducen la respuesta al estrés basado en los índices clásicos de estrés de Selye (Coenen y Van Luijtelaaar, 1985; Suchecki et al, 1998). Observándose un incremento considerable en las concentraciones de cortocosterona, pero el hecho de que se incremente hasta el periodo de 8PSMOR, nos podría indicar que es una metodología que por si misma no genera un estrés superior al que la misma PSMOR induce, esto se logra al mantener a los animales en grupos socialmente estables, en movilidad continua y sin aislamiento, ni asciamiento.

El incremento en las concentraciones de cortisol/corticosterona no solo se relaciona con el estrés, también tiene efecto en otros mecanismos reguladores como es el caso de la glucosa, pues el aumento transitorio del cortisol incrementa la

concentración de glucosa en sangre; de hecho, el nombre genérico de los glucocorticoides es gracias a su participación en la generación inmediata de glucosa, lo que permite al organismo responder ante el reto del estrés. Es posible que el incremento en las concentraciones de glucosa en el grupo de recuperación (Brianza et.al., 2015) se relacione al incremento en las concentraciones de corticosterona a los 8PSMOR , cuando se presenta un agente estresor, además del cortisol, la adrenalina liberada activa la glucólisis y la movilización de los ácidos grasos en el tejido adiposo, así como la termogénesis, de hecho existe un estudio en donde se ha revelado que en una población masculina sana, se observó que 4 horas de sueño se asocia a un deseo significativamente mayor de consumir alimentos calóricos con alto contenido de carbohidratos. Además de ello se observó que el hambre también se incrementa (Spiegel, 2005). Por tanto la hiperfagia observada en nuestros resultados pueden ser traspolados a la condición que presentan los humanos ante la privación de sueño.

Como se ha mencionado, las alteraciones en la ingesta de alimento se acompaña de una variación importante en el peso corporal, en donde las hormonas leptina y grelina juegan un importante papel al ser las encargadas de regular esta conducta, y que también se acompaña de la alteración en las concentraciones de insulina. Los niveles de insulina pueden ser el reflejo de una buena alimentación, estimula la síntesis de algunas enzimas como la acetil CoA carboxilasa comprometida en la síntesis de ácidos grasos, en un proceso de ayuno estas enzimas disminuyen su síntesis, se puede decir que la insulina tiene el efecto opuesto al glucagón pues

incrementa la síntesis de triglicéridos, esto explica porque al inicio de la PSMOR y en periodos prolongados de la misma las concentraciones de insulina están disminuidas. Se ha reportado que en los mismos grupos experimentales las concentraciones de glucosa y de triglicéridos se encuentran muy bajas en relación a grupo control (Brianza et. al., 2015), posiblemente como consecuencia de la movilización de dichas fuentes energéticas la insulina no se incrementa. Sin embargo se ha reportado que en un periodo prolongado de recuperación, posterior a 8PSMOR las concentraciones de glucosa se encuentran superiores en relación al grupo control (Brianza et.al., 2015) lo que nos haría pensar que la insulina podría estar incrementada. Sin embargo en dicho grupo experimental las concentraciones de lípidos en general logran reestablecerse, y posterior a amplios periodos de hipoglicemia, las concentraciones de insulina no se modifican. Debido a que la insulina también participa en la ingesta de alimento, la teoría de la insulina afirma que sentimos hambre cuando los niveles circulantes de insulina sufren un incremento súbito. La teoría lipostática de Kennedy postuló la existencia de receptores hipotalámicos que detectan elevación del nivel plasmático de ácidos grasos y en respuesta se desencadena la señal de hambre. El hipotálamo detecta la cantidad de grasa corporal, que de ser abundante genera señales de inhibición del hambre (Kennedy, 1953). La insulina ayuda a la formación de tejido graso y aumenta la producción de leptina, tiene efecto anorexígeno al disminuir la expresión del neuropéptido Y en el núcleo Arcuato; efecto similar al de leptina. La insulina estimula la actividad de señales de saciedad con efectos catabólicos, por lo que constituye

una conexión entre la regulación del apetito y del metabolismo energético a largo plazo (Pliquet et. al., 2006).

Conforme transcurre la PSMOR esta regulación se altera pues se incrementan las concentraciones de grelina, disminuyen las concentraciones de leptina y de insulina como posible respuesta a la hiperfagia inducida por la PSMOR. La sensación de hambre o saciedad surge de la comunicación orquestada entre señales periféricas provenientes del aparato digestivo y neuronas sensoras del hipotálamo principalmente, es decir que un estómago vacío secreta la grelina, activa a neuronas hipotalámicas y se producen péptidos orexigénicos. Al comer se inhibe la secreción de grelina; la absorción de nutrientes a través del intestino libera colecistoquinina, que disminuye el vaciamiento gástrico y aumenta la secreción de enzimas pancreáticas e incide además sobre neuronas hipotalámicas causando la sensación de saciedad. Conforme aumenta la glucosa en la sangre se secreta insulina del páncreas activando el almacenamiento de reservas energéticas en los adipocitos. Es justo en el tejido adiposo que se secreta la leptina, que es la encargada de controlar las reservas energéticas y de reactivar el gasto energético. La disminución en las concentraciones de leptina es un efecto inducido por la PSMOR de manera persistente (Everson y Crowley, 2004; Koban y Swinson, 2005, Martins et al, 2011, Barney et al, 2012, Venancio y Suchecki, 2015; Brianza et.al., 2015). Los nuevos hallazgos muestran que las concentraciones circulantes de leptina en PSMOR disminuyen dependiente al periodo de PSMOR, alcanzando niveles mínimos después de 8PSMOR por lo que los niveles de leptina son inversamente

proporcionales a la duración de PSMOR (Brianza, 2015). Sin embargo un periodo de recuperación de 20 días posterior a 8PSMOR es suficiente para reestablecer las concentraciones de leptina en relación al grupo control.

La leptina se libera de los adipocitos como respuesta a los cambios en el balance energético (Hanlon et. al, 2005). Sin embargo, dado que la PSMOR es, en sí misma, un factor de estrés, también debemos considerar la diversidad de funciones neuroendocrinas en las que se ve implicada la leptina. Uno de los efectos del estrés es aumentar los patrones de consumo de alimentos (Maniam y Morris, 2012) una relación inversa con la leptina. En este sentido, el efecto de la PSMOR sobre los niveles de leptina pueden modificarse como parte de la respuesta al estrés, ya que la leptina regula la actividad del eje HHA (Zhang et al, 2001). Varios estudios, han demostrado que la leptina tiene la capacidad de reducir la actividad del eje HHA como respuesta al estrés. (Bornstein et. al., 1997; Oates et. al., 2000). Pero en dirección opuesta, los glucocorticoides también son capaces de estimular la síntesis y la secreción de leptina (DeVos et al, 1995; Slieker et. al., 1996, Oates et al, 2000).

Por tanto, durante el estrés y la PSMOR, la disminución de la secreción de leptina podría facilitar la respuesta del eje HHA, crucial para la supervivencia. Es posible que se presente la disminución progresiva de la regulación del eje HHA a través de mecanismos de retroalimentación y que un cambio en la respuesta metabólica generado por la PSMOR se convierta en una alteración crónica y un desequilibrio inminente de la respuesta al estrés producida por la misma PSMOR (Brianza, 2015; Slieker et. al., 1996, Spiegel et al, 2004).

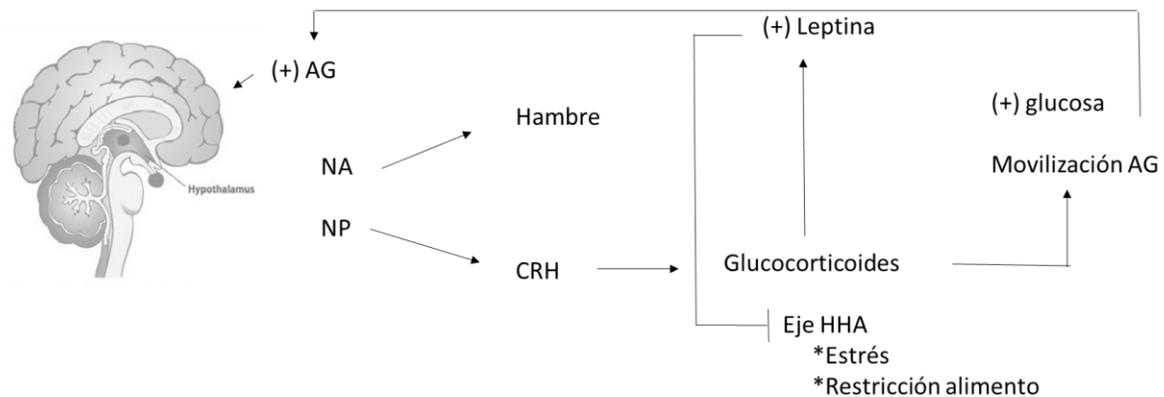
Koban y Swinson mostraron que la disminución en la concentración de leptina se mantuvo baja después de 20 días de PSMOR cuando se utilizó el método de plataforma invertida. Se ha observado también que 480 horas (20 días) de recuperación después de 8PSMOR son suficientes para restaurar los niveles de leptina (Brianza, 2015). Se ha demostrado que los niveles de leptina disminuyen después de poco tiempo de PSMOR (Koban y Swinson, 2005, Everson y Crowley, 2004), por lo que la disminución en las concentraciones de leptina puede pensarse como una respuesta propia para eviar el efecto orexigénico provocado por la PSMOR, aunque las concentraciones de leptina se modificaron antes de la hiperfagia y aunque la secreción de leptina se correlaciona con la adiposidad (Fam, 2007), es más probable que el aumento de la actividad simpática en el tejido adiposo blanco permitió un aumento de la ingesta de alimento. Sin embargo, la reducción progresiva de los niveles de leptina no es consistente con los niveles de grelina. Pues el incremento en las concentraciones de grelina solo es significativo en 8PSMOR, sin embargo, los niveles más altos de grelina y los niveles más bajos de leptina coinciden con el mismo período de tiempo PSMOR, lo cual puede consolidar la idea de que la disminución en la concentración de leptina puede inducir la secreción de grelina (Boghossiean, 2006). Se sabe que la secreción de grelina aumenta en condiciones de balance energético negativo, como la inanición, la caquexia y la anorexia nerviosa, mientras que sus concentraciones disminuyen en condiciones de balance energético positivo, como la ingesta de alimentos, la hiperglucemia y la obesidad (Hosoda et. al., 2006). Además, la grelina estimula la ingesta de alimentos, regula la homeostasis de la glucosa y transduce señales al

regulador de los núcleos hipotalámicos que controla la homeostasis energética (Spiegel et al, 2004).

La grelina también está implicada en la respuesta fisiológica a diversas formas de estrés (Peterson et. al., 2015). Por ejemplo, se ha demostrado que los niveles de grelina aumentan en respuesta al estrés inducido por la restricción calórica (Perello y Dickson, 2010). Por tanto, el aumento de los niveles de grelina inducida por 8PSMOR puede reflejar un intento por parte del organismo de regular el eje HHA y los niveles de glucosa en sangre en condiciones de resistencia metabólica y períodos de severa restricción calórica que comienzan a ser crónicos y cuyos efectos pueden incluso amenazar la supervivencia como se ha observado en los ratones knockout a grelina (Chuang et.al., 2011).

Se ha visto que poblaciones discretas de neuronas en distintos núcleos hipotalámicos expresan neurotransmisores y péptidos modulados por el estado nutricional. Señales metabólicas como glucosa y aminoácidos pueden afectar directamente las propiedades electrofisiológicas de neuronas, y otras, como insulina y leptina, modificar la expresión y liberación de péptidos con actividad anorexigénica u orexigénica. Varios núcleos hipotalámicos están involucrados en el control del peso corporal y la conducta alimenticia (núcleo arcuato localizado en la base del hipotálamo, el lateral, el ventro y el dorso medial). Las neuronas del núcleo paraventricular constituyen la última etapa del circuito neuronal involucrado en la homeostasis energética, y son las encargadas de la activación de la respuesta endocrina. En este núcleo se sintetizan la hormona liberadora de corticotropina

(CRH) y la hormona reguladora de tirotrópina (TRH) que controlan las concentraciones circulantes de glucocorticoides y de hormonas tiroideas, entonces el eje HHA se activa, no sólo por el estrés, sino la suma de otro estresor que son las condiciones de baja disponibilidad nutricional y restricción de alimento, como posible respuesta al estado hipoglucémico.



