Artículos de investigación

Estado metabólico en ratas bajo protocolos de restricción temporal de alimento

Metabolic status in rats under time restricted feeding protocols

López Islas, A.; Gasca Martínez, Deysi; Méndez, Isabel

A. López Islas
nani.lopeez@gmail.com
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), México
Deysi Gasca Martínez
gasca@inb.unam.mx
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH). Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)., México
Isabel Méndez
isabelcm@unam.mx
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México

Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México
ISSN-e: 2007-6363
Periodicidad: Semestral
vol. 8, núm. 16, 2021
sitioweb@uaeh.edu.mx

URL: http://portal.amelica.org/ameli/journal/595/5953116013/

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional.

Resumen: Los ritmos circadianos son cambios en diferentes procesos fisiológicos que se repiten aproximadamente cada 24 h. Estos ritmos se sincronizan a estímulos externos como los ciclos de luz-oscuridad y de ayuno-realimentación. La temporalidad en la alimentación regula la ritmicidad metabólica a través de la comunicación entre el cerebro y órganos periféricos resultando en conductas anticipatorias al alimento para aprovechar de la mejor manera los nutrientes y así, lograr la homeostasis energética de los organismos. Sin embargo, aún no se conoce si la restricción temporal de alimento requiere acompañarse de cierto grado de restricción calórica para sincronizar los ritmos metabólicos. En el presente trabajo analizamos indicadores del metabolismo general en ratas en respuesta a protocolos de restricción temporal de alimento, que involucran ciclos de ayuno-realimentación, con diferentes grados de restricción calórica dependiendo de la ventana de tiempo de acceso al alimento. Los resultados indican que la restricción temporal de alimento re-sincroniza los ritmos metabólicos independientemente del grado de ingesta calórica.

Palabras clave: Ritmo circadiano, metabolismo, restricción temporal de alimento, restricción calórica, ventana de tiempo, gasto energético, coeficiente respiratorio.

Abstract: Circadian rhythms are 24-hour cycles that influence different physiological process. These rhythms are synchronized to environmental stimuli such as light-darkness and fasting-refeeding cycles. The timely food access regulates the metabolic rhythmicity through the communication among the brain and peripheral organs leading to food anticipatory behaviour to benefit from the nutrients and accomplish energetic homeostasis. However, it does not know whether time restricted feeding synchronizes metabolic rhythms only in the presence of a certain level of calorie restriction. In the present study, we analysed metabolism indicators in rats under time restricted feeding protocols, that involved fasting-refeeding cycles accompanied by different levels of calorie restriction according to the window of time of food access. Our results indicate that time restricted feeding resynchronizes metabolic rhythms independent of calorie intake level.

Modelo de publicación sin fines de lucro para conservar la naturaleza académica y abierta de la comunicación científica

PDF generado a partir de XML-JATS4R

Keywords: Circadian rhythm, metabolism, time restricted feeding, calorie restriction, window of time, energy expenditure, respiratory coefficient.

1. Introducción

El sistema circadiano es una red altamente especializada y jerárquica de relojes biológicos, que dirige y mantiene los ritmos biológicos a través de la comunicación y retroalimentación entre las vías neurológicas, endócrinas y metabólicas necesarias para la homeostasis del organismo (Schibler, 2015) (Mendoza, 2009). En mamíferos, el sistema circadiano está conformado por un marcapasos central situado en el núcleo supraquiasmático (NSQ) ubicado en el hipotálamo y osciladores o relojes periféricos, que son sincronizados por estímulos ambientales (Atger et al., 2017) (Bass y Lazar, 2016) (Bechtold y Loudon, 2013). El NSQ es sincronizado predominantemente por los ciclos diarios de luz-oscuridad, mientras que el ritmo cíclico de alimentación es un potente sincronizador de los relojes de órganos periféricos (Tahara y Shibata, 2013) (Carneiro y Araujo, 2012).

