



Facultad de Psicología

Trabajo de
Fin de Grado

Modalidad 2

“Proyecto de investigación empírica y/o
desarrollo de un estudio piloto”

Efecto diferencial del
calor en las fases del
ciclo de luz-oscuridad
en un modelo animal de
Anorexia.

Autor del TFG

Ignacio Roura Blanco

Grado en Psicología

Año 2019

Trabajo de Fin de Grado presentado en la Facultad de Psicología de la Universidad de Santiago de Compostela para
la obtención del Grado en Psicología

Ignacio Roura Blanco

Dedicado a...

... Lola, por su apoyo incondicional, confianza y compromiso,

...Ángela, por animarme a confiar en mí mismo

... y a todas las personas que han tenido que escucharme hablar del tema en el último año.

La salud es la justa medida entre el calor y el frío.
- Aristóteles.

Índice

Índice	4
Resumen	6
Abstract	7
Introducción	8
a) La Anorexia Nerviosa.....	8
b) La Hiperactividad en la AN	10
c) La teoría de la Anorexia Basada en Actividad.....	11
c.1.) El modelo animal ABA	12
c.2.) La TA y la hipótesis termorregulatoria de la actividad	13
d) Hipótesis y objetivos del estudio.....	15
Método	17
a) Participantes	17
b) Materiales.....	17
c) Procedimiento	18
d) Análisis estadístico	19
Resultados	21
a) Fase 1	21
b) Fase 2.....	24
c) Evolución de la actividad y TC por fases en F1.....	25
c.1.) Actividad y TC en las distintas fases a lo largo de F1	26
c.2.) Actividad y TC en las distintas fases a lo largo de F2	26
Discusión	30
a) Limitaciones.....	35

b) Futuras líneas de trabajo	35
Conclusiones	37
Referencias bibliográficas	39
Índice de figuras	49
Anexos	50

Resumen

Esta investigación contribuye a los estudios sobre la influencia de la temperatura ambiental en la recuperación de roedores sometidos al modelo de Anorexia Basada en Actividad (ABA). El modelo ABA es un paradigma experimental en el que roedores - sometidos a un horario de ingesta restringido y con acceso libre a una rueda de actividad - replican sintomatología bioconductual de la Anorexia Nerviosa en humanos.

Este proyecto estudia los efectos de la aplicación de calor durante las diferentes fases del ciclo de luz-oscuridad en la recuperación de treinta y seis ratas macho sometidas a ABA, considerando el impacto de este tanto en los niveles de actividad en la rueda como en el peso, la ingesta y la temperatura corporal, así como en las tasas de recuperación de la condición.

Tras reducir su peso en un 20%, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en tres condiciones experimentales: (a) recibir calor de forma continua en las dos fases del ciclo, (b) recibir calor exclusivamente en la fase de luz o (c) recibir calor exclusivamente en la fase de oscuridad. Se encontraron efectos diferenciales del calor en función de las diferentes modalidades de aplicación: en la modalidad de aplicación continua, la actividad disminuyó de forma significativa y duradera, favoreciendo la ganancia de peso y una temperatura corporal superior a la encontrada en las dos modalidades de aplicación alternante de calor. En estas, los efectos beneficiosos del calor fueron transitorios.

Los resultados sugieren que la aplicación alternante de calor resulta insuficiente en la recuperación de los animales en ABA. Asimismo, las conclusiones sobre los efectos beneficiosos de la aplicación continua de calor abren la puerta a su establecimiento como una herramienta útil en nuevos tratamientos para la Anorexia Nerviosa en humanos.

Palabras clave: anorexia nerviosa, Anorexia Basada en la Actividad, calor, temperatura ambiente, ciclo de luz-oscuridad.

Número de palabras del trabajo: 7999

Abstract

This research builds on the studies on ambient temperature as a key influence in the recovery of rodents exposed to the Activity-Based Anorexia (ABA) model. The ABA model is an experimental paradigm in which rodents under a restricted feeding schedule and with free access to an activity wheel show signs that parallel those of Anorexia Nervosa in humans.

The present study focuses on the effects of applying heat during the different phases of the dark-light cycle in the activity levels, body weight, food intake and body temperature and recovery rates of 36 male rats submitted to ABA.

After reaching a 20% weight loss criterion, animals were randomly assigned to three experimental conditions: (a) continuous warming (b) warming during the light phase or (c) warming during the dark phase. Differential effects were found depending on the modalities of warming: in comparison with either light or dark warming, continuous warming significantly decreased activity, facilitated weight gain and maintained body temperature. Transient effects of warming were found both in the groups warmed during light and dark periods.

The results suggest that both light and dark warming did not promote recovery in animals exposed to ABA. Evidence about the beneficial effects of continuous warming are in line with previous research and reinforces adding external heat as a useful tool in treatment of Anorexia Nervosa.

Keywords: anorexia nervosa, Activity-Based Anorexia, heat, ambient temperature, light-dark cycle.