**Esquema 1.** Regulación de la ingesta de alimento ante una demanda producida por estrés y/o restricción de alimento. Se propone una respuesta de retro alimentación en donde el hipotálamo cuenta con receptores para ácidos grasos, iniciando respuestas reguladas por el núcleo arcuato (NA) y el núcleo paraventricular (NP) que indican señales de hambre y la secreción de hormonas como la hormona liberadora de corticotropina (CRH) encargada de la inducción de secreción de glucocorticoides, estos a su vez incrementan las concentraciones de glucosa y movilizan los ácidos grasos, mismos que tendrán un efecto de retroalimentación en el hipotálamo, a su vez los glucocorticoides favorecen el incremento en la síntesis de leptina, para que regule la actividad del eje HHA como proceso de autoregulación.

Es posible que las bajas concentraciones de leptina producidas por la PSMOR favorezcan a que el eje HHA se mantenga activado mayor tiempo, y se sabe que para que un persona duerma adecuadamente debe disminuirse la actividad del eje HHA, de mantenerse mas activo se puede inhibir el sueño y aumentar los despertares nocturnos, se piensa que ocurre por el incremento en CRH (Buckley y Schatzberg, 2005)

Por tanto, cuando el incremento de cortisol sucede rápidamente ejerce un efecto retroalimentador, aunque se ha observado que este tipo de alteraciones producen un importante quiebre en la regulación del metabolismo energético alterando moléculas que regulan tanto el metabolismo de lípidos (FATP, ASCL1) como de glucosa (Glut4) y algunos otros que regulan una amplia gama de procesos tanto metabólicos como inflamatorios (PPARs).

Los ácidos grasos se unen a la albúmina cuando ingresan al torrente sanguíneo, pero para poder ser captados por los tejidos se realiza ya sea una difusión simple o dependiendo del tamaño y naturaleza del ácido graso se necesita de un transportador como la FATP. Una vez captados los ácidos grasos, se pueden sintetizar triglicéridos, formar lípidos complejos,  $\beta$ -oxidación, o la transducción de señales (McArthur et. al., 1999).

Aparentemente la PSMOR no representa un factor de desequilibrio en la captación de ácidos grasos, recordemos que por efecto de la PSMOR disminuyen las concentraciones de triglicéridos (Brianza, 2015), la expresión de FATP en tejido adiposo no se altera en ningún grupo experimental de PSMOR, pero si existe una diferencia significativa pasando el periodo de recuperación en este punto las concentraciones de triglicéridos se reestablecen en relación al grupo control (Brianza, 2015). Pero es posible que como parte del proceso de restauración se requiere de una mayor captación de ácidos grasos, favorecida por un incremento en la expresión de FATP en tejido adiposo.

Los ácidos grasos en el organismo, cumplen con diversas funciones entre las que destaca funciones estructurales, forman parte de la mayoría de los lípidos y son una importante fuente de energía. Las enzimas que se encargan de activar a los ácidos grasos para la  $\beta$ -oxidación es la acil CoA sintetasa (ASC) y como parte de ellas se encuentra la acil CoA sintetasa de ácidos grasos largos (ASCL) cuya función ocurre posterior a la activación de los ácidos grasos por la acil CoA en el retículo endoplásmico o en la membrana mitocondrial externa. La PSMOR induce un incremento significativo en la expresión de ASCL1 en 4PSMOR y en el periodo de recuperación, lo que nos indica que los ácidos grasos deben ser movilizados a la vía catabólica para ser utilizados como fuente de energía, esto puede ser ampliamente entendible en el periodo 4PSMOR por la hipoglicemia que presentan los animales (Brianza, 2015), sin embargo en el periodo de recuperación las concentraciones de glucosa ya son superiores a las que presenta el grupo control y pensando en la

expresión de FATP acompañado de la expresión de ASCL1 en este periodo consideramos que el organismo genera otra alternativa a partir de la activación de lípidos para preparar al sistema ante una nueva condición como la PSMOR o bien, la vía catabólica podría formar parte de una respuesta de restauración tisular.

Las variaciones de glucosa también pueden alterar de manera directa la glicemia, ya que regula la actividad de sus transportadores en la membrana celular y se cree que la disminución de GLUT-4 es un mecanismo de protección que evita la ganancia excesiva de glucosa, acompañando el proceso la insulina estimula el transporte de glucosa a las células del músculo en reposo y adipocitos promoviendo el reclutamiento de los GLUT 4 en la membrana celular, posiblemente por esta razón las concentraciones de insulina solo se disminuyen en el 1PSMOR, como un proceso de regulación ya que al no haber insulina, no existe un proceso de regulación del reclutamiento de GLUT4, en el tejido adiposo la insulina también estimula el transporte de glucosa que se oxida para producir energía y también provee glicerol para la síntesis de triglicéridos, por lo que la glucosa también puede convertirse en ácidos grasos en el tejido adiposo, por ello tanto la insulina como GLUT4 juegan un papel importante en la función energética y metabólica al permitir el transporte de la glucosa y a su vez otras moléculas como PPAR $\gamma$  puede regular algunos aspectos (tempranos) de GLUT4, que también vincula la adipogénesis a eventos posteriores de metabolismo de lípidos. (Miner, 2004).

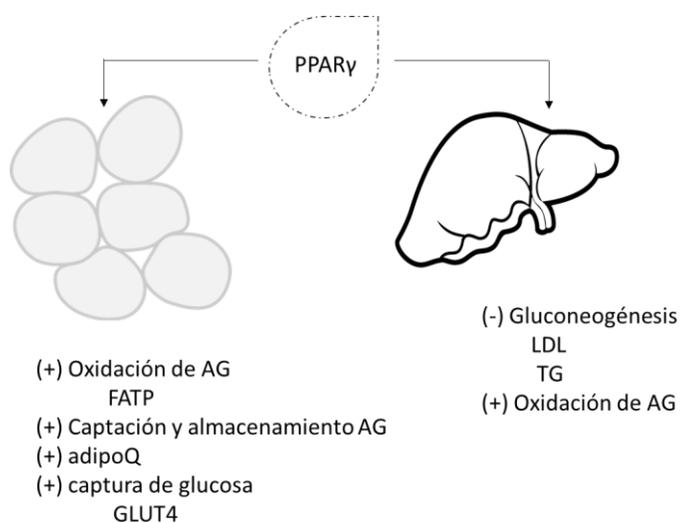
GLUT4 como respuesta a la PSMOR disminuye desde 1PSMOR, solo en 4PSMOR su expresión no presenta diferencia con el grupo control, una de las razones mas importantes es que los animales presentan hipoglucemia desde 1PSMOR (Brianza, 2015), al no existir glucosa que transportar, no se expresa el transportador, pero de igual manera se esperaría en el grupo de recuperación que la expresión elevada de PPAR $\gamma$  favorezca el incremento en la expresión de GLUT4, sin embargo esto no es observable, pero al ser un regulador de GLUT4 puede favorecer a mantener el transportador de glucosa bajo, al existir una concentración de glucosa superior al grupo control, lo que evitaría que al haber mas transportador de glucosa, la glucosa existente entre a los tejidos, dando así un efecto de protección.

El PPAR $\gamma$  forma parte de la familia de receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs), los PPARs forman heterodímeros nucleares con los receptores de los retinoides y tras su activación se unen a áreas promotoras específicas del DNA. De esta forma, al ensamblarse con sus ligandos, promueven la expresión de determinados genes implicados en procesos como la homeostasis energética, el metabolismo lipídico o el control de la inflamación (Schmuth et. al., 2008).

Los PPARs constituyen una subfamilia dentro de la superfamilia de receptores nucleares para hormonas (tiroidea, glucocorticoides, mineralocorticoides, ácido retinoico, esteroides sexuales, vitamina D, etc.) (Houseknecht et. al., 2002).

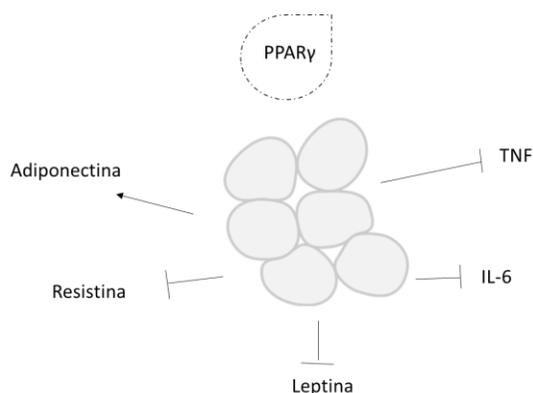
Estudios de expresión más detallados han demostrado un alto grado de expresión de PPAR $\gamma$  en la corteza prefrontal de la rata, presentan una inmunolocalización nuclear y citoplasmática. También se ha detectado expresión de PPAR $\gamma$  en microglía y astrogliá, convirtiendo también a las células gliales en posibles dianas de las acciones antiinflamatorias de los ligandos PPAR $\gamma$  (Luna – Medina et. al., 2005)

Cuando estos factores de transcripción son activados por sus ligandos naturales (ácidos grasos, eicosanoides, prostaglandina D2, entre otros) regulan la diferenciación de adipocitos y la expresión de diversos genes, tales como: los genes involucrados en la captura de glucosa (GLUT 4), genes involucrados en la captura y almacenamiento de lípidos (LPL, FATP y acil-CoA sintetasa) y en el gasto de energía (Berger et. al., 2005).



**Esquema 2.** Efectos de PPAR $\gamma$  en tejido adiposo e hígado, que de manera general favorece a la oxidación de ácidos grasos, a la captura de glucosa y disminuir la gluconeogénesis.

La expresión de PPAR $\gamma$  se incrementa en hígado en 4PSMOR, lo que puede estar relacionado con el incremento en la expresión de ACSL1 y el aumento en la concentración de adiponectina en el mismo periodo de PSMOR, mientras que la expresión de PPAR $\gamma$  en tejido adiposo solo se ve incrementada pasando el periodo de recuperación, lo que tiene relación con el incremento en la expresión de FATP y ACSL1, la disminución en la concentración de leptina, así como con la variación en las concentraciones de citocinas, esto se debe a que cuando PPAR $\gamma$  se activa en macrófagos y adipocitos se inhibe la expresión de varios genes involucrados en la respuesta inflamatoria, tales como: TNF, leptina, resistina, Proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1), molécula de adhesión vascular (VCAM-1) y molécula de adhesión intercelular (ICAM-1). (Hotamisligil, 2006; Berger et. al., 2005; Marx et. al., 2004) mientras que la expresión y secreción de adiponectina (antiaterogénica y antidiabética) se incrementa en presencia de agonistas de PPAR $\gamma$ . (Marx et. al., 2004). De hecho se ha observado que PPAR $\gamma$ , reduce la producción de TNF-a e IL-6, moléculas que pueden ocasionar resistencia a la insulina.



**Esquema 3.** Efectos generales que ejerce la expresión de PPAR $\gamma$  en el tejido adiposo, inhibe la expresión de TNF, IL-6, leptina, resistina e incrementa la expresión de adiponectina.

PPAR $\gamma$  es un excelente regulador de las moléculas mencionadas, en el periodo de recuperación de 20 días posteriores a 8 días de PSMOR la expresión de PPAR $\gamma$  se incrementa de manera considerable, lo que se relaciona con el aumento de adiponectina, la disminución de resistina y leptina, sin embargo la presencia de TNF y de IL-6 continúa. Puede ser que PPAR $\gamma$  se exprese para poder contrarrestar el efecto o que no sea suficiente el proceso de regulación para volver a equilibrar la respuesta inflamatoria, o bien sea necesario un periodo de recuperación más prolongado para reestablecer la homeostasis.

Los PPAR como receptor nuclear interaccionan con proteínas nucleares co activadoras o co represoras, posteriormente heterodimerizan con el factor retinoide X (RXR) formando complejos PPAR –RXR que se unen a la secuencia del DNA uniéndose a elementos de respuesta PPRE para activar o reprimir numerosos genes que intervienen en vías metabólicas e impidiendo la expresión de genes fundamentalmente inflamatorios, mecanismo llamado transrepresión frente a genes de respuesta a factor nuclear NF- $\kappa$ B y AP-1 (Yuan et. al., 2005), por lo que la activación de PPAR $\gamma$  inducida por la PSMOR favorece a una respuesta anti inflamatoria inhibiendo la síntesis de TNF, IL-1 $\beta$  e IL-6, sin embargo dichas concentraciones no se ven modificadas, cuando la expresión de PPAR $\gamma$  se incrementa en tejido adiposo en el periodo de recuperación, posiblemente por la que respuesta inflamatoria ya no puede revertirse por efecto de la actividad de PPAR $\gamma$ .