Los horarios de alimentación son dictados principalmente por un mecanismo de tiempo que involucra la disponibilidad de alimento, el hambre, la saciedad y, en la sociedad moderna, los hábitos sociales (Asher y Sassone, 2015). En concierto, el NSQ con otros relojes secundarios situados en regiones hipotalámicas y del tronco cerebral, aseguran el control circadiano de la ingesta de alimento en respuesta a señales periféricas. Dentro de estas señales se encuentran hormonas, nutrientes y neurotransmisores, que transmiten mensajes rítmicos favoreciendo que, tanto el cerebro, como órganos periféricos se sincronicen con el tiempo de alimentación (Bujis y Guerrero, 2017) (Bechtold y Loudon, 2013).

La conducta alimentaria desempeña un papel fundamental en el procesamiento de los nutrientes y la homeostasis energética del organismo. La interrupción de las complejas interacciones entre el sistema nervioso central y los órganos periféricos ya sea por el desfasamiento en los horarios de sueño-vigilia, de alimentación e incluso dietas altas en grasas y/o azúcares conducen a la desincronización de los ritmos circadianos (cronodisrupción), teniendo en consecuencia efectos nocivos en la salud como trastornos metabólicos (Challet, 2019) (Marcheva et al., 2013) (Wang et al., 2012).

La restricción temporal de alimentación es una estrategia que asegura que los organismos mantengan ciclos regulares diarios de ayuno-realimentación y, en consecuencia, la sincronización de los ritmos metabólicos, incluso con retos metabólicos como dietas altas en grasa (Panda, 2016). Asimismo, diversos estudios realizados han demostrado que proporcionar la alimentación en un horario fijo del día (restricción temporal) logra beneficios en el metabolismo cuando es acompañada de una ingesta hipocalórica (restricción calórica) (Mitchell et al., 2018) (Panda, 2016). Sin embargo, no se conoce qué grado de restricción calórica se requiere para lograr la sincronización metabólica de los organismos bajo protocolos de restricción temporal de alimento. El objetivo de este estudio fue comparar el estado metabólico de ratas mantenidas con protocolos de restricción temporal de alimento que involucran distintos grados de ingesta de calorías utilizando dieta estándar chow. Esta dieta es un alimento balanceado comercial para roedores que provee las calorías necesarias para una nutrición adecuada. Para esta finalidad, grupos de ratas fueron sometidas a restricción temporal con acceso al alimento en diferentes ventanas de tiempo, lo que implicó distintos grados de restricción calórica y se analizó el metabolismo basal a lo largo de 24 h, en términos del gasto energético y coeficiente respiratorio. El coeficiente respiratorio permite conocer el tipo de nutriente o sustrato que se está oxidando en el organismo como fuente principal de energía. Se calcula midiendo el CO2 producido respecto al O2 consumido (McClave et al., 2003). El gasto energético es considerado como un proceso de producción de energía proveniente de la combustión de sustratos (hidratos de carbono, lípidos, proteínas), en donde hay

PDF generado a partir de XML-JATS4R

oxígeno consumido (O2) y producción de dióxido de carbono (CO2), influenciado por diversos factores como el peso, la edad, la talla y la temperatura corporal (Quiroz, 2015).