Number of words: 7999

Introducción

La presente investigación está enmarcada en la línea iniciada por Gutiérrez, Vázquez y Boakes (2002) dedicada a estudiar la influencia de la temperatura ambiental¹ en el paradigma experimental de Anorexia Basada en Actividad. Los animales bajo estas condiciones replican numerosa sintomatología de la Anorexia Nerviosa² en humanos, siendo de gran utilidad en el estudio de los aspectos bioconductuales asociados a dicha patología (Schalla y Stengel, 2019).

Con el objeto de contextualizar este trabajo, se presenta una revisión teórica acerca de los aspectos más relevantes del mismo.

a) La Anorexia Nerviosa

Categorizada como trastorno alimentario y de la ingesta de alimentos en el DSM-5 (APA, 2013), la AN se caracteriza por tres síntomas principales: (a) restricción excesiva de la ingesta que conduce a un peso corporal significativamente bajo, (b) miedo intenso a ganar peso y (c) alteración en la percepción del propio cuerpo o figura corporal. En función de las estrategias utilizadas como mecanismo de pérdida de peso, la taxonomía distingue dos subtipos: purgativo y restrictivo.

Frecuentemente, la AN surge asociada a un acontecimiento vital estresante y su curso es variable (APA, 2013; Bruch, 2002). Es el trastorno de la conducta alimentaria con mayor tasa de mortalidad, y presenta un pico de incidencia reseñable entre los 15 y 19 años, y una alta prevalencia en mujeres³, (Smink, van Hoeken y Hoek, 2012), teniendo asociadas una serie de alteraciones fisiológicas y endocrinas derivadas de la desnutrición. Entre estas se encuentran

¹ A partir de este momento, las siglas TA se utilizarán para hacer referencia a la temperatura ambiental.

² A partir de este momento, las siglas AN se utilizarán para hacer referencia a la Anorexia Nerviosa.

³ La APA (2013) estima una ratio mujeres-hombres de 1:10, lo que justifica en el presente trabajo la utilización del femenino plural a la hora referirse a la población más afectada.

anemia, bradicardia, alteraciones en los ciclos de sueño-vigilia, hipotermia, hipotensión y lanugo (Zipfel, Giel, Bulik, Hay y Schmidt, 2015). Así, la AN es el trastorno mental con más signos físicos observables asociados⁴ (Gutiérrez y Carrera, 2014), siendo imposible en muchas ocasiones diferenciar la sintomatología primaria del trastorno, de aquella derivada de la desnutrición⁵.

Según Davis y Attia (2017) no existen tratamientos farmacológicos que hayan mostrado una eficacia superior al placebo en la reducción de la psicopatología de AN. En el ámbito psicológico, la evidencia parece concentrarse en la población adolescente, a favor de la terapia familiar, mientras que la evidencia de eficacia en adultos parece ser débil⁶ (Zipfel et al., 2015; Gutiérrez y Carrera, 2016, 2018). Así, aunque existen perspectivas variadas acerca de la etiología y tratamiento del trastorno, ninguna de ellas ha probado ser lo suficientemente provechosa para producir tratamientos efectivos (Halmi, 2009).

Gutiérrez y Carrera (2014) interpretan la ausencia de evidencia sólida en este campo como consecuencia de los modelos etiológicos tradicionales, centrados en aspectos poco observables del trastorno y asentados sobre constructos complejos, como los trastornos de la imagen corporal. Así, surge la necesidad de plantear nuevas perspectivas en el estudio de la AN. Para ello, atender a fenómenos bioconductuales implicados en el curso del trastorno podría ser una estrategia productiva para una redefinición del mismo. Un ejemplo de dicha aproximación lo constituyen las aportaciones centradas en un síntoma particular: la hiperactividad.

⁴ De hecho, hasta el año 2013, la amenorrea era un criterio fundamental para el diagnóstico de la AN según el DSM-4-TR (APA, 2002), siendo mantenida en la actualidad por otras taxonomías como la CIE-10 (OMS, 1992).

⁵ De hecho, en la literatura se recogen importantes paralelismos entre los síntomas cognitivos, fisiológicos y conductuales de la AN y los que surgen en periodos de escasez de alimentos, interpretados por algunos autores como fenómenos que pudieron tener utilidad adaptativa en otro momento de la filogenia (Casper y Davis, 1977; Södersten, Bergh y Zandian, 2006). Estos postulados pertenecerían a la llamada Psiquiatría Evolutiva, que estudia cómo la evolución humana ha influido en la manifestación de determinados rasgos psicológicos, así como trastornos mentales actuales. A este respecto Scolnick y Mostofsky (2014), presentan una analogía entre los fenómenos característicos de AN y los que se dan en procesos de hibernación.

⁶ Ver Anexo A.

b) La Hiperactividad en la AN

Aunque la hiperactividad ha estado presente en las descripciones clínicas desde las primeras definiciones del trastorno (Gull, 1874), los modelos etiológicos predominantes en el último siglo la han considerado una estrategia subsidiaria a un deseo de perder peso y no un síntoma en sí mismo (Bruch, 2002; Davis, 1997). En esta línea, los sistemas diagnósticos actuales no atribuyen valor diagnóstico a dicha hiperactividad (APA, 2013; OMS, 1992)⁷.