Se sabe que algunas citocinas como IL-1 $\beta$  e IL-6 tienen participación en la inducción del sueño y en la regulación del ritmo circadiano, la necesidad de dormir parece estar mediada por sustancias como la adenosina, la IL- 1, IL-6, la prostaglandina D2, el TNF y el factor de liberación de hormona de crecimiento (GHRH), que se acumulan en el cerebro de forma proporcional al tiempo en vigilia como resultado del metabolismo cerebral, y cuya presencia en el espacio extracelular del hipotálamo anterior o en el espacio subaracnoideo cercano es capaz de activar las neuronas del núcleo preóptico ventrolateral (VLPO) del hipotálamo, dando paso al sueño (Torres et. al., 2011), pero un desequilibrio de la actividad de las citocinas también nos habla de una alteración en la secreción de citocinas anti inflamatorias como IL-10; citocinas con función inmunosupresora de la producción de IL-1 $\beta$  y de TNF, como son la IL-4 o IL-10, también suprimen el sueño (Marshall y Born, 2002). En el curso de algunos trastornos de sueño, como las apneas, los niveles de TNF y de IL- $\beta$  se elevan e igualmente se sabe que el número de receptores para estas aumenta con la pérdida de sueño (Obal y Krueger, 2003).

Tal vez sea por eso que la expresión y concentración de citocinas pro inflamatorias como IL-6 y TNF se mantengan elevadas aún pasando el periodo de recuperación pues a pesar de mantenerse la expresión de PPAR $\gamma$  que pueda regularlo, la inducción de sueño es prioridad para recuperarse de las alteraciones producidas por el extenso periodo de PSMOR al que el organismo fue expuesto.

La función principal de IL-10 es disminuir la regulación de la respuesta inmune adaptativa y minimizar la inflamación inducida por daño en el tejido. La IL-10 regula la expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, moléculas de adhesión intercelular y moléculas coestimuladoras (CD80 y CD86) en células presentadoras de antígeno (células dendríticas, macrófagos y linfocitos B); y también disminuye o inhibe la expresión de varias citocinas proinflamatorias y de otros mediadores solubles. Hace poco se encontró que la IL-10 aumenta la sensibilidad a la insulina y protege al músculo esquelético de la obesidad asociada con la infiltración de macrófagos, de manera interesante las concentraciones de IL-10 en la circulación son menores en los sujetos obesos (Maynard y Weaver, 2008; Hong et. al., 2009).

No es nuevo que se reporte que la restricción de sueño induzca importantes alteraciones en los marcadores inflamatorios (Meier-Ewert et. al., 2004; Vgontzas et. al., 2008), mucho se han debatido los resultados en los niveles circulantes de citocinas y de células inmunológicas puesto que los métodos por los que se obtienen las muestras suelen ser invasivos, se ha argumentado que un catéter podría inducir por sí mismo la respuesta inflamatoria, sin embargo, independiente a ello, a los métodos de PS o a la técnica para la toma de muestra, una constante que se observa es una alteración en los marcadores inflamatorios, algunas veces observadas a cortos periodos de PS y otras veces observadas a un periodo más prolongado. Nosotros hemos observado que las alteraciones se manifiestan aun después de transcurrido un periodo largo de recuperación, e incluso muchas veces

existen discrepancias entre reportes, por ejemplo (Frey et.al., 2007) reportó que PTS por 40h disminuye las concentraciones de IL-6, mientras que Vgontzas reporta que el mismo periodo de PS incrementa dichas concentraciones. A pesar de que la mayoría de los reportes indican que la PS incrementa las concentraciones de IL-6 (Irwin et. al., 2006; Irwin et. al., 2010), estas variaciones se pueden explicar si entendemos que la PS tiene una respuesta dinámica que depende del tiempo de la misma y de las condiciones fisiológicas y metabólicas a las que se somete al organismo, eso es lo que ocurre cuando analizamos nuestros resultados, ninguna de las respuestas tanto en concentración como en expresión son uniformes en los diferentes periodos de PSMOR al que han sido sometidos los animales, e incluso algunas alteraciones solo son percibidas después de que los animales son privados de sueño y se deja transcurrir un considerable periodo de recuperación, lo que ocurre con las concentraciones séricas de TNF.

Es importante también considerar que no debe ser tan estricta la clasificación de las citocinas como pro o anti inflamatorias, ya que desempeñan ambas acciones dependiendo de las condiciones fisiológicas del organismo tal es el caso de IL-6, que al mismo tiempo es considerada como molécula reguladora del sueño (Lange et. al., 2010), una sola noche de PS puede incrementar los niveles circulantes de monocitos, células natural killer (NK) y linfocitos (Lange et. al., 2010) considerando que estas células son importantes secretoras de citocinas, e incluso que las mismas citocinas como IL-6, IL-12 Y TNF presentan un ritmo circadiano similar a su célula leucocítica secretora (Lange et. al., 2010).

Cuando la PS induce un desgaste energético importante, otros órganos juegan un papel crucial de regulación como el tejido adiposo, tejido altamente secretor de citocinas lo cual se cree es el vínculo con el desarrollo de alteraciones metabólicas como la obesidad o la resistencia a la insulina, una de las citocinas secretada en su mayoría por el tejido adiposo es la adiponectina, por efecto de la PSMOR las concentraciones de adiponectina se modifican hasta 4PSMOR, mientras que su expresión se incrementa pasando el periodo de recuperación (Fig.2B), posiblemente con una finalidad antiinflamatoria (Schulze, 2004) y por la severa hipotrigliceridemia que presentan los animales (Brianza, 2015) Se sabe que la administración de esta citocina disminuye la concentración de ácidos grasos libres y triglicéridos (Raucci, 2013) y que la expresión de PPAR $\gamma$  induce la expresión de adiponectina, como parece ocurrir en el periodo de recuperación. Otro posible mecanismo que podría llevar a un incremento en las concentraciones circulantes de adiponectina es su efecto protector ante una inflamación crónica, así como la regulación de la ingesta alimenticia y el peso corporal (Kadowaki T, 2005)

Ya es conocido que la PS incrementa las concentraciones circulantes de IL-6, y podemos observar en nuestro trabajo como las concentraciones se mantienen elevadas durante todos los grupos experimentales excepto 4PSMOR, se sabe que la secreción de IL-6 es en gran parte inhibida por los glucocorticoides y estrógenos y que altas dosis de corticosterona disminuyen SOL pero bajas dosis lo incrementan (Vázquez et. al., 2001) lo que podría explicar por qué en la dinámica de la PS a varios periodos observamos el incremento de corticosterona hasta 8PSMOR ya que

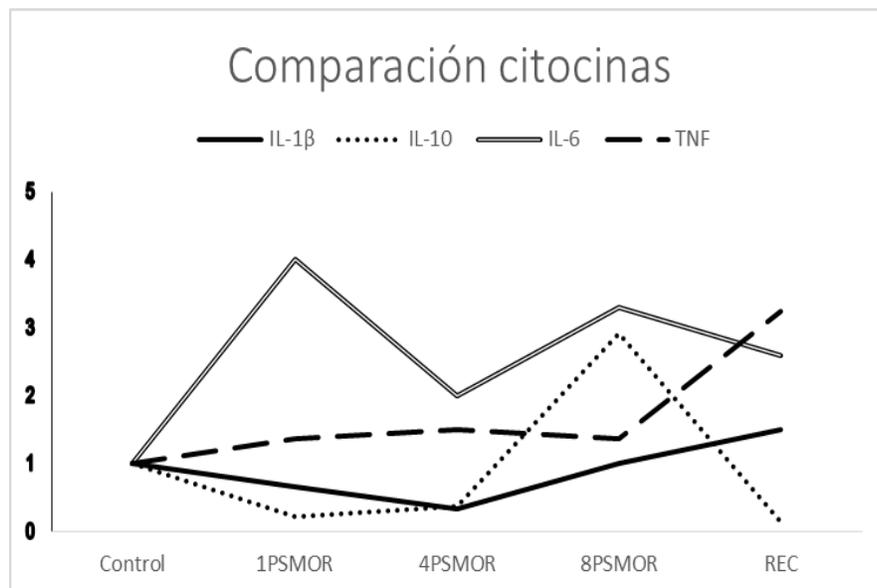
de alguna forma es importante para el sistema mantener los niveles elevados de IL-6 al principio de la PS, pero con forme las concentraciones se mantienen elevadas un posible mecanismo de restablecimiento se da a través del incremento en las concentraciones de corticosterona. Se ha considerado ya de manera general que las citocinas antiinflamatorias inhiben SOL mientras que las proinflamatorias lo promueven (Kapsimalis et. al., 2005)

Dosis exógenas de IL-6 se asocian con una disminución de MOR y un pequeño decremento de SOL en la primera parte de la noche pero que se sigue de un incremento en la segunda mitad de la noche (Marshall y Born, 2002). Existen algunos estudios y evidencias de que la relación entre las cantidades de células circulantes que tienen la capacidad de liberar citocinas se incrementan por la PS, pero algunos estudios han reportado diferencias en los niveles de citocinas proinflamatorias independiente al número de células o su actividad. Esto se puede explicar considerando otras fuentes de citocinas como son macrófagos, tejido adiposo, epitelio y endotelio (Klein-Wieringa et. al., 2013). Es muy importante tener en cuenta las consecuencias de la falta de sueño, condiciones clínicas como enfermedades cardiovasculares, artritis, diabetes, algunos tipos de cáncer, obesidad y un declive funcional fisiológico se asocia con la activación de señales celulares que inician con la expresión de citocinas proinflamatorias (Karin y Greten, 2005; Knutson, 2007; Irwin et. al., 2008).

El incremento en la IL-6 puede ser un mecanismo compensatorio para la supresión de la inflamación a través de la activación de citocinas antiinflamatorias (Irwin et. al.,

2008), tal vez por ello si la IL-6 disminuye a 4PSMOR permite que las concentraciones de IL-10 se eleven en 8PSMOR, de alguna manera el organismo se encuentra en una búsqueda para mantener lo mejor posible la estabilidad, buscando disminuir los efectos adversos que puedan dañarlo de manera crónica.

IL-6 aunque es principalmente un citocina pro inflamatoria, también se involucra en procesos antiinflamatorios como la inhibición de TNF e IL-1 así como la estimulación de IL-10, es por ello que observamos que se mantienen elevada durante casi todos los periodos de PSMOR y pasando el tiempo de recuperación, de manera muy significativa pasando en este último grupo experimental el RNAm de IL-6 se encuentra sobreexpresado.

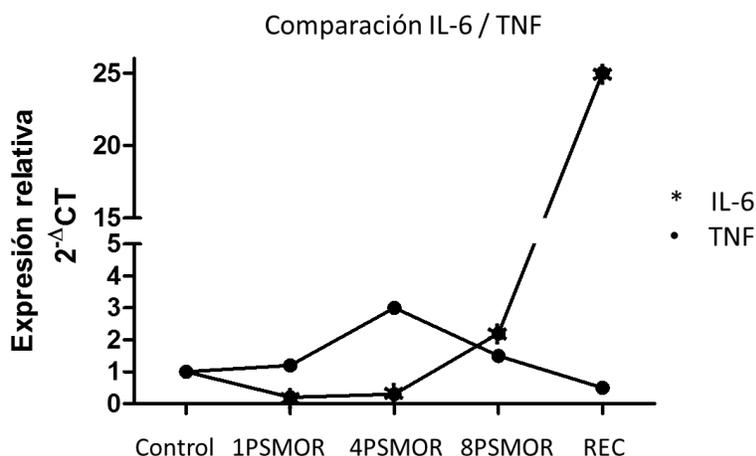


**Fig.10** Figura comparativa de la secreción de citocinas por efecto de los diferentes periodos de PSMOR y su recuperación con valores normalizados.

Se puede observar que la PSMOR induce una secreción constante de IL-6 y que a mayor periodo de PSMOR parece jugar un importante papel en la regulación del tipo anti inflamatorio, pues favorece a que IL-1 $\beta$  mantenga sus concentraciones por debajo del nivel basal, de igual forma mantiene las concentraciones de TNF bajo control hasta que llega al periodo mas prolongado de PSMOR, así mismo se favorece a que las concentraciones de IL-10 se incrementen en 8PSMOR, sin embargo, pasando 20 días de recuperación después del periodo más prolongado de PSMOR, dicha actividad parece ya no ser tan clara, por lo que podríamos pensar que se necesita de un periodo más prolongado de recuperación para volver a las condiciones habituales de la liberación de citocinas o bien que el organismo ha desarrollado una nuevo proceso compensatorio ante la alteración producida por la PSMOR.