2. Materiales y métodos

2.1. Protocolo experimental.

Ratas macho de la cepa Wistar que pesaban 150 g ± 4.3 (~6 semanas de edad) al comienzo del experimento fueron utilizadas para desarrollar los experimentos. Los animales se colocaron en cajas individuales a temperatura ambiente (~22 °C), se mantuvieron en ciclos de luz-oscuridad de 12:12 h (encendido de la luz a las 08:00 h) durante un periodo de tres semanas, con una semana previa de adaptación y acceso a la toma de agua a libre demanda. Todos los grupos fueron alimentados con dieta estándar chow (3.02 kcal/g, 5001 Rodent diet, LabDiet, St. Louis, MO). Debido a que las ratas son animales de hábitos nocturnos su principal actividad de alimentación la llevan a cabo durante la fase de oscuridad, por lo que los protocolos de acceso al alimento se realizaron durante el periodo de luz para poder observar los efectos sincronizadores de la restricción temporal de alimento y diferenciarlos de los efectos de la luz-oscuridad, conservando este estímulo en los experimentos. Las ratas se dividieron aleatoriamente en 4 grupos (4 ratas por grupo) de acuerdo con el protocolo de restricción temporal de alimento como se describe a continuación: con acceso al alimento por 2 h (RA2), 5 h (RA5), 7 h (RA7) y un grupo con alimentación a libre demanda o ad libitum (AL) (Fig. 1). Paralelamente, se tuvieron grupos de 4 ratas en cajas para medir la ganancia de peso. Todos los procedimientos experimentales fueron realizados de acuerdo con la guía institucional para el cuidado y uso de animales en experimentación biomédica, bajo estándares éticos internacionales, y aprobados por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (Portaluppi et al., 2008).

2.2. Calorimetría indirecta.

Los análisis de calorimetría indirecta se realizaron utilizando un sistema OxyletPro (Panlab Harvard Apparatus, Barcelona, España). Para este propósito, los animales se colocaron en cajas de acrílico individuales (Oxylet LE 1305 Physiocage, PANLAB) en un ambiente de temperatura controlada (23 ± 2°C). El consumo de O2 y la producción de CO2 se midieron cada 12 min durante 72 h mediante un analizador de gases (Oxylet LE 405, PANLAB) a un caudal controlado de 900 ml/min (Oxylet LE 400 -aire proveedor, PANLAB). El registro se realizó durante 3 días, de acuerdo con las instrucciones del proveedor, y el análisis de datos utilizando el programa Metabolism V 3.0 (Panlab Harvard Apparatus, Barcelona, España), que calculó automáticamente el cociente respiratorio (RQ, por sus siglas en inglés de respiratory coefficient) como la relación VCO2/VO2 y el gasto de energía en kcal/día/kg0.75 como VO2 × 1 44 × 3 815 + 1 232 × RQ (Weir, 1949). Durante todos los procedimientos, las ratas tuvieron acceso al alimento de acuerdo con su respectivo protocolo experimental.

2.3. Peso corporal de los animales

Para comparar la ganancia de peso de los animales, estos se pesaron una vez a la semana antes del acceso al alimento durante el protocolo de experimentación y los datos se registraron en una hoja de cálculo.

PDF generado a partir de XML-JATS4R

2.4. Ingesta de alimento

El peso del alimento se registró diariamente. La cuantificación del alimento consumido fue calculando la diferencia del peso inicial menos el peso final resultando en el alimento consumido en gramos y, posteriormente, convertido a kcal.

a) Peso inicial. Para cada caja, se proporcionaba el alimento a las 12:00 h en todos los grupos a excepción de AL que tenía acceso libre al alimento.

b) Peso final. El alimento se retiraba al terminar el tiempo de experimentación: a las 14:00 h para RA2, a las 17:00 h para RA5 y a las 19:00 h para RA7.

Para el grupo AL, la medición se hizo por 24 h.

2.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico y la elaboración de las gráficas se realizó utilizando el programa Sigma Plot V 12.0 (Systat Software Inc., San José, CA, USA). La distribución de normalidad fue determinada por la prueba de Shapiro-Wilk y los datos mostraron distribución paramétrica. Las diferencias significativas entre los grupos fueron determinadas por la prueba de ANOVA de dos vías seguida de una prueba post-hoc de comparación de Tukey. Las diferencias con respecto al grupo AL en el consumo de alimento fueron determinadas por la prueba de ANOVA de una vía seguida de una prueba post-hoc de comparación de Tukey (Fig. 1).