De acuerdo con Hebebrand et al. (2003) esta falta de consideración de la hiperactividad se debe a la ausencia de consenso respecto a su operativización en la literatura científica⁸, apareciendo bajo una gran variedad de etiquetas conductuales⁹ (Casper, 2006).

Una alternativa a la noción tradicional de la hiperactividad es la que concibe como consecuencia de la desnutrición, considerándola un síntoma central del trastorno. En esta línea, Kron, Katz, Gorzynski y Weiner (1978) fueron los primeros en presentarla como una característica clínica fundamental de la AN. Estos autores encontraron que veinticinco de treinta y tres pacientes diagnosticadas de AN presentaban actividad excesiva, manifestada fundamentalmente a través de ejercicio físico. Dicha hiperactividad fue descrita como un síntoma temprano y duradero del trastorno, que no debía ser reducido a una estrategia de pérdida de peso. A pesar de las limitaciones metodológicas de este trabajo¹⁰, dicha tesis se ha visto apoyada por estudios en los que la prevalencia de hiperactividad en la AN se estima en un 70-80% (Casper, 2006; Davis, 1997). Así, Davis, Kennedy, Ravelski y Dionne (1994) encontraron en el 75% de sus pacientes con trastornos alimenticios una relación inversamente proporcional entre ingesta y ejercicio físico en la fase aguda del trastorno. Además, la

⁷ En lo que respecta al DSM-5 (APA, 2013), se menciona que la actividad excesiva puede darse en un subgrupo de pacientes. A este respecto, en la CIE-10 (OMS, 1992) el ejercicio físico excesivo recibe levemente más atención, siendo incluido en una nota diagnóstica al nivel de otros síntomas como el consumo de anorexigénicos y/o diuréticos. Sin embargo, dichas conductas se consideran “características que apoyan el diagnóstico, pero no son elementos esenciales”. Así, según Carrera y Gutiérrez (2018), la hiperactividad sería la “cenicienta” en los sistemas diagnósticos en lo que respecta a la AN.

⁸ De hecho, la investigación aún no ha llegado a determinar qué nivel de actividad puede considerarse excesivo, o si este adjetivo es adecuado para caracterizar dicha conducta (Meyer, Taranis y Touyz, 2008).

⁹ Casper (2006), en una exhaustiva revisión bibliográfica, recoge las diferentes conductas bajo las que se pueden observar diversas formas de hiperactividad. Estas se recopilan en una tabla adaptada que se presenta en el apartado de Anexo B.

¹⁰ Gran parte de la información recogida en la investigación se realizó de manera retrospectiva.

implicación en dicha actividad evolucionaba de una forma voluntaria y placentera hacia otra obsesiva, en la que las pacientes simplemente no podían parar de hacer ejercicio. En la misma línea, Klein, Mayer, Schebendach y Walsh (2007) encontraron que el 42% de pacientes hospitalizadas presentaban niveles excesivos de ejercicio físico en los tres meses previos a su hospitalización¹¹. Basándose en la alta prevalencia de hiperactividad en el trastorno, Casper (2006) justifica su inclusión como criterio diagnóstico de, al menos, un subtipo de anorexia.

Los trabajos comentados coinciden en la identificación de privación alimenticia asociada a progresivos incrementos en la actividad física, lo que propició la aparición de la teoría de Anorexia Basada en Actividad, una aproximación bioconductual a la sintomatología de la AN.

c) La teoría de la Anorexia Basada en Actividad¹²

Acuñada por Epling, Pierce y Stefan (1983) la teoría que subyace al modelo ABA relaciona dos aspectos considerados fundamentales en la AN: la hiperactividad y restricción de la ingesta. Esta teoría se fundamenta en los trabajos de Kron et al. (1978) y Routtenberg y Kuznesof (1967), en los que ratas sometidas a un horario de ingesta restringido a treinta minutos diarios aumentaban actividad al tener acceso a una rueda durante el resto del día. Paralelo al incremento en la actividad, los animales redujeron su ingesta progresivamente, llegando a fallecer de inanición de no ser retirados del experimento.

Según esta teoría, una restricción en la ingesta calórica induce la realización de ejercicio físico, el cual, en niveles excesivos, suprime el apetito y, en consecuencia, la ingesta. El aumento de actividad, sumado a una reducción en la ingesta, implicaría un incremento en el valor motivacional del primero en detrimento del segundo, entrando el individuo en una espiral de la que no podría salir de forma voluntaria. Así, los autores estiman que hasta un 75% de los casos de AN estarían basados en la interrelación entre la oportunidad de emprender ejercicio

¹¹ Una de las ventajas metodológicas de este estudio es que se monitorizó la actividad de las pacientes en la propia hospitalización a través de dispositivos que registraban la actividad en rangos de 48 horas, lo que permitía la cuantificación de la actividad motora. Esta fue relacionada, además, con niveles elevados de cortisol en orina.