En relación con algunos reportes, se ha demostrado que 5 noches de 4h de sueño en hombres sanos aumenta el RNAm de IL-1 $\beta$  pero no en proteína (Van Leeuwen et. al., 2009). Y que la pérdida de sueño puede propiciar la expresión de TNF (potente inductor de la vía de señalización NF- $\kappa$ B), la activación de esta vía se piensa que contribuye a la fisiopatología de enfermedades como la diabetes, enfermedades cardiovasculares y aterosclerosis (Bierhaus et. al., 2003). Se sabe que una noche de 4 hrs de sueño incrementa los niveles circulantes de monocitos y del RNAm de IL-6 y TNF (Irwin et. al., 2006) y que una noche de restricción de sueño en humanos aumenta el RNAm de TNF (Irwin et. al., 2006) pero curiosamente una restricción de sueño de dos siestas de 2 horas cada una, parece no tener efecto sobre el TNF

(Shearer et. al., 2001), estos resultados son comparables a los observados pues aunque el RNAm de TNF se incrementa en 4PSMOR, los niveles circulantes se modifican únicamente pasando el periodo de recuperación de 20 días.



**Fig. 11** Figura comparativa entre la cantidad de RNAm de IL-6 y TNF por efecto de los diferentes periodos de PSMOR y su recuperación.

Se puede observar que en relación con TNF la expresión de IL-6 se mantiene disminuída y la expresión de TNF se observa mayor en los diferentes periodos de PSMOR, hasta el periodo de 8PSMOR donde los niveles de expresión parecen revertirse. TNF es una citocina que puede inducir de manera crónica daños en los tejidos, tal vez sea por eso que el organismo mantiene los niveles de secreción y que se observe un incremento en sus concentraciones hasta el periodo de recuperación, aunque su expresión en tejido adiposo se incrementa en 4PSMOR no se percibe TNF secretado hasta 8PSMOR, tal vez se deba a sus efectos directos sobre el tejido

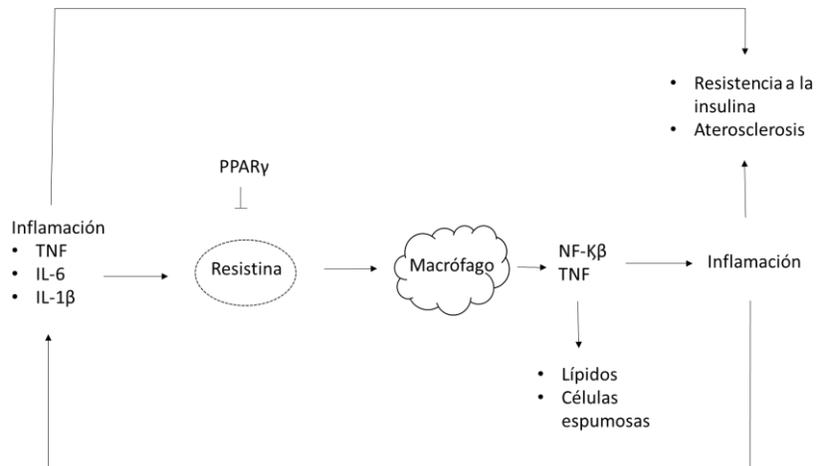
adiposo como son: inducción de apoptosis, lipólisis, inhibición de adipogénesis y señalización de la insulina (Gao et. al., 2002 y 2006).

IL-1 $\beta$  ha demostrado ser un potente somnógeno así como un potente pirógeno (Krueger y Madge, 2003) de hecho; IL-1 $\beta$  es una de las moléculas más neurológicamente activas (Krueger y Madge, 2003), pero nosotros consideramos que dichas funciones no se presentan como una respuesta constante, en nuestro trabajo hemos encontrado que la PSMOR a un periodo corto disminuye las concentraciones de IL-1 $\beta$  y es hasta el periodo de recuperación cuando podemos encontrar un importante incremento en las concentraciones circulantes de IL-1 $\beta$ .

Existe el antecedente en humanos que después de la recuperación de sueño, en donde las personas fueron sometidas a 5 noches de 4hr de sueño y 3 noches de 8 h a modo de recuperación, los niveles de RNAm de IL-6, IL-1 $\beta$  y TNF no regresan a sus niveles basales por completo (Van Leeuwen et. al, 2009), pero nosotros hemos encontrado en roedores que pasando el periodo de recuperación de 20 días el cual consideramos bastante prolongado, si se logran restablecer los niveles de RNAm de TNF pero no así el RNAm de IL-6.

Al igual que la leptina, la resistina es una importante adiponectina que se ha relacionado con el desbalance energético, es principalmente secretada por adipocitos blancos maduros en roedores (Rajala, 2004), y en humanos por macrófagos (Patel et. al., 2003) y se suprime por citocinas inflamatorias como TNF. La expresión de resistina se disminuye en tejido adiposo durante el ayuno y tiene a incrementar al momento de la realimentación en ratones (Rajala, 2004),

curiosamente en el periodo de PSMOR donde se incrementa la expresión de resistina es el periodo previo a la hiperfagia (4PSMOR), pero el efecto que observamos en la expresión de resistina puede no estar siendo regulado exclusivamente de manera metabólica sino también inflamatoria,



**Esquema 4.** Participación de la resistina en la respuesta inflamatoria

Se ha visto que la resistina disminuye sus niveles con la administración de tiazolidinediona tanto en roedores como en humanos (Park y Ahima, 2013), por lo que la expresión de PPARγ puede estar contribuyendo a que en el progreso de la PSMOR no se exprese nuevamente la resistina. Pero, la resistina es inducida en parte por estímulos pro inflamatorios como TNF, IL-6, IL-1β, por lo que también se sugiere que juega un importante papel en la inflamación (Park y Ahima, 2013) ya que estimula a que en los macrófagos se active la vía de señalización NF-κB y se genere una respuesta inflamatoria, lo que de manera crónica puede favorecer al desarrollo de resistencia a la insulina y/o aterosclerosis.

Al igual que las citocinas, existen otro tipo de moléculas que participan en la regulación de múltiples vías y que han sido estudiados como biomarcadores de diversas enfermedades, nos referimos a los microRNAs (miRNAs). Nuestros resultados muestran que existen importantes alteraciones en los niveles de expresión de los miRNAs en suero de ratas privadas a diferentes periodos de PSMOR, se observan alteraciones en los niveles de expresión de miRNA 16, 155, 146a, 126 y 223, la mayoría de las diferencias en el nivel de expresión se encuentran en 1PSMOR donde observamos cómo aumentan tres miRNAs (miRNA 146a, miRNA 223 y miRNA 155), los cuales están vinculados a la respuesta inflamatoria gracias a su capacidad para regular los tipos celulares a través de receptores tipo toll, citocinas inflamatorias y antígenos específicos ( Taganov et. al., 2006; Feng et. al., 2013). miRNA 146a al igual que el 155 y son considerados por excelencia como moduladores de inflamación (inductores de inmunidad innata), por lo que en 1PSMOR reflejan una actividad moduladora a favor de la inflamación y parece ser que el incremento en estos miRNAs tiene como objetivo la inducción de una inflamación aguda, miRNA 223 está principalmente involucrado en la tumorigénesis, pero tiene implicaciones importantes para la respuesta inflamatoria respondiendo a la PSMOR aguda, pues se sabe que miRNA 16 y miRNA 223 tienen secuencias complementarias a las UTR del gen I $\kappa$ B, que son esenciales para la activación de la vía de señalización de NF- $\kappa$ B (Xu et. al., 2011) jugando importante papel en la

regulación de producción de citocinas y se cree que su respuesta se asemeja a la de IL-6.

Por lo tanto, estos miRNAs desempeñan un papel importante en la regulación de la producción de citocinas y, aparentemente, tienen una respuesta similar a las citocinas, por tanto el hecho de que a 1PSMOR se incrementen estos miRNAs nos sugiere una respuesta de inflamación aguda, gracias a la activación de NFκB favoreciendo la secreción de citocinas proinflamatorias como IL-1β, IL-6 y TNF, posterior a esta respuesta podemos observar que miRNA 223 disminuye en 4PSMOR después de haberse elevado en 1PSMOR, se cree que miRNA 223 participa en el proceso de tumorigénesis pero en este caso el efecto que implica la disminución de miRNA 223 por efecto de 4PSMOR sea un mecanismo para reprimir la vía de señalización NFκB y que disminuya la secreción de citocinas pro inflamatorias, de hecho se sabe que la disminución de miRNA 223 se relaciona con la muerte inducida por sepsis.

Un periodo más prolongado de PSMOR disminuye las concentraciones de miRNA 126 y miRNA 16. miRNA 126 a diferencia de los otros 5 miRNAs se expresa altamente en las células endoteliales (Harris et al, 2008), mientras que miRNA 16 se ha estudiado más en relación a la formación de tumores, pero también su participación en la respuesta inflamatoria y recientemente se encontró que miRNA 16 se asocia con el sistema inmune innato mediante la vía de señalización no-canónica NF-κB (Li T, Morgan MJ, Choksi S, Zhang Y, Kim YS, Liu ZG).

Cuando las concentraciones de miRNA 126 y miRNA 16 disminuyen, se relacionan con la progresión de anomalías cardíacas, por ejemplo, en pacientes con arterias coronarias estrechas el miRNA 126 es significativamente más bajo en relación a su grupo control, por lo que el miRNA 126 puede ser un importante biomarcador ante cardiopatías (Nie et. al., 2014).

Pero el hecho que estos miRNAs disminuyan no nos estarían hablando directamente de la presencia de alguna alteración cardíaca, nosotros creemos que a 8PSMOR el miRNA 16 disminuye para propiciar un efecto anti inflamatorio al no activar la vía de señalización NFκB, pues se cree que regula la activación de macrófagos y producción de adipocinas, observado en alergias, además de promover la angiogénesis.

A pesar de que la mayoría de las modificaciones en los niveles de expresión de miRNAs son visibles en los periodos de PSMOR, miRNA 21, solo se modifica pasando el periodo de recuperación. Nuestros resultados son muy interesantes, ya que este es el primer estudio para demostrar cambios en las concentraciones de los miRNA circulantes como parte de la respuesta inflamatoria en respuesta a diferentes períodos PSMOR y su recuperación. Las concentraciones de miRNA 21 se incrementan pasando el período de recuperación, pero esto puede ser bueno debido a que miRNA 21 juega un papel importante en la regulación de la apoptosis y la proliferación celular, se ha demostrando que miRNA 21 protege el miocardio de cardiotoxicidad (Tong et. al., 2015). El aumento de los niveles de miRNA 21 después de los 20 días de recuperación resulta interesante, pues se ha demostrado que

miRNA 21 reduce el daño inducido por isquemia (Olson et. al., 2015), el papel de miRNA 21 es complejo porque contribuye con la protección ante las lesiones renales, pero cuando sus concentraciones permanecen altas pueden promover la fibrosis intersticial renal (Xu et. al., 2014), por lo tanto miRNA 21 puede desempeñar un papel crucial en el desarrollo de fibrosis y promueve la proliferación de fibroblastos intersticial y aumentar la deposición anormal de matriz extracelular. (Huang et. al., 2015). Por tanto el incremento de miRNA 21 por efecto de la PSMOR en el periodo de recuperación representa un mecanismo de protección e incluso restauración, pero es importante comprobar que su expresión no se mantenga elevado, pues esto implicaría una respuesta negativa para los tejidos provocando fibrosis, además de ello, miRNA 21 es un importante blanco de estudio en la fisiopatología de la obesidad, y la disminución de sus concentraciones se relacionan con el progreso de la diabetes, lo mismo ocurre con la disminución de miRNA 146a, miRNA 126 y miRNA 223 (Haider et. al., 2014).

Desgraciadamente no sabemos cuanto tiempo se deba considerar suficiente para que después de ese periodo se desarrolle una nueva condición reguladora provocada por la ruptura de la homeostasis inducida con la PSMOR.

## 18. CONCLUSIÓN

La PSMOR induce importantes alteraciones tanto metabólicas como inflamatorias, consideramos que la mayor de las alteraciones es la respuesta inflamatoria la cual parece no resolverse con un periodo de recuperación prolongado, aparentemente el organismo expuesto a 8PSMOR genera mecanismos compensatorios para hacer frente a las nuevas demandas producidas.

