

Informe final publicable de proyecto

Modulación ambiental y hormonal de las conductas rítmicas

Código de proyecto ANII: FCE_1_2021_1_167077

Fecha de cierre de proyecto: 01/07/2024

QUINTANA ARAMBURU, Laura (Responsable Técnico - Científico)

SILVA BARBATO, Ana Celia (Co-Responsable Técnico-Científico)

JALABERT CASTELLANOS, Cecilia (Investigador)

MIGLIARO GONZÁLEZ, Adriana Isabel (Investigador)

PERRONE, Rossana (Investigador)

POUSO, Paula (Investigador)

VALIÑO AMODIO, Guillermo (Investigador)

ZUBIZARRETA D AMATO, Lucia (Investigador)

MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CULTURA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS "CLEMENTE ESTABLE"

(Institución Proponente) \ UNVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE CIENCIAS \

FUNDACIÓN DE APOYO AL INSTITUTO CLEMENTE ESTABLE

Resumen del proyecto

Los movimientos de rotación y translación de la Tierra crean ciclos diarios y estacionales con variaciones evidentes de luz y temperatura. El fotoperiodo (que toma en cuenta la duración del día y la noche) sincroniza los ritmos diarios de los vertebrados principalmente influyendo sobre la secreción de melatonina, la hormona que señala la noche. La melatonina tiene un ritmo propio que permite que los individuos se preparen anticipando a los cambios cíclicos del ambiente y la alternancia entre el día y la noche pone en hora este ritmo. Como la duración del día y la noche cambia con las estaciones el sistema también puede usar estas variaciones para acompasar sus ritmos estacionales. Los cambios causados por factores antropogénicos, por ejemplo, el cambio climático o la contaminación lumínica, modifican las claves fotoperiódicas y cambian la temperatura ambiental, desacoplando ciclos naturalmente sincrónicos. Esto evidencia la importancia de comprender el efecto de diversas variables ambientales sobre los ritmos biológicos y su base neuroendócrina. Si bien el fotoperiodo ha sido largamente estudiado, el rol sincronizador de la temperatura se ha explorado en pocas especies. Algunos de estos estudios reportan que puede sincronizar el ritmo circadiano y estacional e incluso modular el sistema melatoninérgico. *Gymnotus omarorum*, un pez eléctrico autóctono, surge como un modelo oportuno para analizar el rol sincronizador de la temperatura sobre ciclos circadianos y estacionales. En el laboratorio tiene un ritmo circadiano que se sincroniza con el fotoperiodo, mediado por melatonina. En la naturaleza vive en condiciones de poca información lumínica y sin embargo mantiene un ritmo diario en su conducta eléctrica, que está en fase estable con el ciclo diario de temperatura. Asimismo, muestra variaciones estacionales en los mecanismos hormonales que subyacen conductas sociales y en su madurez reproductiva. Hipotetizamos que en esta especie la temperatura sincroniza los ritmos circadianos y estacionales y que su acción es mediada por variaciones en el sistema melatoninérgico. Abordaremos esta hipótesis combinando experimentos en la naturaleza y en condiciones controladas de laboratorio, utilizando técnicas que incluyen el registro conductual, la cuantificación hormonal y herramientas celulares y moleculares.

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Otros Tópicos Biológicos / Neurociencia

Palabras clave: temperatura ambiental / ciclos circadiano y estacionales / melatonina /

Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.

Los movimientos de rotación y translación de la Tierra crean ciclos diarios y estacionales de luz y temperatura. Los ciclos ambientales modulan procesos metabólicos y fisiológicos, de despliegues conductuales e interacciones sociales en una amplia variedad de organismos. En el curso de la evolución, la presencia constante de estos ciclos ha consolidado el surgimiento de estructuras celulares con capacidad oscilatoria, denominados relojes biológicos, que dan una importante ventaja adaptativa a los animales. Estos osciladores endógenos establecen los ritmos de los procesos celulares, fisiológicos o conductuales al tiempo que se sincronizan con las claves del ambiente. Esta sincronización permite anticipar los cambios cíclicos del ambiente, logrando una mayor eficiencia en la inversión energética tanto en procesos que ciclan con un periodo cercano a las 24 horas, como en aquellos que ciclan a lo largo del año. De este modo, los seres vivos aprovechan los recursos y ocupan diferentes nichos temporales .