¹² A partir de este momento, las siglas ABA se utilizarán para hacer referencia tanto al modelo teórico de Anorexia Basada en Actividad como a la condición experimental utilizada en esta investigación y las consecuencias bioconductuales que de ella se derivan.

físico y una restricción calórica; estos serían ejemplos de anorexia por actividad (Epling et al., 1983)¹³.

c.1.) El modelo animal ABA

El modelo ABA está basado en dos aspectos fundamentales que deben coexistir: (a) acceso libre a una rueda de actividad y (b) periodo de alimentación restringido (Carrera, Fraga, Pellón y Gutiérrez, 2014; Schalla y Stengel, 2019). Los animales bajo estas condiciones replican sintomatología de la AN en humanos tal como restricción de ingesta, bajo peso corporal, actividad excesiva, hipotermia o interrupción del ciclo estral (ver Anexo C). El modelo también replica alteraciones en el ritmo circadiano de sueño-vigilia (Watanabe, Hara y Ogawa, 1990) y otros síntomas menos frecuentes en la AN, como úlceras estomacales¹⁴. No es extraño, pues, que sea considerado el mejor modelo animal del trastorno (Casper, Sullivan y Tecott, 2008).

La investigación en ABA se ha centrado en la prevención del fenómeno y en su reversión una vez este se ha desarrollado. Estas intervenciones han estado centradas en la modificación del medio interno del animal a través de la administración de fármacos, obteniéndose en este ámbito resultados contradictorios (Gutiérrez, 2013). Sin embargo, en las dos últimas décadas ha surgido una aproximación que busca revertir las consecuencias de ABA mediante la modificación del medio externo del animal. En esta línea, según Gutiérrez et al. (2002) solamente dos manipulaciones ambientales han demostrado ser efectivas en la recuperación de los animales tras una pérdida de peso excesiva: suspender el acceso a la rueda y permitir alimentación *ad lib*, o aumentar la TA.

¹³ Algunas perspectivas acusan a este modelo de no valorar la influencia de los factores socioculturales en el curso del trastorno. Sin embargo, los propios padres de la teoría explicitan que estos juegan un papel fundamental, especialmente al inicio del trastorno. De hecho, la teoría ABA explica la mayor incidencia de AN en el género femenino al ser este colectivo el más susceptible de someterse a proyectos de dietas y programas de ejercicio excesivo, fruto de las presiones ejercidas por los cánones de belleza que abogan por la delgadez. A medida que avanza el trastorno, los aspectos bioconductuales ganarían protagonismo, debiendo ser los objetivos del tratamiento (Epling et al., 1983; Epling y Pierce, 1988).

¹⁴ De hecho, el modelo ABA surgió de la investigación en el campo de úlceras estomacales por estrés. Son los criterios de retirada de la condición experimental los que determinan la utilidad del modelo para cada propósito de estudio, en tanto que la investigación ha puesto de relieve que las úlceras aparecen con una pérdida de peso superior al 30% (Doerries, Stanley y Aravich, 1991).

c.2.) La TA y la hipótesis termorregulatoria de la actividad

La relevancia de la TA en la génesis y desarrollo de ABA fue señalada por primera vez por Gutiérrez et al. (2002)¹⁵. Los autores plantean una hipótesis de la etiología de la hiperactividad exhibida por los animales en ABA, exponiendo los mecanismos mediante los que una TA elevada puede mejorar los resultados de la condición experimental. Para ello, parten de la teoría de la termorregulación de Brobeck (1997), según la cual tanto la conducta de ingesta como la actividad motora son mecanismos de regulación de la temperatura corporal.

Partiendo de esta tesis, Gutiérrez et al. (2002) interpretan la actividad de las ratas en ABA como un mecanismo destinado a compensar la hipotermia causada por la restricción de comida. Sin embargo, dicho intento de mantener la temperatura corporal deriva en una hipotermia cada vez más marcada, pues posiciona al organismo en una situación de deuda calórica. Este déficit se ve potenciado al interferir la actividad física excesiva en la conducta de ingesta del animal, comprometiendo su vida de forma severa.

En esta línea, aplicar una TA elevada a animales en ABA supondría la introducción de un mecanismo sustitutivo de la actividad motora en su papel termogénico, de modo que el animal no tendría que recurrir al ejercicio físico para generar calor. El calor externo beneficiaría la ganancia de peso tanto de forma directa, disminuyendo la hiperactividad, como indirecta, interrumpiendo el efecto supresor de esta sobre la ingesta. En tanto que la hipotermia y la actividad excesiva son características de la AN en seres humanos, los autores postulan posibles beneficios de la aplicación de calor en el trastorno (Gutiérrez et al., 2002).

En el primer artículo acerca de los efectos de la TA en ratas en ABA, Hillebrand, Rijke, Brekkee, Kas y Adan (2005) describen la preferencia de los animales por una zona de su jaula donde se les administraba calor frente a otras donde la TA era estándar. Así, las ratas que tuvieron acceso a un plato a 37°C¹⁶ vieron atenuada la hipotermia desencadenada a lo largo del

¹⁵ Esta revisión puso de manifiesto que la TA había sido un factor ignorado en la investigación en el modelo ABA. Los autores atribuyen esta desconsideración a que la primera investigación centrada en los efectos de la TA estaba enmarcada en la investigación de úlceras (Morrow et al., 1997). Morrow et al. (1997) demostraba que una TA elevada disminuía de forma significativa la aparición de úlceras por estrés, aumentando en consecuencia la supervivencia de los animales.