La respuesta del organismo a la PSMOR es completamente dependiente al tiempo de PSMOR, es por ello que no se ha logrado unificar una respuesta integrativa ya que cada grupo de investigación ha utilizado diferentes modelos y tiempos de PSMOR.

No son suficientes 20 días de recuperación para reestablecer todas las variaciones provocadas por 8PSMOR.

Se considera que la PSMOR rompe la homeostasis y el mecanismo inflamatorio generando nuevos mecanismos compensatorios que de no resolverse derivarán en el desarrollo de alguna patología como lo es resistencia a la insulina, diabetes y obesidad.

## PERSPECTIVAS

Consideramos de gran interés evaluar diferentes periodos de recuperación después de la PSMOR, así como, extender el periodo de recuperación planteado (20 días), esto, con la finalidad de evaluar si las alteraciones en la regulación inflamatoria puede revertirse o prevalece.

**Tabla V.** Recomendaciones generales sobre la higiene del sueño

### **Higiene del sueño**

- 1** Acostarse siempre a la misma hora
- 2** Limitar la permanencia de la cama a un máximo de 8 horas
- 3** Mantener la habitación en las mejores condiciones posibles
- 4** Separar la hora de acostarse de la cena
- 5** Restrinja los líquidos antes de acostarse
- 6** Evitar sustancias estimulantes: alcohol, tabaco, café, etc.
- 7** Evitar estímulos mentales
- 8** No utilizar el dormitorio como cuarto de trabajo o televisión
- 9** Evitar siestas durante el día
- 10** Realice ejercicio físico durante el día
- 11** Si no concilia el sueño en 30 min levántese y realice otra actividad tranquila

Tomado y modificado de: Merino y Pellón (2007)

## 19. BIBLIOGRAFÍA

- Ahima RS, Saper CB, Flier JS, Elmquist JK (2000) Leptin regulation of neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol* 21:263–307.
- Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol.* 1993;54:1-78.
- Al-Khalili L, Bouzakri K, Glund S, Lönnqvist F, Koistinen HA, Krook A (2006) Signaling specificity of interleukin-6 action on glucose and lipid metabolism in skeletal muscle. *Mol Endocrinol.* 20(12):3364-75.
- Amici R, Cerri M, Ocampo-Garcés A, Baracchi F, Dentico D, Jones CA et al. (2008) Cold exposure and sleep in the rat: REM sleep homeostasis and body size. *Sleep*;3:708-15
- Arner P. (2005) Insulin resistance in type 2 diabetes:role of the adipokines. *Curr Mol Med* ;5:333-9.
- Bagnasco M, Tulipano G, Melis MR, Argiolas A, Cocchi D & Muller EE (2003) Endogenous ghrelin is an orexigenic peptide acting in the arcuate nucleus in response to fasting. *Regul Pept* 111, 161–167.
- Barf RP, Van Dijk G, Scheurink AJ, Hoffmann K, Novati A, Hulshof HJ, Fuchs E, Meerlo P. (2012) Metabolic consequences of chronic sleep restriction in rats: changes in body weight regulation and energy expenditure. *Physiol Behav*;107(3):322-8.
- Bartel DP. (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*;116(2):281-97.
- Barone MT1, Menna-Barreto L. (2011) Diabetes and sleep: a complex cause-and-effect relationship. *Diabetes Res Clin Pract*; 91(2):129-37.
- Benedict C et al (2011) Acute sleep deprivation reduces energy expenditure in healthy men. *Am J Clin Nutr* 93:1229–1236

- Benington JH, Heller HC (1995). Restoration of brain energy metabolism as the function of sleep. *Prog Neurobiol* 45:347-360.
- Berczi I (1998). The stress concept and neuroimmunoregulation in modern biology. *Ann N Y Acad Sci*; 851:3-12.
- Berger JP, Akiyama TE, Meinke PT (2005). PPARs: therapeutic targets for metabolic disease. *Trends Pharmacol Sci*; 26:244-251.
- Bierhaus A, Wolf J, Andrassy M, Rohleder N, Humpert PM, Petrov D, Ferstl R, von Eynatten M, Wendt T, Rudofsky G, Joswig M, Morcos M, Schwaninger M, McEwen B, Kirschbaum C, Nawroth PP (2003) A mechanism converting psychosocial stress into mononuclear cell activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100:1920-5.
- Blaak EE, Wagenmakers AJ, Glatz JF, Wolffenbuttel BH, Kemerink GJ, Heidendal GA, Saris WH (2000) Plasma FFA utilization and fatty acid-binding protein content are diminished in type 2 diabetic muscle. *Am J Physiol*; 279:E146-E154
- Bodosi B, Gardi J, Hajdu I, Szentirmai E, Obal F Jr & Krueger JM (2004) Rhythms of ghrelin, leptin, and sleep in rats: effects of the normal diurnal cycle, restricted feeding, and sleep deprivation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287, R1071–R1079.
- Boesen EI, Pollock DM (2007). Effect of chronic IL-6 infusion on acute pressor responses to vasoconstrictors in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 293(3):H1745-9.
- Bonnet M, Arand D. (2001). Clinical effects of sleep fragmentation versus sleep deprivation. *Sleep Med* ;3(7):297–310.
- Bonet ML., Ribot J., Felipe E., Palou A. (2003) Vitamin A and the regulation of fat reserves. *Cell Mol Life Sci*:60;1311-1321.

- Borbely, A. (1982). A two process model of sleep regulation. *Hum. Neurobiol.* 1, 195 – 204.
- Born J, Lange T, Hansen K, Mölle M, Fehm HL (1997). Effects of sleep and circadian rhythm on human circulating immune cells. *J Immunol.* 158:4454-64.
- Bornstein S, Uhlmann K, Haidan A, Ehrhart-Bornstein M, Scherbaum WA. (1997). Evidence for a novel peripheral action of leptin as a metabolic signal to the adrenal gland: leptin inhibits cortisol release directly. *Diabetes* ;46 1235–1238.
- Bosity-Westphal A et al (2008) Influence of partial sleep deprivation on energy balance and insulin sensitivity in healthy women. *Obes Facts* 1:266–273
- Bray GA, Most M, Rood J, Redmann S, Smith SR (2007). Hormonal responses to a fast-food meal compared with nutritionally comparable meals of different composition. *Ann Nutr Metab*; 51(2):163-71.
- Brianza-Padilla M, Bonilla-Jaime H, Almanza-Pérez JC, López-López AL, Sánchez-Muñoz F, Vázquez-Palacios G (2015). Effects of different periods of paradoxical sleep deprivation and sleep recovery on lipid and glucose metabolism and appetite hormones in rats. *Appl Physiol Nutr Metab*; 41(3):235-43.
- Brondel L, Romer MA, Nougues PM, Touyarou P, Davenne D (2010). Acute partial sleep deprivation increases food intake in healthy men. *Am J Clin Nutr* 91:1550–1559
- Buckley T.M. and Schatzberg A.F (2005). On the Interactions of the HypothalamicPituitary-Adrenal (HPA) Axis and Sleep: Normal HPA Axis Activity and Circadian Rhythm, Exemplary Sleep Disorders. *J Clin Endocrinol Metab*; 90, 3106-14.
- Calvani R, Marini F, Cesari M, Buford TW, Manini TM, Pahor M, Leeuwenburgh C, Bernabei R, Landi F, Marzetti E (2016). Systemic

inflammation, body composition, and physical performance in old community-dwellers J Cachexia Sarcopenia Muscle. doi: 10.1002/jcsm.12134.

- Cardona (2006). Servicio de Farmacia. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. Nutr. Hosp. (2006) 21 (Supl. 3) 17-26
- Carey AL, Steinberg GR, Macaulay SL, Thomas WG, Holmes AG, Ramm G, Prelovsek O, Hohnen-Behrens C, Watt MJ, James DE, Kemp BE, Pedersen BK, Febbraio MA (2006). Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP-activated protein kinase. Diabetes.;55(10):2688-97.
- Castrejón V., Carbó R., Martínez M (2007). Mecanismos moleculares que intervienen en el transporte de la glucosa. REB 26(2): 49-57.
- Castro RE, Ferreira DM, Afonso MB, et al. (2013). miR-34a/SIRT1/p53 is suppressed by ursodeoxycholic acid in the rat liver and activated by disease severity in human non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol; 58:119–25.
- Chang J, Nicolas E, Marks D, Sander C, Lerro A, Buendia MA et al. (2004). miR-122, a mammalian liver-specific microRNA, is processed from PCR mRNA and may downregulate the high affinity cationic amino acid transporter CAT-1. RNA Biol; 1:106–113.
- Chuang JC, Perello M, Sakata I, Osborne-Lawrence S, Savitt JM, Lutter M, Zigman JM (2011). Ghrelin mediates stress-induced food-reward behavior in mice. J Clin Invest; 121(7):2684-92.
- Coenen A, Van Luijtelaar E (1985). Stress induced by three procedures of deprivation of paradoxical sleep. Physiol Behav;35 (4):501-4.
- Cohen HB, Dement WC (1965). Sleep: changes in threshold to electroconvulsive shock in rats after deprivation of "paradoxical" phase. Science.; 150(3701):1318-9.
- Combs TP, Berg AH, Obici S, et al (2001). Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. J Clin Invest; 108:1875–81.

- Cortés Romero C. E (2011). Estrés y cortisol: implicaciones en la memoria y el sueño. *Elementos* 82; 33-38
- Cortez MA, Calin GA (2009). MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases. *Expert Opin Biol Ther.*; 9(6):703-711.
- Cowley MA, Smith RG, Diano S, et al. (2003) The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 37, 649–661.
- Culebras A (1992). Update on disorders of sleep and the sleep-wake cycle, *Psychiatr Clin North Amer*; 15:467-484.
- Daniel JA, Foradori CD, Whitlock BK, Sartin JL (2013). Hypothalamic integration of nutrient status and reproduction in the sheep. *Reprod Domest Anim.*; 48 Suppl 1:44-52.
- Dehoux MJ, Van-Beneden RP, Fernandez-Celemin L, Lause PL, Thiissen JP (2003). Induction of MafBx and Murf ubiquitin ligase mRNAs in rat skeletal muscle after LPS injection. *FEBS Lett*; 544:214–7.
- Davis CJ, Bohnet SG, Meyerson JM, Krueger JM (2007). Sleep loss changes microRNA levels in the brain: a possible mechanism for state-dependent translational regulation. *Neurosci Lett*; 422(1):68-73.
- Davis CJ, Clinton JM, Taishi P, Bohnet SG, Honn KA, Krueger JM (2011). MicroRNA 132 alters sleep and varies with time in brain. *J Appl Physiol* (1985); 111(3):665-72.
- Davis CJ, Clinton JM, Krueger JM (2012) MicroRNA 138, let-7b, and 125a inhibitors differentially alter sleep and EEG delta-wave activity in rats. *J Appl Physiol* (1985); 113(11):1756-62.

- de Mattos AB, Pinto MJ, Oliveira C, Biz C, Ribeiro EB, do Nascimento CM, Andersen ML, Tufik S, Oyama LM (2008). Dietary fish oil did not prevent sleep deprived rats from a reduction in adipose tissue adiponectin gene expression. *Lipids Health Dis.*; 7:43. doi: 10.1186/1476-511X-7-43.
- DeVos P, Saladin R, Auwerx J, Staels B (1995). Induction of ob gene expression by corticosteroids is accompanied by body weight loss and reduced food intake. *J Biol Chem*; 270:15958–15961.
- Dietze-Schroeder D, Sell H, Uhlig M, Koenen M, Eckel J (2005). Autocrine action of adiponectin on human fat cells prevents the release of insulin resistance-inducing factors. *Diabetes* 54:2003–2011.
- Dourlen P, Bertin B, Chatelain G, Robin M, Napoletano F, Roux MJ, Mollereau B (2012). Drosophila fatty acid transport protein regulates rhodopsin-1 metabolism and is required for photoreceptor neuron survival. *PLoS Genet* .8(7):e1002833.
- Dvorkin M, Cardinali D. Best & Tylor (2010). Bases fisiológicas de la práctica médica. 14a edición en español. Editorial Panamericana, Capítulo 42 777-785
- Elomaa E (1981). The light/dark difference in meal size in the laboratory rat on a standard diet is abolished during REM sleep deprivation. *Physiol Behav*; 26(3):487-93.
- Escher P., Braissant O., Basu-Modak S., Michalik L., Wahli W., Desvergne B. (2001). Rat PPARs: quantitative analysis in adult rat tissues and regulation in fasting and refeeding. *Endocrinology*:142;4195-4202.
- Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet* 2011;12:861-74
- Everson C, Bergmann B, Rechtschaffen A (1989). Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation. *Sleep*; 12:13-21.