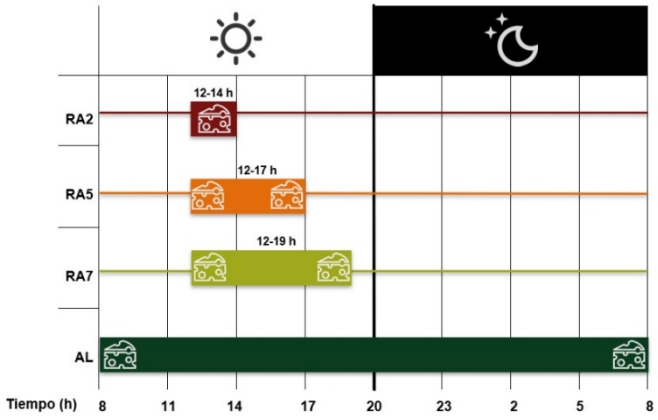

FIGURA 1

Figura 1. Esquema de los protocolos experimentales que indican el periodo de acceso al alimento diario: por 2 h (RA2), 5 h (RA5), 7 h (RA7) y ad libitum (AL), bajo ciclos de luz/oscuridad 12:12 h. Los protocolos se desarrollaron durante 3 semanas.

3. Resultados y discusión

3.1. Ingesta calórica y efecto de los protocolos de RA en la ganancia de peso.

Con la finalidad de analizar el impacto las diferentes ventanas de tiempo de acceso al alimento se cuantificó el consumo de alimento y el peso corporal en cada grupo experimental a lo largo de las 3 semanas. El consumo de alimento semanal aumentó paulatinamente conforme avanzaban los protocolos, siendo significativamente mayor en RA5 y RA7 que en RA2 a partir del final de la primera semana (Fig. 2A). Al final de los protocolos el grupo RA2 consumió 50% menos calorías, mientras que RA5 y RA7 consumieron respectivamente 25 y 22% menos calorías que el grupo AL. Por lo que podemos concluir, que el protocolo de RA2 involucra tanto

restricción temporal del alimento, como restricción calórica significativa. En relación con los otros grupos de restricción temporal, la restricción calórica fue menor, y aunque la ventana de tiempo de acceso al alimento fue mayor en RA7 que en RA5, su consumo calórico no fue significativamente diferente, probablemente debido a que ambos grupos llegaron a la capacidad máxima de la cavidad gástrica en el tiempo de alimentación.

El consumo calórico y la temporalidad en el acceso al alimento tuvieron impacto sobre la ganancia de peso. Cabe señalar, que las ratas que conformaron los diferentes grupos se encontraban en etapa de crecimiento, por lo que la ganancia de peso es un parámetro de gran utilidad para ver el impacto del consumo calórico. Como se puede observar en la figura 2B, hubo una relación entre la ganancia de peso y la ventana de tiempo de acceso al alimento, es decir, a mayor tiempo de acceso al alimento, mayor ganancia de peso. Aunque el grupo RA5 y RA7 consumieron similar en términos de kcal, el hecho de tener mayor tiempo disponible el alimento se asocia con el mejor aprovechamiento del alimento para ganar peso corporal.