¹⁶ Es importante recalcar que en dicho estudio se contaba con medidas de control de temperatura que confirmaron que la fuente de calor no modificó la temperatura ambiente general (21±2°C).

procedimiento ABA, mostrando, además, menores niveles de actividad que otras en ABA sin acceso al plato. Aunque no se encontraron efectos del calor en la ingesta, los animales con acceso a la fuente de calor recuperaron más peso.

Posteriormente, Cerrato (2010) estudió los efectos de la manipulación de la TA en animales en ABA, activos, y en animales sometidos exclusivamente a restricción de ingesta, sedentarios. Las temperaturas utilizadas fueron 32°C, por encontrarse por encima de la zona termoneutral¹⁷ del animal, y 21°C. En el caso de los animales activos, se encontró que aquellos a 21°C triplicaron la actividad de sus equivalentes a 32°C, siendo la pérdida de peso mayor en el primer grupo; además, el calor estimuló la ingesta de los segundos. Con respecto a los animales sedentarios, la TA elevada redujo su ingesta, pero esto no repercutió negativamente en su peso en comparación con sus equivalentes a 21°C. Además, todos los animales activos calentados alcanzaron el criterio de recuperación predefinido, mientras que ocho de nueve animales activos a 21°C alcanzaron el criterio de retirada¹⁸.

Cerrato (2010) interpreta los resultados desde la hipótesis termorregulatoria de la actividad: aplicar calor externo permitiría al animal utilizar menos recursos metabólicos en el mantenimiento de la temperatura corporal, lo que explicaría la reducción de la ingesta en los animales sedentarios y la disminución de actividad en los activos. Esto se ve reforzado por el hecho de que la disminución de la ingesta de los animales sedentarios no repercutió de forma negativa en su peso.

Losada, Davila, Fraga y Gutiérrez (2018) estudiaron el papel de la TA en la recuperación de ABA, utilizando cuatro grupos de animales a diferentes TA (21°C, 24°C, 28°C y 32°C). El grupo a 32°C exhibió los menores niveles de actividad, mayores niveles de ingesta y un peso corporal superior en comparación con los demás, alcanzando todos los animales de este grupo el criterio de recuperación predefinido. Además, se encontró una relación directa y

¹⁷ El concepto de zona termoneutral es definido por Gordon (1990) como el rango de temperatura corporal en el que el gasto metabólico es mínimo y la temperatura corporal está regulada principalmente por la modulación del tono vasomotor periférico. En ratas oscila entre 27°C y 30°C.

¹⁸ En su tesis doctoral, destinada a estudiar el papel de la TA en el desarrollo de ABA, Cerrato (2010) subsana algunas de las limitaciones del estudio de Gutiérrez, Baysari, Carrera, Whitford y Boakes (2006), en el que se estudió el efecto de una TA elevada en ratas en ABA. En este estudio, los medios del laboratorio no permitían un control individualizado de la TA, establecida en 27°C-29°C. La utilización de incubadoras por Cerrato (2010) permitió un control máximo sobre la TA, la cual se elevó a 32°C, argumentando que la escogida en el estudio anterior, fue insuficiente al encontrarse en el rango inferior de la zona termoneutral de las ratas.

positiva entre TA y porcentaje de animales recuperados, aumentando las tasas de supervivencia a medida que aumentaba la TA, y refiriéndose una relación inversa entre TA y niveles de actividad.

Davila, Fraga, Losada y Gutiérrez (2018) compararon tres programas de recuperación en animales en ABA que habían perdido un 20% de su peso original¹⁹: (1) suspender el acceso a rueda, (2) suspender la alimentación restringida y (3) elevar la TA a 32°C. Aunque las tasas de recuperación fueron similares en todas las condiciones, se observaron diferencias en el ritmo circadiano de temperatura entre las diferentes modalidades de tratamiento. Así, la temperatura corporal de los animales disminuyó progresivamente en las fases de luz antes de iniciarse los tratamientos. Sin embargo, los animales que tuvieron acceso *ad libitum* a comida como forma de recuperación estabilizaron su temperatura corporal, mientras que los que vieron suspendido su acceso a la rueda registraron mínimos de temperatura muy por debajo de los normales en la fase de luz. Desde la teoría de Brobeck (1997), los animales sin acceso a rueda y sometidos a restricción de comida habrían experimentado la hipotermia más agresiva al verse privados de sus dos mecanismos termorregulatorios.

d) Hipótesis y objetivos del estudio

Como acaba de presentarse, existe evidencia acerca del papel beneficioso del calor en la recuperación de animales expuestos a ABA. Sin embargo, hasta donde llega el conocimiento del autor del presente trabajo, la literatura no recoge investigaciones que atiendan a los efectos del calor en las diferentes fases del ciclo de luz-oscuridad.

Así pues, el objetivo concreto de esta investigación es comprobar si existen diferencias en las variables de actividad, peso, ingesta, temperatura corporal y tasas de recuperación de animales expuestos a una TA de 32°C en función de si esta es aplicada exclusivamente en la fase de luz, exclusivamente en la fase de oscuridad o en ambas fases del ciclo de luz-oscuridad.