- Everson CA, Crowley WR (2004). Reductions in circulating anabolic hormones induced by sustained sleep deprivation in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 286:E1060-70).
- Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Löllmann B, Lowell BB, Flier JS (1995). Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med.*; 1(12):1311-4.
- Fatehi-Hassanabad Z. y Chan CB (2005). Transcriptional regulation of lipid metabolism by fatty acids: a key determinant of pancreatic  $\beta$ -cell function. *Nutr Metab*:2;1-12.
- Fantuzzi G (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*; 115(5):911-9; quiz 920.
- Feng DQ, Huang B, Li J, Liu J, Chen XM, Xu YM, Chen X, Zhang HB, Hu LH, Wang XZ (2013). Selective miRNA expression profile in chronic myeloid leukemia K562 cell-derived exosomes. *Asian Pac J Cancer Prev*; 14(12):7501-8.
- Filella, R. Molina y AM (2002). Estructura y función de las citocinas. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona. *Med Integral*; 39(2):63-71
- Franken P, Dijk DJ, Tobler I, Borbély AA (1991). Sleep deprivation in rats: effects on EEG power spectra, vigilance states, and cortical temperature. *Am J Physiol.*; 261(1 Pt 2):R198-208.
- Frey DJ, Fleshner M, Wright KP Jr (2007). The effects of 40 hours of total sleep deprivation on inflammatory markers in healthy young adults. *Brain Behav Immun*, 21:1050-7
- Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR (2010) Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*; 316(2):129-39.

- Gao Z, Hwang D, Bataille F, Lefevre M, York D, Quon MJ et al (2002). Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor Kappa B kinase complex. *J Biol Chem*; 277: 48115, 48121.
- Gao Z, He Q, Peng B, Chiao PJ, Ye J (2006). Regulation of nuclear translocation of hdac3 by ikba is required for tumor necrosis factor inhibition of peroxisome proliferator- activated receptor gamma function. *J Biol Chem*; 281:4540-4547
- Gerin I, Bommer GT, McCoin CS, et al (2010). Roles for miRNA-378/ 378\* in adipocyte gene expression and lipogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 299:E198–206.
- Germain A, Nielsen TA (2003). Sleep pathophysiology in PTSD and idiopathic nightmare sufferers. *Biol Psychiatr*; 54:1092–8.
- Ghiasvand M, Heshmat R, Golpira R, Haghpanah V, Soleimani A, Shoushtarizadeh P, Tavangar SM, Larijani B (2007). Shift working and risk of lipid disorders: a cross-sectional study. *Diabetes.*; 56(6):1630-7.
- Glund S, Deshmukh A, Long YC, Moller T, Koistinen HA, Caidahl K, Zierath JR, Krook A (2012). Interleukin-6 directly increases glucose metabolism in resting human skeletal muscle. *Endocrinol Nutr.*; 59(1):50-61.
- Gómez-Abellán P, Madrid JA, Ordovás JM, Garaulet M (2012) Chronobiological aspects of obesity and metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci.*; 1261:97-106.
- Gómez-González B, Domínguez-Salazar E, Hurtado-Alvarado G, Esqueda-Leon E, Santana-Miranda R, Rojas-Zamorano JA, Velázquez-Moctezuma J (2012). Role of sleep in the regulation of the immune system and the pituitary hormones. *Ann N Y Acad Sci.*; 1261:97-106.
- Gottesmann C (1992). Detection of seven sleep-waking stages in the rat. *Neurosci Biobehav Rev.* Spring; 16(1):31-8.

- Grandner MA, Sands-Lincoln MR, Pak VM, Garland SN (2013). Sleep duration, cardiovascular disease, and proinflammatory biomarkers. *Nat Sci Sleep*; 5:93-107.
- Gruetter R (2003). Glycogen: the forgotten cerebral energy store. *J Neurosci Res* 74:179-183.
- Guilleminault C, Powell N, Martinez S (2003). Preliminary observations on the effects of sleep time in a sleep restriction paradigm. *Sleep Med*; 4:177-84.
- Ha M, Park J (2005). Shiftwork and metabolic risk factors of cardiovascular disease. *J Occup Health*; 47(2):89-95.
- Haider BA, Baras AS, McCall MN, Hertel JA, Cornish TC, Halushka MK. (2014). A critical evaluation of microRNA biomarkers in non-neoplastic disease. *PLoS One* 26;9 (2):e89565.
- Haluzik M, Parizkova J, Haluzik MM (2004). Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications. *Physiol Res*; 53: 123-9.
- Hanlon EC, Andrzejewski ME, Harder BK, Kelley AE, Benca RM (2005). The effect of REM sleep deprivation on motivation for food reward. *Behav Brain Res*; 163(1):58-69.
- Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, Mendell JT, Lowenstein CJ (2008). MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 105(5):1516-21.
- Hasler G et al (2004) The association between short sleep duration and obesity in young adults: a 13-year prospective study. *Sleep* 27:661–666
- Haugen F, Jorgensen A, Drevon CA, Trayhurn P (2001). Inhibition by in-sulin of resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett*; 507: 105-8.

- Hicks RA, Moore JD, Haynes C, Phillips N, Hawkins J (1979). REM sleep deprivation increases aggressiveness in male rats. *Physiol Behav*;22:1097–100.
- Hidenori Shirai, Katsutaka Oishi , Takashi Kudo , Shigenobu Shibata , Norio Ishida (2007). PPARα is a potential therapeutic target of drugs to treat circadian rhythm sleep disorders *Bioch. and Biophys. Res. Communications* 357; 679–682
- Holm A, Bang-Berthelsen CH, Knudsen S, Modvig S, Kornum BR, Gammeltoft S, Jennum PJ (2014). MiRNA profiles in cerebrospinal fluid from patients with central hypersomnias. *J Neurol Sci*; 347(1-2):199-204
- Holmback U, Forslund A, Forslund J, Hambraeus L, Lennernas M, Lowden A, Stridsberg M & Akerstedt T (2002). Metabolic responses to nocturnal eating in men are affected by sources of dietary energy. *J Nutr* 132, 1892–1899
- Hong EG, Ko HJ, Cho YR, Kim HJ, Ma Z, Yu TY, et al (2009). Interleukin-10 Prevents Diet-Induced Insulin Resistance by Attenuating Macrophage and Cytokine Response in Skeletal Muscle. *Diabetes*;58:2525-2535.
- Hosoda H, Kojima M, Kangawa K (2006). Biological, physiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *J Pharmacol Sci*; 100(5):398-410.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM (1993). Adipose expression of tumor necrosis factor-α: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*; 259(5091):87-91.
- Hotamisligil GS (2000). Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 24 Suppl 4:S23-7.
- Hotamisligil GS (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*; 444: 861-864.
- Hotamisligil GS (2010). Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*;140(6):900-17.

- Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al (2000). Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* ;20:1595–9.
- Houseknecht KL, Cole BM, Steele PJ (2002). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) and its ligands: a review. *Domest Anim Endocrinol*; 22: 1-23.
- Howard JB, Wong J (2001). Sleep Disorders. *Pediatrics in Review*; 10: 327-42
- Huang Y, He Y, Li J (2015). MicroRNA-21: a central regulator of fibrotic diseases via various targets. *Curr Pharm Des*; 21(17):2236-42. Review.
- Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson AL, Jr., Quan SF (2007). for the American Academy of Sleep Medicine. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications. 1st ed. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine.
- Iliopoulos D, Drosatos K, Hiyama Y, et al (2010). MicroRNA-370 controls the expression of microRNA-122 and Cpt1alpha and affects lipid metabolism. *J Lipid Res*; 51:1513–23.
- Irwin M, McClintick J, Costlow C, Fortner M, White J, Gillin JC (1996). Partial night sleep deprivation reduces natural killer and cellular immune responses in humans. *FASEB J*;10:643–53.
- Irwin M (2002). Effects of sleep and sleep loss on immunity and cytokines. *Brain Behav Immun*; 16(5):503-12.
- Irwin MR, Wang M, Campomayor CO, Collado-Hidalgo A, Cole S (2006). Sleep deprivation and activation of morning levels of cellular and genomic markers of inflammation. *Arch Intern Med*; 166(16):1756-62.
- Irwin MR, Wang M, Ribeiro D, Cho HJ, Olmstead R, Breen EC, Martinez-Maza O, Cole S (2008). Sleep loss activates cellular inflammatory signaling. *Biol Psychiatry* , 64:538-40.

- Irwin MR, Carrillo C, Olmstead R (2010). Sleep loss activates cellular markers of inflammation: sex differences. *Brain Behav Immun*; 24(1):54-7.
- Issemann I, Green S (1990). Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*; 347: 645-650
- Jones, B.E (1998). The neural basis of consciousness across the sleep-waking cycle. In: Jasper, H.H., Descarries, L., Castellucci, V.F., Rossignol, S. (Eds.), *Consciousness: At the Frontiers of Neuroscience, Advances in Neurology*, vol. 77, Lippincott- Raven, Philadelphia, pp. 75–94
- Jouvet D, Vimont P, Delerme F (1964). Study of selective deprivation of the paradoxical phase of sleep in the cat. *J Physiol (Paris)*. 1964;56:381.
- Karin M, Greten FR (2005): NF-kappaB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. *Nat Rev Immunol* 5:749–59.
- Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL & Kalra PS (1999). Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocrine Rev* 20, 68–100.
- Kapás, L., Hong, L., Cady, A. B., Opp, M. R., Postlethwaite, A. E., Seyer, J. M., & Krueger, J. M (1992). Somnogenic, pyrogenic, and anorectic activities of tumor necrosis factor-alpha and TNFalpha fragments. *Am. J. Physiol.*, 263, R708–R715
- Kapsimalis F, Richardson G, Opp MR, Kryger M (2005). Cytokines and normal sleep. *Curr Opin Pulm Med*;11(6):481-4.
- Keller P, Gburcik V, Petrovic N, et al (2011). Gene-chip studies of adipogenesis-regulated microRNAs in mouse primary adipocytes and human obesity. *BMC Endocr Disord*;11:7
- Kelly LJ., Vicario PP., Thompson GM., Candelore MR., Doebber TW., Ventre J, Wu MS., Meurer R., Forrest MJ., Conner MW., Cascieri MA., Moller DE (1998). Peroxisome- proliferator –activated receptors  $\gamma$  and  $\alpha$  mediate in vivo

regulation of uncoupling protein (UCP-1, UCP-2, UCP-3) gene expression. *Endocrinology*;139;4920-4927.

- Kennedy GC (1953). "The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in rat". *Proc R Soc Lond Biol Sci*; 140:578-592.
- Kersten S (2002). Peroxisome proliferator activated receptors and obesity. *Eur J Pharmacol*:440;223-234.
- Klein-Wieringa IR<sup>1</sup>, Andersen SN, Kwekkeboom JC, Giera M, de Lange-Brokaar BJ, van Osch GJ, Zuurmond AM, Stojanovic-Susulic V, Nelissen RG, Pijl H, Huizinga TW, Kloppenburg M, Toes RE, Ioan-Facsinay A (2013). Adipocytes modulate the phenotype of human macrophages through secreted lipids. *J Immunol.* ; 191(3):1356-63.
- Knutsson A (1989) Shift work and coronary heart disease. *Scand J Soc Med Suppl* 44, 1–36.
- Knutson KL, Spiegel K, Penev P, Van Cauter E (2007). The metabolic consequences of sleep deprivation. *Sleep Med Rev* 11:163–178.
- Knutson K. (2007). Impact of sleep and sleep loss on glucose homeostasis and appetite regulation. *Sleep Med Clin*; 2: 187-97.
- Knutson K, Spiegel K, Penev P, Van Cauter E (2008). The metabolic consequences of sleep deprivation. *Sleep Med Rev*; 11: 163–178.
- Koban M and Swinson KL. (2005). Chronic REM-sleep deprivation of rats elevates metabolic rate and increases uncoupling protein-1 gene expression in brown adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289:E68–E74.
- Koban M, Stewart CV (2006). Effects of age on recovery of body weight following REM sleep deprivation of rats. *Physiol Behav*; 87(1):1-6.
- Koban M, Sita LV, Le WW, Hoffman GE (2008). Sleep deprivation of rats: the hyperphagic response is real. *Sleep*; 31(7):927-33.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H (1999). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*; 402:656–660.