El fotoperíodo es el factor ambiental sincronizador por excelencia. Al ser consecuencia directa de la rotación de la Tierra es una señal no ambigua de alta precisión. La duración relativa de las fases de luz y oscuridad varían estacionalmente generando además un ritmo circanual del fotoperiodo. Si bien hay efectos directos del fotoperiodo sobre osciladores fisiológicos sensibles a la luz, la mayoría de los vertebrados

poseen una señal específica para la sincronización de los sistemas circadianos con las claves ambientales, la melatonina. Esta hormona es sintetizada en la glándula pineal y liberada con un ritmo circadiano endógeno. La luz ambiental inhibe su producción sincronizando el aumento de la concentración de melatonina con la noche. La duración del pulso de melatonina señala a su vez la duración de la noche, portando información sobre el ciclo anual.

Hay evidencias tanto en escala diaria como estacional que posicionan a la temperatura como variable ambiental clave en la sincronización de los ritmos fisiológicos y conductuales. En particular, los cambios climáticos globales han distorsionado la relación entre el ciclo de luz y de temperatura, lo que hace imperioso estudiar como cada factor ambiental impacta en los ritmos biológicos. En este proyecto hipotetizamos que la temperatura sincroniza el ritmo circadiano y estacional mediante la modulación del sistema melatoninérgico. Trabajamos en un modelo de pez eléctrico autóctono que nos permite i) usar abordajes complementarios en laboratorio y campo; ii) evaluar el efecto sincronizador de la temperatura a dos escalas temporales, la circadiana y la estacional; y iii) abordar el efecto sincronizador de la temperatura en tres niveles complementarios: el sistema nervioso central, la regulación fisiológica periférica y la salida conductual. Proponemos analizar a la temperatura como sincronizadora tanto de la ritmicidad diaria de la conducta eléctrica, como de procesos neuroendocrinos vinculadas a la estacionalidad. Asimismo, analizaremos al sistema melatoninérgico como traductor de esta sincronización. Este proyecto permitirá evaluar por primera vez en un vertebrado silvestre, el efecto sincronizador de una clave no luminosa actuando sobre los ciclos circadianos y el estacionales.

Metodología/Diseño del estudio

Nuestra estrategia experimental se basa en dos abordajes: hábitat natural y laboratorio. Evaluaremos ritmicidad en dos escalas: diaria y estacional.

1. Medición de temperatura como señal ambiental temporizadora sincronizadora de la conducta

- en el hábitat natural: se registró la luminosidad y temperatura del ciclo diario (mediante sensores) bajo la vegetación donde habitan los animales. Estos registros se asociaron a dispositivos de registro eléctrico de varios animales en libre movimiento. Estos dispositivos y su software asociado permiten seguir la posición de cada animal independientemente.

- en condiciones seminaturales: se registró luminosidad, temperatura del ciclo diario y movimiento de peces en piscinas. Asimismo, se realizaron experimentos eliminando la variable luz para analizar si solo los ciclos de temperatura era capaz de sincronizar la conducta eléctrica y locomotora

2. cuantificación del efecto de melatonina: , Logramos comprobar que en este orden de de teleósteos la melatonina es moduladora de la conducta eléctrica actuando a nivel del sistema nervioso central, provocando un perfil similar al observado en la noche.

3. Caracterización estacional de hormonas circulantes vinculadas a reproducción y agresión

Las hormonas esteroideas circulantes (5 andrógenos y estrógenos) presentan un ciclo estacional diferente entre machos y hembras, aunque su variación es menor a lo esperado, lo cual sugiere una adaptación a la necesidad de expresar conductas sociales que pueden ser disminuidas por altos niveles hormonales circulantes. Nuestros experimentos adicionales muestran un involucramiento de ambos tipos hormonales en las conductas sociales. Asimismo, demostramos que el cerebro es capaz de sintetizar estrógenos en ambos sexos y en ambas estaciones (verano e invierno, o periodo reproductivo y no reproductores). A su vez, hemos demostrado que el cerebro es blanco de hormonas esteroideas, en ambos sexos, en verano y en invierno. Estos resultados muestran de todos modos, diferencias sexuales y estacionales, lo cual da indicios de los mecanismos hormonales que subyacen conductas sociales estacionales.

4. Caracterización funcional del rol de hormonas androgénicas sobre la agresión Hemos confirmado que las

vías esteroides tienen un involucramiento en la agresión, en particular aquella que involucra los precursores de estrógenos (las hormonas androgénicas).