Partiendo de los resultados de Losada et al. (2018), se plantea la hipótesis de que la aplicación de calor en la fase de luz ayudaría a prevenir la hipotermia acentuada que presentan

¹⁹ Al igual que en los estudios de Cerrato (2010) y Losada, Davila, Fraga y Gutiérrez (2018) los diferentes tratamientos se iniciaron una vez el animal alcanzó el 80% de peso original. La fase pre-tratamiento o Fase 1 hace referencia al periodo en el que todos los animales están en las condiciones de ABA de restricción alimenticia y acceso libre a la rueda de actividad.

los animales en dicha fase y, en consecuencia, disminuiría la actividad. Se esperaría, así, que elevar la temperatura en la fase de luz redujese la actividad del animal a lo largo del día, favoreciendo la ingesta y, en consecuencia, la ganancia de peso, obteniendo mayores tasas de recuperación que el grupo calentado exclusivamente en la fase de oscuridad.

Método

a) Participantes

Treinta y seis ratas macho Sprague-Dawley, peso entre 161-185 g., fueron adquiridas del Animalario Central de la USC y alojadas comunalmente durante dos días, con acceso a comida y agua *ad libitum*. Las luces se programaron en un ciclo de 12h:12h. luz-oscuridad, permaneciendo encendidas 09:00h. a 21:00h..

El estudio se realizó bajo la aprobación de los procedimientos por el Comité Ético del Uso y Cuidado de los Animales de la Universidad de Santiago de Compostela. Todos los experimentos se realizaron siguiendo el Real Decreto 53/2013 del 1 de febrero y la Directiva 2010/63/UE, poniéndose especial cuidado en evitar sufrimiento a los animales.

b) Materiales

El laboratorio disponía de doce cajas de metacrilato transparente de 21x45x24cm. En uno de los lados de cada caja se dispuso una rueda de actividad de 1.1 m. de desarrollo y superficie de 10 cm. de ancho, conectada al ordenador de registro. En el otro lateral, se situó una rejilla metalizada donde se depositaba la comida y el agua. Las cajas fueron acondicionadas con virutas e introducidas en incubadoras de madera (60x60x60cm³) con techos de policarbonato transparente. Cada incubadora estaba provista de una lámpara de calor de 150 W., conectada a un termostato digital, cuya sonda se posicionó al nivel del animal, posibilitando un control individualizado de la temperatura ambiente.

Se utilizaron transmisores E-Mittertm para registrar la temperatura corporal de cada animal. Dicha información se sincronizó con los datos de actividad para cada animal en el ordenador mediante el programa VitalViewtm. Las mencionadas variables fueron registradas minuto a minuto durante todo el experimento.

La comida, pellets de pienso, y el agua se pesaron con básculas milimétricas de precisión.

Se utilizaron temporizadores para programar el encendido de las incubadoras en las horas deseadas.

c) Procedimiento

Las ratas fueron encargadas de forma sucesiva, en tres tandas de doce. A su llegada del animalario, fueron alojadas comunalmente durante dos días, con agua y comida *ad libitum*. Los animales fueron operados para la implantación del transmisor E-Mittertm, siendo anestesiados con ketamina (8,5ml.) y xilazina (4,5ml). El transmisor fue alojado subcutáneamente en la zona abdominal, utilizándose seda del 2 para la sutura y Betadine para evitar infecciones. Los animales se alojaron en cajas individuales para su recuperación durante siete días, siendo pesados diariamente a las 18:00h., disponiendo de comida y agua *ad libitum*.

Tras el postoperatorio, en el Día0, los animales fueron pesados y trasladados a las cajas con rueda de actividad, comenzando el procedimiento ABA (Fase 1²⁰). Tanto la retirada de la comida como la apertura del acceso a la rueda tuvieron lugar a las 19:30²¹ para todas las ratas. Desde el Día1 en adelante, los animales fueron pesados a las 18:00h. y recibieron la comida de 19:00h. a 20:30h., periodo en el que se impidió el acceso a las ruedas. La temperatura del laboratorio se estableció en 21°C. La ingesta diaria se calculaba pesando la comida al inicio y final de cada periodo de alimentación; la ingesta de agua se calculaba diariamente a las 18:00h. El criterio de terminación de esta fase fue que los animales perdiesen un 20% de su peso original (CPP20%), en el denominado DíaCPP20%.

Tras alcanzar el CPP20% comenzó la Fase 2²², con la asignación aleatoria de los animales a tres condiciones experimentales:

²⁰ A partir de este momento, la abreviatura F1 se utilizará para hacer referencia a la Fase 1.

²¹ La primera semana de experimento tuvo lugar antes del cambio de hora correspondiente al mes de marzo, de modo que los horarios del experimentador se adaptaron para mantener intactas las rutinas de los animales con respecto a su ciclo de luz-oscuridad.

²² A partir de este momento, la abreviatura F2 se utilizará para hacer referencia a la Fase 2.

- a) 32°C en fase de luz (A32-L), programándose la incubadora para encenderse a las 09:00h. y apagarse a las 20:59h. y cerrándose su puerta, que hasta ese momento permaneció abierta.
- b) 32°C en fase de oscuridad (A32-D), programándose la incubadora para encenderse a las 21:00h. y apagarse a las 8:59h., cerrándose su puerta.
- c) 32°C en las dos fases del ciclo (A32-C) encendiéndose la incubadora inmediatamente tras el alcance de CPP20% y cerrándose la puerta.