- Kripke DF, Garfinkel L, Wingard DL, Klauber MR, Marler MR (2002). Mortality associated with sleep duration and insomnia. *Arch Gen Psychiatry*;59(2):131-6.
- Krueger JM, Majde JA (2003). Humoral links between sleep and the immune system: research issues. *Ann N Y Acad Sci*; 992:9-20.
- Landskroner-Eiger, S. et al (2009). Proangiogenic contribution of adiponectin toward mammary tumor growth in vivo. *Clin. Cancer Res.* 15: 3265–3276.
- Lange T, Dimitrov S, Born J (2010). Effects of sleep and circadian rhythm on the human immune system. *Ann N Y Acad Sci.*;1193:48-59.
- Larcher S, Benhamou PY, Pépin JL, Borel AL (2015). Sleep habits and diabetes. *Diabetes Metab*; 41(4):263-71.
- Leshan RL, Björnholm M, Münzberg H, Myers MG Jr (2006). Leptin receptor signaling and action in the central nervous system. *Obesity (Silver Spring).*; 14 Suppl 5:208S-212S.
- Li J, Wan Y, Guo Q, Zou L, Zhang J, Fang Y, et al (2010). Altered microRNA expression profile with miR-146a upregulation in CD4+ T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*;12:R81.
- Lindsay, R.S. et al (2002). Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet* 360:57–58.
- Lindsay MA (2008). microRNAs and the immune response. *Trends Immunol*; 29:343-51.
- Luna-Medina R, Cortes-Canteli M, Alonso M, Santos A, Martínez A, Pérez-Castillo A (2005). Regulation of inflammatory response in neural cells in vitro by thiadiazolidinones derivatives through peroxisome proliferatoractivated receptor gamma activation. *J Biol Chem*; 280: 21453-62.
- Magee CA, Kritharides L, Attia J, McElduff P, Banks E (2012). Short and long sleep duration are associated with prevalent cardiovascular disease in Australian adults. *J Sleep Res.*; 21(4):441-7.

- Mathews, C.K., Van Holde K.E., Ahern K.G. (2002) Bioquímica 3ª Ed. Pearson Educación S.A.
- Mavanji V, Teske JA, Billington CJ, Kotz CM (2013). Partial sleep deprivation by environmental noise increases food intake and body weight in obesity-resistant rats. *Obesity (Silver Spring)*. ; 21(7):1396-405.
- Maynard CL, Weaver CT (2008). Diversity in the contribution of interleukin-10 to T-cell-mediated immune regulation. *Immunol Rev*; 226:219-233.
- Malik, S. W. and Kaplan, J (2005). Sleep deprivation. *Prim. Care* 32:475:490.
- Maniam J, Morris M (2012). The link between stress and feeding behaviour. *Neuropharmacol*; 63(1): 97-110.
- Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA (2002). Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 26(11):1407-33.
- Marshall L, Born J (2002). Brain-immune interactions in sleep. *Int Rev Neurobiol*; 52: 93-131.
- Marshall NS, Glozier N, Grunstein RR (2008). Is sleep duration related to obesity? A critical review of the epidemiological evidence. *Sleep Med Rev* 12:289–298
- Martins RC, Andersen ML, Tufik S (2008). The reciprocal interaction between sleep and type 2 diabetes mellitus: facts and perspectives. *Braz J Med Biol Res*; 41(3):180-7.
- Martins PJ, Fernandes L, de Oliveira AC, Tufik S, D'Almeida V (2011). Type of diet modulates the metabolic response to sleep deprivation in rats. *Nutr Metab (Lond)*; 8(1):86.
- Marx N, Duez H, Fruchart JC, Staels B (2004). Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis. *Circ Res*; 94:1168-1178.

- Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, Hosoda H, Kojima M & Kangawa K (2000) Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Comm* 276, 905–908.
- Matos G, Scorza FA, Mazzotti DR, Guindalini C, Cavalheiro EA, Tufik S, Andersen ML (2014). The effects of sleep deprivation on microRNA expression in rats submitted to pilocarpine-induced status epilepticus. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*; 51:159-65.
- McArthur MJ, Atshaves BP, Frolov A, Foxworth WD, Kier AB, Schroeder F (1999). Cellular uptake and intracellular trafficking of long chain fatty acids. *J Lipid Res*; 40(8):1371-83.
- Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Regan MM, Price NJ, Dinges DF, et al (2004). Effect of sleep loss on C-reactive protein, an inflammatory marker of cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol*; 43:678–83.
- Mendelson W, Guthrie RD, Guynn R, Harris RL, Wyatt RJ (1974). Rapid eye movement (REM) sleep deprivation, stress and intermediary metabolism. *J Neurochem*; 22(6):1157-9.
- Mendivil CO, Koziel H, Brain JD (2015). Metabolic hormones, apolipoproteins, adipokines, and cytokines in the alveolar lining fluid of healthy adults: compartmentalization and physiological correlates. *PLoS One.*; 10(4):e0123344.
- Merino Fernández, Pellón A (2007). Trastornos del sueño *Medicine*; 9: 5550-57.
- Moran TH, Aja S, Ladenheim EE (2006). Leptin modulation of peripheral controls of meal size. *Physiol Behav*;89(4):511-6.
- Morselli, Aurore Guyon & Karine Spiegel (2012) Sleep and metabolic function *Pflugers Arch - Eur J Physiol*; 463:139–160
- Mullington JM, Chan JL, Van Dongen HP, Szuba MP, Samaras J, Price NJ, Meier-Ewert HK, Dinges DF & Mantzoros CS (2003). Sleep loss reduces

diurnal rhythm amplitude of leptin in healthy men. *J Neuroendocrinol* 15, 851–854.

- Mullington JM, Simpson NS, Meier-Ewert HK, Haack M (2010). Sleep loss and inflammation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*; 24(5):775-84.
- Nakamura K, Shimai S, Kikuchi S, Tominaga K, Takahashi H, Tanaka M, Nakano S, Motohashi Y, Nakadaira H & Yamamoto M (1997). Shift work and risk factors for coronary heart disease in Japanese blue-collar workers: serum lipids and anthropometric characteristics. *Occup Med (Lond)* 47, 142–146.
- Neilson JR, Zheng GX, Burge CB, Sharp PA (2007). Dynamic regulation of miRNA expression in ordered stages of cellular development. *Genes*; 21:578-89.
- Nguyen HC, Xie W, Yang M, Hsieh CL, Drouin S, Lee GS, Kantoff PW (2013). Expression differences of circulating microRNAs in metastatic castration resistant prostate cancer and low-risk, localized prostate cancer. *Prostate*; 73(4):346-54.
- Nie X, Su L, Zhou Y, Zhao Y, Shi D, Liu Y, Zhou Z, Zhou Y. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi* (2014). Association between plasma levels of microRNA-126 and coronary collaterals in patients with coronary artery disease;42(7):561-5. Chinese.
- Niimoto T, Nakasa T, Ishikawa M, Okuhara A, Izumi B, Deie M, et al (2010). MicroRNA-146a expresses in interleukin-17 producing T cells in rheumatoid arthritis patients. *BMC Musculoskelet Disord*;11:209
- Nilsson PM, Roost M, Engstrom G, Hedblad B, Berglund G (2004). Incidence of diabetes in middle-aged men is related to sleep disturbances. *Diabetes Care* 27(10): 2464-2469.
- Ntambi, J.M., Young-Cheul, K (2000). Adipocyte differentiation and gene expression *J. Nutr.* 130, 3122S–3126S.

- Obal F Jr, Krueger JM (2003). Biochemical regulation of non-rapid-eyemovement sleep. *Frontiers Biosci*; 8: 520-50.
- Oates M, Woodside B, Walker C. (2000). Chronic leptin administration in developing rats reduces stress responsiveness partly through changes in maternal behavior. *Hormones and Behav*; 37 366–376.
- Oishi, H. Shirai, N. Ishida, (2005). CLOCK is involved in the circadiantransactivation of peroxisome-proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in mice, *Biochem. J.* 386 575–581.
- Olson JM, Yan Y, Bai X, Ge ZD, Liang M, Kriegel AJ, Twaroski DM, Bosnjak ZJ (2015). Up-regulation of microRNA-21 mediates isoflurane-induced protection of cardiomyocytes. *Anesthesiology*;122(4):795-805.
- Opp, M. R., Obal, F., Jr., & Krueger, J. M. (1991). Interleukin 1 alters rat sleep: temporal and doserelated effects. *Am. J. Physiol.*, 260(29), R52–R58.
- Opp, E.M. Smith, T.K. (1995). Hughes, Interleukin-10 acts in the central nervous system of rats to reduce sleep, *J. Neuroimmunol.* 60; 165–168.
- Opp, M. R. 2005. Cytokines and sleep. *Sleep Med. Rev.* 9,:355 – 364.
- Ou Z, Wada T, Gramignoli R, et al (2011). MicroRNA hsa-miR-613 targets the human LXRalpha gene and mediates a feedback loop of LXRalpha autoregulation. *Mol Endocrinol*;25: 584–96.
- Padilha HG, Crispim CA, Zimberg IZ, De-Souza DA, Waterhouse J, Tufik S, de-Mello MT (2011). A link between sleep loss, glucose metabolism and adipokines. *Braz J Med Biol Res*; 44(10):992-9.
- Paniagua JA (2016). Nutrition, insulin resistance and dysfunctional adipose tissue determine the different components of metabolic syndrome. *World J Diabetes.* ; 7(19):483-514.
- Parish JM, Adam T, Facchiano L (2007). Relationship of metabolic syndrome and obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med* 3(5): 467-472.

- Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, Macphee CH, Smith SA (2003). Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun.*; 300(2):472-6.
- Patel SR, Hu FB (2008). Short sleep duration and weight gain: a systematic review. *Obesity (Silver Spring, Md)* 16:643–653
- Park HK, Ahima RS (2013). Resistin in rodents and humans. *Diabetes Metab J.*; 37(6):404-14.
- Perello M, Dickson SL (2010). Ghrelin signalling on food reward: a salient link between the gut and the mesolimbic system. *Int J Body Compos Res.*; 8(3):85-94.
- Peterson RM, Beeson L, Shulz E, Firek A, De Leon M, Balcazar H, Tonstad S, Cordero-Macintyre ZR (2015). Impacting obesity and glycemic control using a culturally-sensitive diabetes education program in Hispanic patients with type 2 diabetes. *J Neuroendocrinol*; 27(6):424-34.
- Pliquett RU, Fuhrer D, Falks S, Zysset S, Von Cramon DY, Stumvoll M (2006). “The effects of insulin on the central nervous system focus on appetite regulation”. *Horm Metab Res*; 38(7):442-446
- Polvani S, Tarocchi M, Tempesti S, Galli A (2014). Nuclear receptors and pathogenesis of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol.*; 20(34):12062-81.
- Price C, Chen J (2014). MicroRNAs in Cancer Biology and Therapy: Current Status and Perspectives. *Genes Dis*; 1(1):53-63.
- Rayner DV & Trayhurn P (2001) Regulation of leptin production: sympathetic nervous system interactions. *J Mol Med* 79, 8–20.
- Reddy JK. Y Hashimoto T (2001). Peroxisomal beta-oxidation and peroxisome –proliferator – activated receptor alpha: An adaptative metabolic system. *Annu Rev Nutr*:21;193-230.

- Rechtschaffen A, Gilliland MA, Bergmann BM, and Winter JB (1983). Physiological correlates of prolonged sleep deprivation in rats. *Science* 221: 182–184.
- Rechtschaffen A, Bergmann BM (2002), Sleep deprivation in the rat: an update of the paper. *Sleep*, 25:18-24.
- Reseland JE, Haugen F, Hollung K, Solvoll K, Halvorsen B, Brude IR, Nenseter MS, Christiansen EN, Drevon CA (2001). Reduction of leptin gene expression by dietary polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res*; 42(5):743-50.
- Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH (2000). Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*;101:1767–72.
- Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E (2006). The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol (Oxf)*; 64(4):355-65.
- Rottiers V, Najafi-Shoushtari SH, Kristo F, et al (2011). MicroRNAs in metabolism and metabolic diseases. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*; 76:225–33.
- Scheen AJ (1999) Clinical study of the month. Does chronic sleep deprivation predispose to metabolic syndrome? (article in French). *Rev Me´d Lie`ge* 54, 898–900.
- Scheja L, Heeren J (2016). Metabolic interplay between white, beige, brown adipocytes and the liver. *J Hepatol.*; 64(5):1176-86.
- Schmuth M, Jiang YJ, Dubrac S, Elias PM, Feingold KR (2008). Thematic review series: skin lipids. Peroxisome proliferator activated receptors and liver X receptors in epidermal biology. *J Lipid Res*; 49:499-509.
- Schulze G (2004). Sleep protects excitatory cortical circuits against oxidative damage. *Med Hypotheses*; 63(2):203-7.