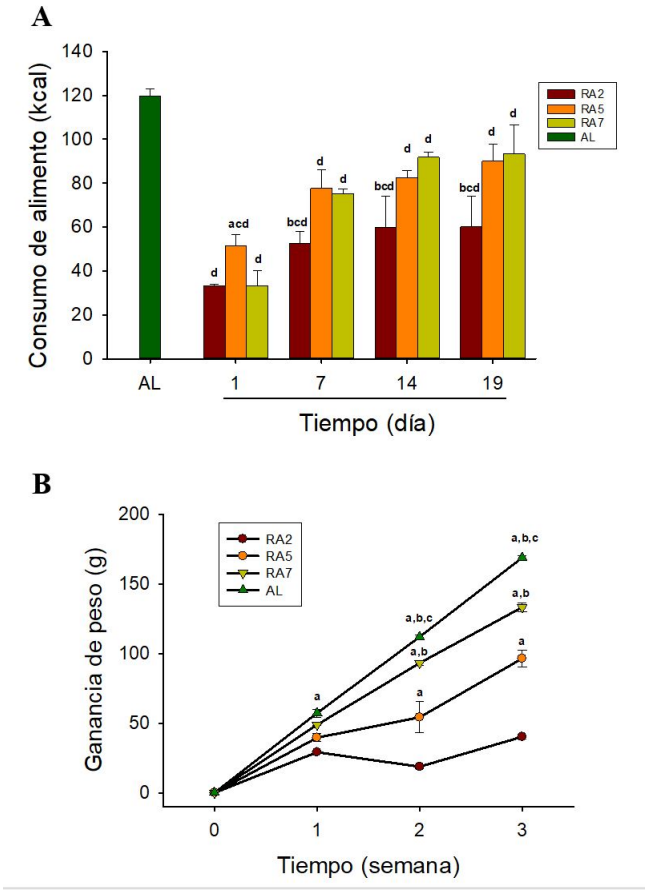

FIGURA 2.

Figura 2. Consumo de alimento y ganancia de peso durante las 3 semanas de los protocolos de experimentación. Los resultados se expresan como la media ± SEM. (A) Consumo de alimento de los diferentes grupos en restricción temporal de alimento (n=3); en AL se representa el promedio de los días 1, 7, 14 y 19, ya que no varía a lo largo de las 3 semanas (n=4). P<0.01 a vs RA2, b vs RA5, c vs RA7, d vs AL. (B) Ganancia de peso de las ratas (n=4) P<0.05 a vs RA2, b vs RA5, c vs RA7, d vs AL.

3.2. Efecto de los protocolos de RA en el metabolismo basal.

Con la finalidad de analizar los efectos de los distintos protocolos de acceso temporal al alimento en el metabolismo general de los organismos, se cuantificó el coeficiente respiratorio (RQ) y el gasto de energía

durante la segunda y tercera semana de cada protocolo. Los grupos de restricción temporal de alimento presentaron un ritmo de 24 h del valor de RQ, con el valor más alto previo o al inicio de la fase de oscuridad, lo que se observó en todos los grupos independientemente del consumo calórico (Fig. 3 A-C). El mayor valor del ritmo de RQ (cercano a 1) se observó a las 20:00 h en RA2 y RA5 y a las 18:00 h en RA7, lo que significa la utilización principalmente de carbohidratos como fuente de energía, mientras que el valor más bajo se presentó al inicio de la fase de luz, indicando la utilización de lípidos como fuente de energía. El grupo AL presentó un ritmo atenuado en el perfil de 24 h del RQ, con un cambio de fase con respecto a los grupos con restricción temporal de alimento, es decir, el mayor valor durante la noche se presentó en un horario distinto, a las 2:00 h, pero sin alcanzar el valor de 1 y menor valor a la mitad de la fase de luz, lo que significa que utiliza principalmente los lípidos en este horario (Fig. 3D).

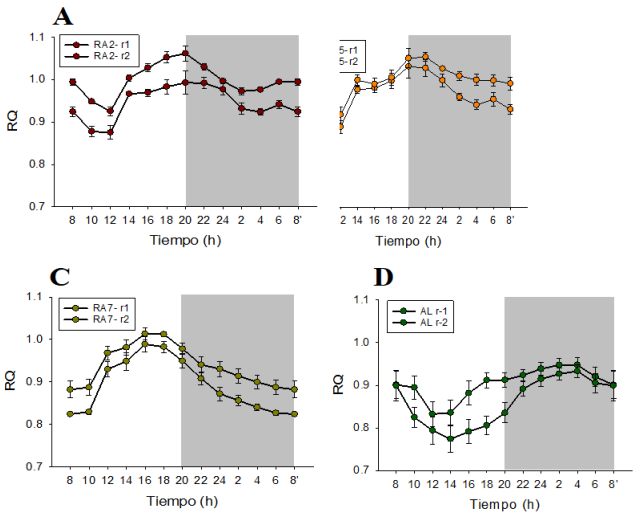

FIGURA 3

Figura 3. Coeficiente respiratorio (RQ) analizados individualmente en 2 ratas bajo los protocolos de (A) RA2, (B) RA5, (C) RA7 y (D) AL durante 24 h. La barra gris muestra el periodo de oscuridad. r1-rata 1, r2-rata 2. Los resultados se expresan como la media ± SEM del registro de tres días.