Estas condiciones se mantuvieron hasta que las ratas alcanzaron el criterio de retirada, es decir, encontrarse por debajo del 75% de su peso inicial durante dos días consecutivos, o el criterio de recuperación, operativizado como un peso corporal en un día cualquiera, Día_n, mayor o igual que el peso corporal en el Día_{n-4}, como se establece habitualmente para el procedimiento ABA (Gutiérrez et al., 2006; Routtenberg y Kuznesof, 1967).

d) Análisis estadístico

En el presente estudio se analizaron seis variables dependientes: actividad, peso, ingesta de comida, temperatura corporal²³, días en alcanzar el CPP20% y días en alcanzar el criterio de retirada o recuperación. Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS Statistics 22.

Para comprobar la equivalencia de los diferentes grupos de tratamiento en las variables dependientes en F1, se realizó para cada variable un ANOVA de medidas repetidas, incluyendo *DíasF1* (Día-3, -2, -1 y CPP20%) como factor intrasujetos y *Grupo* (A32-Light, A32-Dark y A32-Continue) como factor entresujetos.

El efecto del tratamiento se evaluó a través de una serie de ANOVAS de medidas repetidas para cada variable, incluyendo *DíasF2* (Día1, 2 y Final) como factor intrasujetos y *Grupo* (A32-Light, A32-Dark y A32-Continue) como factor intersujetos. Se utilizó la corrección de Greenhouse-Geisser para los datos que no cumplieren el supuesto de esfericidad²⁴.

²³ A partir de este momento, la abreviatura TC se utilizará para hacer referencia a la temperatura corporal.

²⁴ El nivel de significación mínimo tomado en todos los análisis fue de .05.

Análogamente, los análisis se repitieron para la actividad y TC en las fases de luz y oscuridad de F1 y F2. Para analizar la actividad en las fases de luz de F1 se utilizó el factor *ActividadLuzDíasF1* (*ActividadLuzDía*-3, -2, -1 y CPP20%) como intrasujeto y el factor *Grupo* como entresujetos; para la actividad en oscuridad, se substituyó el primer factor por el *ActividadOscuridadDíasF1*. Para TC en las fases de luz y oscuridad de F1 se repitieron los análisis utilizándose como factores intrasujeto *TCLuzDíasF2* y *TCOscuridadDíasF1*, respectivamente, y *Grupo* como factor entresujetos. La actividad y TC en las fases de luz y oscuridad de los días de F2 se analizaron de forma análoga a como se hizo en F1, utilizándose los factores *ActividadLuzDíasF2* o *ActividadOscuridadDíasF2* y *Grupo* para actividad; *TCLuzDíasF2* o *TCOscuridadDíasF2* y *Grupo* fueron los factores utilizados para TC.

Para analizar las diferencias entre grupos en los días requeridos para alcanzar tanto CPP20% como el criterio de recuperación o retirada, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. Asimismo, se aplicó una prueba Chi-cuadrado para analizar las diferencias en las tasas de recuperación y retirada entre grupos.

Resultados

De las treinta y seis ratas que comenzaron el experimento, seis fueron excluidas de los análisis debido a pérdidas de peso bruscas que las situaban por debajo del criterio de retirada (tres), defectos en las incubadoras (dos) y, en una ocasión, a no desarrollar el fenómeno ABA. Las treinta ratas restantes alcanzaron el CPP20% en una media de seis días (3-10 días), sin existir diferencias significativas entre grupos (*U de Mann Whitney* (2,30)=1.935, $p=.380$). Para comprobar que el peso de los animales era equivalente el día de entrada en el experimento, Día0 (ver Anexo D), se llevó a cabo un ANOVA unifactorial con *Grupo* (A32-D, A32-L y A32-C). Los resultados obtenidos en dicho análisis no arrojaron diferencias significativas ($F_{(2,29)}=.457$, $p=.638$).

a) Fase 1

Tal y como se describió en el apartado de *Procedimiento*, en F1 todos los animales se encontraban bajo las mismas condiciones, estando expuestos al procedimiento ABA a una TA de 21°C hasta que alcanzaron una pérdida del 20% de su peso original. Las medias de cada grupo en las variables dependientes (VD) se representan en las Figuras 1-2. En tanto que cada rata alcanzó dicho punto en días diferentes del experimento (algunas al tercer día), se representan los datos, como $\text{media} \pm \text{SEM}$, de los tres días anteriores a que cada animal, individualmente, alcanzara el CPP20%. Los resultados obtenidos para comprobar la homogeneidad de las medidas registradas en F1 se presentan en el Anexo E.

Estos resultados revelan efectos principales significativos únicamente para el factor *DíasF1* en todas las VD analizadas (ver Anexo E). En ningún caso se registraron diferencias significativas entre los grupos a lo largo de esta fase ni existió interacción entre ambos factores. Esto indica que el comportamiento de los grupos en todas las variables a lo largo de la fase fue homogéneo, sin existir diferencias entre los mismos.