5. Medición de melatonina y sus receptores: Resta confirmar si los perfiles de expresión génica y los mecanismos hormonales globales ocurren cuando el único parámetro ambiental que varía es la temperatura. Los receptores de melatonina, que tienen una baja expresión génica global, parecen presentar leves diferencias diarias. Asimismo, los niveles de melatonina presentan, también de manera preliminar, diferencias en sus niveles a escala diaria. Estos experimentos deben ser completados con los nuevos protocolos de cuantificación puestos a puntos en el proyecto.

Resultados, análisis y discusión

Nuestros datos nos muestran que la temperatura es una señal ambiental temporizadora que sincroniza el ritmo diario de la conducta tanto en condiciones naturales como seminaturales. Mostramos que en la naturaleza, la señal luminosa bajo el agua es poco informativa sobre la duración del ciclo luz-oscuridad debido a las características de la vegetación que cubre el hábitat de los animales. Pudimos mostrar que en ausencia de información fotoperódica el efecto sincronizador de la temperatura se ve reforzado. Por otra parte, mostramos un aumento de la actividad locomotora y social en la noche, asociada a este efecto temporizador de la temperatura. Logramos comprobar que en este orden de teleosteos la melatonina es moduladora de la conducta eléctrica actuando a nivel del sistema nervioso central, provocando un perfil similar al observado en la noche. Las hormonas esteroideas circulantes (5 andrógenos y estrógenos) presentan un ciclo estacional diferente entre machos y hembras, aunque su variación es menor a lo esperado, lo cual sugiere una adaptación a la necesidad de expresar conductas sociales que pueden ser disminuidas por altos niveles hormonales circulantes. Nuestros experimentos adicionales muestran un involucramiento de ambos tipos hormonales en las conductas sociales. Asimismo, demostramos que el cerebro es capaz de sintetizar estrógenos en ambos sexos y en ambas estaciones (verano e invierno, o periodo reproductivo y no reproductivo). A su vez, hemos demostrado que el cerebro es blanco de hormonas esteroides, en ambos sexos, en verano y en invierno. Estos resultados muestran diferencias sexuales y estacionales, lo cual da indicios de los mecanismos hormonales que subyacen conductas sociales estacionales. Hemos confirmado que las vías esteroides tienen un involucramiento en la agresión, en particular aquella que involucra los precursores de estrógenos (las hormonas androgénicas). Resta confirmar si los perfiles de expresión génica y los mecanismos hormonales globales ocurren cuando el único parámetro ambiental que varía es la temperatura. Los receptores de melatonina, que tienen una baja expresión génica global, parecen presentar leves diferencias diarias. Asimismo, los niveles de melatonina presentan, también de manera preliminar, diferencias en sus niveles a escala diaria. Estos experimentos deben ser completados con los nuevos protocolos de cuantificación puestos a puntos en el proyecto.

Conclusiones y recomendaciones

Los movimientos de rotación y traslación de la tierra generan ciclos diarios y estacionales de alternancia día/noche pero también en la temperatura ambiente. Reconocemos a los ciclos de luz y oscuridad como principales sincronizadores de ritmos endógenos circadianos y circanuales de los organismos vivos, pero la existencia de ambientes donde la luz no llega o llega de forma poco predecible pone en el foco la necesidad de estudiar la potencialidad sincronizadora de los ritmos de temperatura. Nuestros resultados muestran que la temperatura es una señal sincronizadora fundamental para los peces eléctricos de la especie *G. omarrorum*. Estos peces presentan un patrón nocturno de aumento de actividad locomotora y de conducta eléctrica, confirmado en la naturaleza y reproducido en el laboratorio. En nuestros experimentos seminaturales demostramos que cuando no hay información lumínica estos peces no solo mantienen sus ritmos de actividad, sino que refuerzan su sincronización con el ciclo de temperatura ambiente. Por otra

parte, mostramos que la alternancia invierno/verano, determinada en forma importante por variaciones en la temperatura media del ambiente, genera una alternancia en el perfil hormonal cerebral en esta especie, asociado al control de la conducta social. Las señales cíclicas del ambiente se transfieren al cerebro mediante variaciones en la producción de melatonina. En este proyecto demostramos que la melatonina genera cambios en la conducta que remedan las variaciones comprobadas en el ambiente.

El estudio de la influencia de la temperatura sobre la conducta en peces autóctonos es altamente ventajoso porque son animales ectotérmicos que viven en un ambiente donde la luz llega poco y de forma poco predecible. Junto con esto vale la pena considerar que si bien los ciclos ambientales de temperatura son consecuencia de los ciclos de luz/oscuridad, los cambios a gran escala derivados del calentamiento global y de la contaminación lumínica conducen a un desacople progresivo de estos ciclos, con temperaturas medias mas elevadas y menor diferencias entre mínima y máxima temperatura y con noches progresivamente mas cortas y menos oscuras. Conocer de qué manera las especies autóctonas adaptan su conducta a estos cambios nos permite conocer la plasticidad potencial del sistema nervioso pero también diagnosticar puntos críticos para la conservación.