En relación con el gasto de energía en un periodo de 24 h, los grupos de restricción temporal de alimento presentaron un ritmo robusto con el valor más alto a la mitad de la fase de luz, a las 14:00 h y el valor más bajo al final de la fase de oscuridad, a las 6:00 h (Fig. 4A-C). Mientras que el grupo AL mostró un cambio de fase en el ritmo, teniendo el pico a las 24:00 h y los valores más bajos durante la fase de luz en un periodo más extendido (Fig. 4D). Estos resultados indican que, independientemente del consumo calórico, la temporalidad en el acceso al alimento confiere un cambio en el metabolismo energético de las ratas.

PDF generado a partir de XML-JATS4R

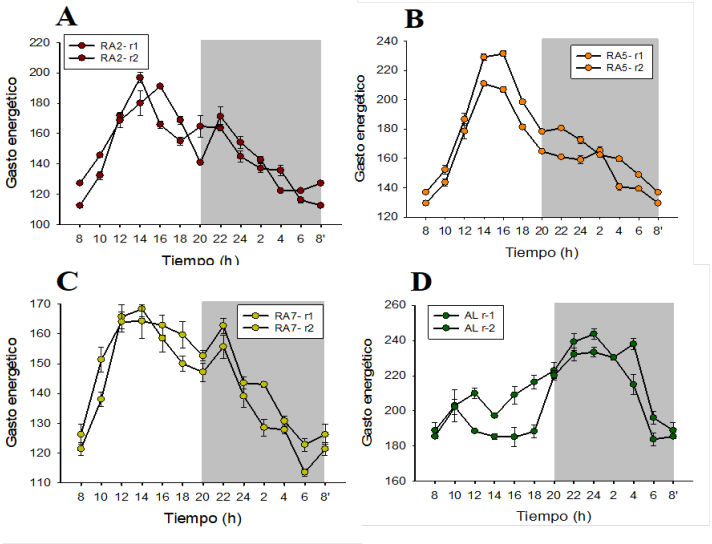

FIGURA 4

Figura 4. Gasto energético analizado individualmente en 2 ratas bajo los protocolos de (A) RA2, (B) RA5, (C) RA7 y (D) AL durante 24 h. La barra gris muestra el periodo de oscuridad. r1- rata 1, r2- rata2. Los resultados se expresan como media ± SEM del registro de tres días.

4. Conclusiones

La sincronización por la restricción temporal de alimento se pone de manifiesto cuando el acceso al alimento sucede durante la fase de luz, siendo el alimento un estímulo sincronizador potente aún en presencia de otro sincronizador de luz-oscuridad.

Los resultados del presente estudio indican que la restricción temporal de alimento re-sincroniza el ritmo del metabolismo general de ratas, independientemente de estar acompañada de alta o baja restricción calórica, lo que implica un cambio en la utilización de sustratos como fuente de energía, como parte de las adaptaciones que se llevan a cabo para lograr la homeostasis metabólica del organismo.

La comunicación entre el sistema nervioso central y los órganos periféricos en ambos sentidos es un área abierta de estudio para tratar de entender los mecanismos que subyacen al comportamiento de alimentación y utilización de los nutrientes para lograr la sincronización circadiana.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por DGAPA-PAPIIT, UNAM México (IN202515).