- Schussler P, Uhr M, Ising M, Weikel JC, Schmid DA, Held K, Mathias S & Steiger A (2006). Nocturnal ghrelin, ACTH, GH and cortisol secretion after sleep deprivation in humans. *Psychoneuroendocrinology* 31, 915–923.
- Shearer WT, Reuben JM, Mullington JM, Price NJ, Lee BN, Smith EO, et al (2001). Soluble TNF-alpha receptor 1 and IL-6 plasma levels in humans subjected to the sleep deprivation model of spaceflight. *J Allergy Clin Immunol*; 107:165–70.
- Shojima N, Sakoda H, Ogihara T, Fujishiro M, Katagiri H, Anai M, Onishi Y, Ono H, Inukai K, Abe M, Fukushima Y, Kikuchi M, Oka Y, Asano T (2002). Humoral regulation of resistin expression in 3T3-L1 and mouse adipose cells. *Diabetes*; 51: 1737-44.
- Siegel, JM (2005). Clues to the functions of mammalian sleep. *Nature* 437: 1264-1271.
- Silha JV, Krsek M, Skrha JV, Sucharda P, Nyomba BL, Murphy LJ (2003). Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *Eur J Endocrinol*; 149: 331-5
- Simon C, Gronfier C, Schlienger J, Brandenberger G (1998). Circadian and ultradian variations of leptin in normal man under continuous enteral nutrition: Relationship to sleep and body temperature. *J Clin Endocrinol Metab*; 83:1893–1899.
- Sinton CM, Fitch TE, Gershenfeld HK (1999). The effects of leptin on REM sleep and slow wave delta in rats are reversed by food deprivation. *J Sleep Res* 8:197–203
- Sliker L, Sloop K, Surface P, Kriauciunas A, LaQuier F, Manetta J, Bue-Valleskey J, Stephens T (1996). Regulation of expression of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. *J Biol Chem*; 271:5301–5304.

- Spiegel K et al (2004). Leptin levels are dependent on sleep duration: relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metabol* 89:5762–5771
- Spiegel K, Tasali E, Penev P, Van Cauter E.(2004). Brief communication: sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med*; 141:846–50.
- Spiegel K. et al (2005). Sleep loss: a novel risk factor for insulin resistance and Type 2 diabetes. *Journal of Applied Physiology* 99:2008-19.
- Spiegel K (2008). Sleep loss as a risk factor for obesity and diabetes. *Int J Pediatr Obes*; 3 Suppl 2:27-8.
- Spiegel K, Tasali E, Leproult R, Scherberg N, Van Cauter E (2011) Twenty-four-hour profiles of acylated and total ghrelin: relationship with glucose levels and impact of time of day and sleep. *J Clin Endocrinol Metabol* 96:486–493
- Stahl A, Gimeno RE, Tartaglia LA, Lodish HF (2001). Fatty acid transport proteins: a current view of a growing family. *Trends Endocrinol Metab.*; 12(6):266-73.
- Stewart C, Yotolsky SC, Hales RE (2002). *Neuropsychiatry and clinical neurosciences*. Arlington VA, American Psychiatric Publishing, Inc.
- Suchecki D, Lobo LL, Hipólido DC, Tufik S (1998). Increased ACTH and corticosterone secretion induced by different methods of paradoxical sleep deprivation. *J Sleep Res*; 7(4):276-81
- Suchecki D, Duarte Palma B, Tufik S (2000). Sleep rebound in animals deprived of paradoxical sleep by the modified multiple platform method. *Brain Res*;875(1-2):14-22.

- Suchecki D, Tufik S. 2000. Social stability attenuates the stress in the modified multiple platform method for paradoxical sleep deprivation in the rat. *Physiol Behav*; 68(3):309-16.
- Suchecki D, Tiba PA, Tufik S. 2002. Paradoxical sleep deprivation facilitates subsequent corticosterone response to a mild stressor in rats. *Neurosci Lett*; 320(1-2):45-8.
- Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D (2006). NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 103:12481–6.
- Taheri S, Lin L, Austin D, Young T, Mignot E (2004). Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. *PLoS Med*; 1(3):e62.
- Tasali E, Leproult R, Spiegel K (2009). Reduced sleep duration or quality: relationships with insulin resistance and type 2 diabetes. *Prog Cardiovasc Dis* 51:381–391
- Tong Z, Jiang B, Wu Y, Liu Y, Li Y, Gao M, Jiang Y, Lv Q, Xiao X (2015). MiR-21 Protected Cardiomyocytes against Doxorubicin-Induced Apoptosis by Targeting BTG2. *Int J Mol Sci*; 16(7):14511-25.
- Torres E, Gutierrez-Lopez MD, Mayado A, Rubio A, O'Shea E, Colado MI (2011). Changes in interleukin-1 signal modulators induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA): regulation by CB2 receptors and implications for neurotoxicity *J Neuroinflammation*; 8:53.
- Trujillo ME, Scherer PE (2005). Adiponectin--journey from an adipocyte secretory protein to biomarker of the metabolic syndrome. *J Intern Med*; 257(2):167-75.
- Tufik M, Andersen L, Bittencourt and De Mello M (2009) Paradoxical Sleep Deprivation: neurochemical, hormonal and behavioral alterations. *Evidence*

from 30 years of research *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 81(3): 521-538

- Van Cauter E, Polonsky KS, Scheen AJ (1997). Roles of circadian rhythmicity and sleep in human glucose regulation. *Endocr Rev*;18(5):716–738.)
- Van Cauter E, Blackman J, Roland D, Spire J, Refetoff S, Polonsky K.(1991). Modulation of glucose regulation and insulin secretion by circadian rhythmicity and sleep. *J Clin Invest*; 88:934–942.
- Van der Lely A, Tschop M, Heiman M, Ghigo E (2004). Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev*; 25:426-457.
- van Leeuwen WM, Lehto M, Karisola P, Lindholm H, Luukkonen R, Sallinen M, Härmä M, Porkka-Heiskanen T, Alenius H (2009) Sleep restriction increases the risk of developing cardiovascular diseases by augmenting proinflammatory responses through IL-17 and CRP. *PLoS One.* ; 4(2):e4589.
- Vázquez Palacios G, Bonilla Jaime H, Guadarrama Cruz G, Brianza Padilla M. (2012). Privación de sueño: aspectos cognoscitivos y metabólicos. En: *Aproximaciones al estudio del procesamiento sensorial, emocional y cognitivo*. Guevara MA, Hernández M. (eds). Universidad Veracruzana. México.
- Vázquez Palacios G, Retana Márquez S, Bonilla Jaime H, Velázquez Moctezuma J (2001). Further definition of the effect of corticosterone on the sleep-wake pattern in the male rat. *Pharmacol Biochem Behav*; 70(2-3):305-10.
- Vázquez-Palacios G, Velázquez-Moctezuma J (2000). Effect of electric foot shocks, immobilization and corticosterone administration on sleep-wake pattern in the rat. *Physiol Behav*; 71: 23-8.
- Vergara, J. M<sup>a</sup>. y cols (1999). Calidad subjetiva del sueño y análisis espectral del EEG de sueño nocturno. *Rev Neurol*; 28(8): 765–767.

- Vgontzas AN, Mastorakos G, Bixler EO, Kales A, Gold PW, Chrousos GP (1999). Sleep deprivation effects on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal and growth axes: potential clinical implications. *Clin endocrinol*; 51:205–15.
- Vgontzas AN, Bixler EO (2008). Short sleep and obesity: are poor sleep, chronic stress, and unhealthy behaviors the link? *Sleep* 31:1203
- Vickers KC, Shoucri BM, Levin MG, et al. (2013). MicroRNA-27b is a regulatory hub in lipid metabolism and is altered in dyslipidemia. *Hepatology*; 57:533–42.
- Volpato S, Guralnik JM, Ferrucci L, Balfour J, Chaves P, Fried LP, et al. (2001): Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: The women's health and aging study. *Circulation* 103:947–953.
- Walczak R, Tontonoz P (2002). PPARadigms and PPARadoxes: expanding roles for PPARgamma in the control of lipid metabolism. *J Lipid Res.*; 43(2):177-86.
- Walker JM, Berger RJ (1980). Sleep as an adaptation for energy conservation functionally related to hibernation and shallow torpor. *Prog Brain Res* 53:255-278.
- Wang YX., Lee CH., Tjep S., Yu RT., Ham J., Kang H., Evans RM (2003). Peroxisome-proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell*: 113;159-170.
- Wang L, Jia XJ, Jiang HJ, et al (2013). MicroRNAs 185, 96, and 223 repress selective high-density lipoprotein cholesterol uptake through posttranscriptional inhibition. *Mol Cell Biol*;33:1956–64.
- Weikel, J.C., Wichniak, A., Isling, M., Brunner, H., Freiss, E., Held, K., Mathias, S., Schmid, S.D., Uhr, M., Steiger, A (2003). Ghrelin promotes slow wave sleep in humans. *Am. J. Endocrinol. Metab.* 284, E407–E415.

- Xu J, Wu C, Che X, Wang L, Yu D, Zhang T, Huang L, Li H, Tan W, Wang C, Lin D (2011). Circulating microRNAs, miR-21, miR-122, and miR-223, in patients with hepatocellular carcinoma or chronic hepatitis. *Mol Carcinog*50(2):136-42.
- Xu X, Kriegel AJ, Jiao X, Liu H, Bai X, Olson J, Liang M, Ding X (2014) miR-21 in ischemia/reperfusion injury: a double-edged sword? *Physiol Genomics*; 46(21):789-97.
- Yamauchi, T. et al (2001). The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat. Med.* 7: 941-946.
- Yuan Z, Liu Y, Liu Y, Zhang J, Kishimoto C, Wang Y, Ma A, Liu Z (2005). Cardioprotective effects of peroxisome proliferator activated receptor gamma activators on acute myocarditis: anti-inflammatory actions associated with nuclear factor kappaB blockade. *Heart* 91:1203-1208.
- Zhang CY., Baffy G., Perret P., Krauss S., Peroni O., Grujic D., Hagen T., Vidal-Puig AJ., Boss O., Kim YB., Zheng XX., Wheeler MB., Shulman GI., Chan CB., Lowell BB (2001). Uncoupling Protein-2 Negatively Regulates Insulin Secretion and Is a Major Link between Obesity,  $\beta$ - Cell Dysfunction, and Type Diabetes. *Cell*:105;745-755.
- Zhong D, Huang G, Zhang Y, et al (2013). MicroRNA-1 and microRNA-206 suppress LXRalpha-induced lipogenesis in hepatocytes. *Cell Signal*; 25:1429–37.
- Zhu L, Shi C, Ji C, et al (2013). FFAs and adipokine-mediated regulation of hsa-miR-143 expression in human adipocytes. *Mol Biol Rep*;40:5669–75.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 0081

México, D.F. 21/09/2016

EFECCIÓN DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR SOBRE LA EXPRESIÓN DE MOLECULAS REGULADORAS DEL METABOLISMO Y CITOCINAS EN RATAS

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 12 del mes de diciembre del año 2016 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. RAFAEL BOJALIL PARRA  
DRA. BEATRIZ GOMEZ GONZALEZ  
DR. JULIO CESAR ALMANZA PEREZ  
DR. FAUSTO SANCHEZ MUÑOZ

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTORA EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL

DE: MALINALI BRIANZA PADILLA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV 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.



MALINALI BRIANZA PADILLA  
ALUMNA

REVISÓ



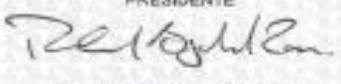
LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI  
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA COMISIÓN DE CBS



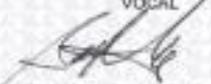
DRA. EDITH PONCE QUIJIRA

PRESIDENTE



DR. RAFAEL BOJALIL PARRA

VOCAL



DRA. BEATRIZ GOMEZ GONZALEZ

VOCAL



DR. JULIO CESAR ALMANZA PEREZ

SECRETARIO



DR. FAUSTO SANCHEZ MUÑOZ