Referencias bibliográficas

1. N. Ishida, M. Kaneko, R. Allada, *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 96, 8819–8820 (1999).
2. U. Bhadra, N. Thakkar, P. Das, M. P. Bhadra, *Sleep Medicine*. 35, 49–61 (2017).
3. N. S. Häfker, K. Tessmar-Raible, *Current opinion in neurobiology*. 60, 55–66 (2020).
4. S. A. Juntti, R. D. Fernald, *Current opinion in neurobiology*. 38, 57–62 (2016).
5. J. Falcon, H. Migaud, J. A. Munoz-Cueto, M. Carrillo, *General and comparative endocrinology*. 165, 469–482 (2010).
6. M. Pinillos, N. De Pedro, A. Alonso-Gómez, M. Alonso-Bedate, M. Delgado, *Physiology & behavior*. 72, 629–634 (2001).
7. N. Y. Feng, A. H. Bass, *Journal of Experimental Biology*. 217, 1046–1057 (2014).
8. N. Y. Feng, A. H. Bass, *Current Biology*. 26, 2681–2689 (2016).
9. A. M. Jasnow, K. L. Huhman, T. J. Bartness, G. E. Demas, *Hormones and behavior*. 42, 13–20 (2002).
10. N. M. Rendon, L. M. Rudolph, D. R. Sengelaub, G. E. Demas, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 282, 20152080 (2015).
11. A. T. Paterson, C. Vickers, *Physiology & behavior*. 27, 983–987 (1981).
12. N. Y. Feng, M. A. Marchaterre, A. H. Bass, *Journal of Comparative Neurology*. 527, 1362–1377 (2019).
13. J. L. Goodson, *Hormones and Behavior*. 48, 11–22 (2005).
14. S. K. Maitra, A. Chatteraj, S. Mukherjee, M. Moniruzzaman, *General and Comparative Endocrinology*. 181, 215–222 (2013).
15. D. I. Lutterschmidt, W. Wilczynski, *Brain, behavior and evolution*. 80, 222–232 (2012).
16. V. S. Chowdhury et al., *Endocrinology*. 151, 271–280 (2010).
17. S. Pavel, R. Goldstein, M. CALB, *Journal of Endocrinology*. 66, 283–284 (1975).
18. H. S. Shin, N. N. Kim, J. Lee, G.-S. Kil, C. Y. Choi, *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*. 44, 223–238 (2011).
19. N. E. Waly, R. Hallworth, *Journal of circadian rhythms*. 13 (2015).
20. C. S. Pittendrigh, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1960), vol. 25, pp. 159–184.
21. J. F. López, J. Olmeda, J. A. Madrid, F. J. Sánchez, Vázquez, *Chronobiology international*. 23, 537–550 (2006).
22. H. H. Pohl, *Biological Rhythm Research*. 29, 311–325 (1998).
23. L. G. Nisembaum, P. Martin, F. Lecomte, J. Falcón, *Journal of Neuroendocrinology*. 33, e12955 (2021).
24. A. Servili, A. V. Canario, O. Mouchel, J. A. Muñoz-Cueto, *General and comparative endocrinology*. 291, 113439 (2020).
25. A. Busza, A. Murad, P. Emery, *Journal of Neuroscience*. 27, 10722–10733 (2007).
26. R. E. Harper, P. Dayan, J. T. Albert, R. Stanewsky, *Cell reports*. 17, 1711–1718 (2016).
27. A. S. Injaian, J. J. Uehling, C. C. Taff, M. N. Vitousek, *Integrative and Comparative Biology* (2021).
28. D. Lorenzo, F. Sierra, A. Silva, O. Macadar, *Journal of Comparative Physiology A*. 173, 221–226 (1993).
29. D. Lorenzo, F. Sierra, A. Silva, O. Macadar, *Journal of Comparative Physiology A*. 167, 447–452 (1990).
30. A. A. Caputi, B. A. Carlson, O. Macadar, in *Electroreception* (Springer, 2005), pp. 410–451.
31. A. Caputi, O. Trujillo-Cenóz, *Brain, behavior and evolution*. 44, 166–174 (1994).
32. V. Comas, M. Borde, *Journal of Neurophysiology*. 125, 2339–2355 (2021).
33. A. Caputi, A. Silva, O. Macadar, *Journal of Comparative Physiology A*. 173, 227–232 (1993).
34. T. H. Bullock, *Electrochemistry Encyclopedia*. Available: URL: <http://electrochem.cwru.edu/ed/encycl/art-f0l-fish.htm> (access date-May 2006) (2005).
35. A. Silva, R. Perrone, O. Macadar,

Physiology & Behavior. 90, 525–536 (2007).