Referencias

Asher G., Sassone C. P., 2015. Time for food: The intimate interplay between nutrition, metabolism, and the circadian clock. Cell 161, 84-92. DOI: 10.1016/j.cell.2015.03.015

Atger F., Mauvoisin D., Weger B., Gobet C., Gachon F., 2017. Regulation of Mammalian Physiology by Interconnected Circadian and Feeding Rhythms. frontiers in Endocrinology, 8, 1-13. DOI: 10.3389/fendo.2017.00042

Bass J., Lazar M. A., 2016. Circadian time signatures of fitness and disease. Science, 354, 994-999. DOI: 10.1126/science.aah4965

Bechtold D. A., Loudon A. S., 2013. Hypothalamic Clocks and Rhythms in Feeding Behaviour. Cell, 36, 74-82. DOI: 10.1016/j.tins.2012.12.007

Bujis R.M., Guerrero N., 2017. Synchrony Between Suprachiasmatic Nucleus-Driven Signals and the Light/ Dark Cycle is Essential for Liver Homeostasis. Hepatology, 65, 2113-2112. DOI: 10.1002/hep.29124

Carneiro B.T., Araujo J.F., 2012. Food entrainment: major and recent findings. frontiers in Behavioral Neuroscience, 6:83, 1-6. DOI: 10.3389/fnbeh.2012.00083

Challet E., 2019. The circadian regulation of food intake. Nature Reviews Endocrinology, 15, 393–405. DOI: 10.1038/s41574-019-0210-x

Marcheva B., Ramsey K.M., Peek C.B., Affinati A., Maury E., Bass J., 2013. Circadian Clocks and Metabolism. Handbook of Experimental Pharmacology, 217, 127-155. DOI: 10.1007/978-3-642-25950-0_6.

McClave S.A., Lowen C. C., Kleber M. J., McConnell J. W., Jung L. Y., Goldsmith L.J., 2003. Clinical use of the respiratory quotient obtained from indirect calorimetry. JPEN Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 27, 21-26. DOI: 10.1177/014860710302700121

Mendoza, J., 2009. Neurobiología del sistema circadiano: su encuentro con el metabolismo. Suma Psicológica, 16 No. 1, 85-95.

Mitchell S. J., Bernier M., Mattison J. A., Anderson R. M., Ingram D. K., 2018. Daily Fasting Improves Health and Survival in Male Mice Independent of Diet Composition and Calories. Cell Metabolism, 29, 221-228. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.08.011

Panda S., 2016. Circadian physiology of metabolism. Science, 354, 1008-1015. DOI: 10.1126/science.aah4967

Portaluppi F., Touitou Y., Smolensky M.H., 2008. Ethical and Methodological Standards for Laboratory and Medical Biological Rhythm Research. Chronobiology International: The Journal of Biological and Medical Rhythm Research, 25, 999-1016. DOI: 10.1080/07420520802544530

Quiroz O. G., 2015. Fundamentos del gasto energético. 14 abril, 2020, de Universidad Autónoma de Nuevo León Sitio web: http://eprints.uanl.mx/9370/1/Documento0.pdf

Schibler U., Gotic I., Saini C., Gos P., Curie T., Emmenegger Y., Sinturel F., Gosselin P., Gerber A., Fleury-Olela F., Rando G., Demarque M., Franken P., 2015. Clock-Talk: Interactions between Central and Peripheral Circadian Oscillators in Mammals. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 80, 223-232. DOI: 10.1101/sqb.2015.80.027490

Tahara Y., Shibata S., 2013. Chronobiology and nutrition. Neuroscience, 253, 78-88. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2013.08.049

Wang X.S., Armstrong M.E., Cairns B.J., Key T.J., Travis R.C., 2011. Shift work and chronic disease: the epidemiological evidence. Occupational Medicine, 61, 78-89. DOI: 10.1093/occmed/kqr001

Weir, J.B.V., 1949. New methods for calculating metabolic rates with special reference to protein metabolism. Journal of Physiology 109, 1–9. DOI: 10.1113/jphysiol.1949.sp004363

PDF generado a partir de XML-JATS4R