36. A. C. Silva, R. Perrone, L. Zubizarreta, G. Batista, P. K. Stoddard, J. Exp. Biol. 216, 2412 (2013).
37. P. Black-Cleworth, Animal Behaviour Monographs. 3, 1-IN1 (1970).
38. G. Batista, L. Zubizarreta, R. Perrone, A. Silva, Ethology. 118, 398–410 (2012).
39. R. Perrone, A. C. Silva, Frontiers in Behavioral Neuroscience. 12, 1 (2018).
40. F. Pedraja, R. Perrone, A. Silva, R. Budelli, Bioinspiration & Biomimetics. 11, 065002 (2016).
41. A. Migliaro, V. Moreno, P. Marchal, A. Silva, Biology Open. 7, bio036319 (2018).
42. A. Migliaro, A. Silva, Brain, Behavior and Evolution. 87, 232–241 (2016).
43. A. Silva, L. Quintana, M. Galeano, P. Errandonea, Environmental Biology of Fishes. 66, 329–338 (2003).
44. L. Zubizarreta et al., PLOS ONE. 15, e0228976 (2020).
45. G. Valiño, thesis, PEDECIBA UdelaR (2020).
46. L. Zubizarreta, A. C. Silva, L. Quintana, Physiology & Behavior. 220, 112883 (2020).
47. C. Jalabert, L. Quintana, P. Pessina, A. Silva, Hormones and Behavior. 72, 60–67 (2015).
48. L. Zubizarreta, thesis, PEDECIBA, UdelaR (2020).
49. L. Quintana, A. Silva, N. Berois, O. Macadar, J. Exp. Biol. 207, 1843 (2004).
50. R. Perrone, O. Macadar, A. Silva, Journal of Comparative Physiology A. 195, 501–514 (2009).
51. R. Perrone, F. Pedraja, G. Valiño, B. Tassino, A. Silva, acta ethol. 22, 79–89 (2019).
52. L. Zubizarreta, R. Perrone, P. Stoddard, G. Costa, A. Silva, Frontiers in Behavioral Neuroscience. 6, 77 (2012).
53. L. Quintana et al., Journal of Physiology-Paris. 110, 224–232 (2016).
54. L. Quintana, P. Pouso, G. Fabbiani, O. Macadar, Journal of Comparative Physiology A. 197, 75–88 (2011).
55. L. Quintana, F. Sierra, A. Silva, O. Macadar, Journal of Comparative Physiology A. 197, 211–225 (2011).
56. R. Perrone et al., Journal of Physiology-Paris. 108, 203–212 (2014).
57. P. Pouso, L. Quintana, C. Bolatto, A. C. Silva, Hormones and Behavior. 58, 729–736 (2010).
58. P. Pouso et al., General and Comparative Endocrinology. 222, 158–166 (2015).
59. A. C. Silva, L. Zubizarreta, L. Quintana, Frontiers in Endocrinology. 11, 468 (2020).
60. L. Quintana, K. K. Soma, C. Jalabert, H. B. Fokidis, L. Zubizarreta, Research Topic in Frontiers in Neural Circuits and Frontiers in Behavioral Neuroscience on «The Neuroethology of Social Behavior» (2021).
61. G. Eastman et al., Scientific Reports. 10, 9496 (2020).
62. A. Migliaro, thesis, PEDECIBA, UdelaR (2018).
63. V. Gascue, A. Silva, A. Migliaro, Sleep Science (2020), doi:10.5935/1984-0063.20200005.
64. R. Perrone, G. Batista, D. Lorenzo, O. Macadar, A. Silva, Frontiers in Behavioral Neuroscience. 4, 52 (2010).
65. A. Silva et al., Clocks & Sleep. 1, 352–366 (2019).
66. P. Pouso, M. Radmilovich, A. Silva, Tissue and Cell. 49, 257–269 (2017).
67. K. D. Dunlap, G. T. Smith, A. Yekta, Brain, Behavior and Evolution. 55, 152–162 (2000).

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)