En la Figura 1, paneles A y B, se representan los cambios para actividad y peso, respectivamente, a lo largo de los distintos momentos temporales para cada una de las fases. Como puede observarse, los animales exhibieron un aumento de su actividad desde el primer día de acceso a la rueda hasta el día en el que alcanzaron el CPP20%. Así, la actividad media realizada en el día CPP20% casi cuadruplicó a la exhibida en el Día-3, llegando algunos animales a correr en la rueda el equivalente a una distancia de 22km. En cuanto al peso, su evolución fue inversa, disminuyendo de forma progresiva en todos los grupos desde el primer día de acceso a la rueda de actividad (ver Figura 1B).

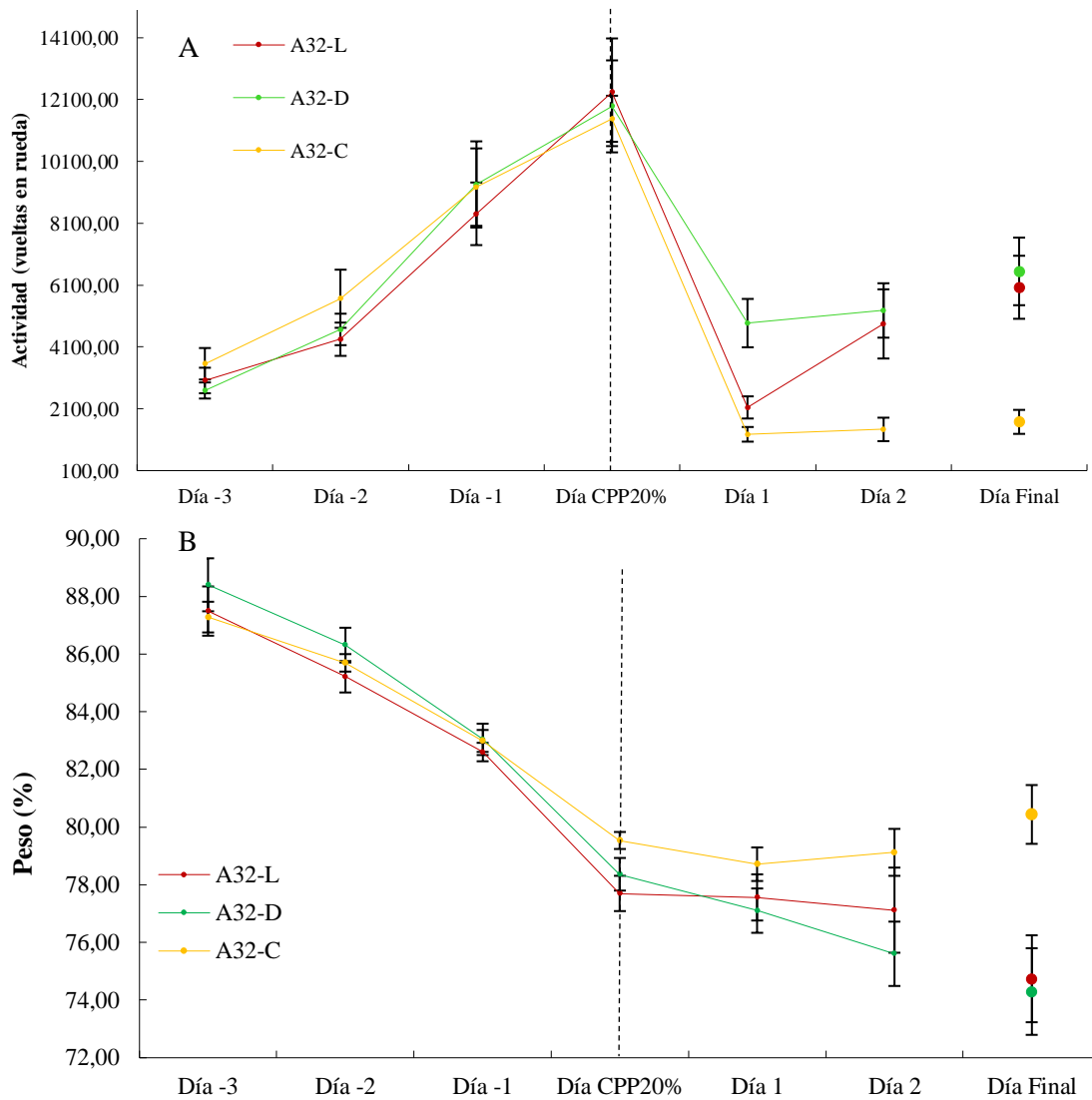


Figura 1. Media \pm SEM para actividad (Figura 1A) y peso corporal relativo al día de inicio de experimento (Figura 1B) para los días previos y posteriores al Día CPP20%. La línea entrecortada marca el final de F1 y el comienzo de F2.

En la Figura 2, paneles A y B, se representan los cambios para la ingesta²⁵ y TC, respectivamente. En lo que respecta a la ingesta, se observa un aumento progresivo en los tres grupos desde el inicio del experimento. Con respecto a la TC media, se aprecia un descenso progresivo en los tres grupos a lo largo de esta fase (ver Anexo E).

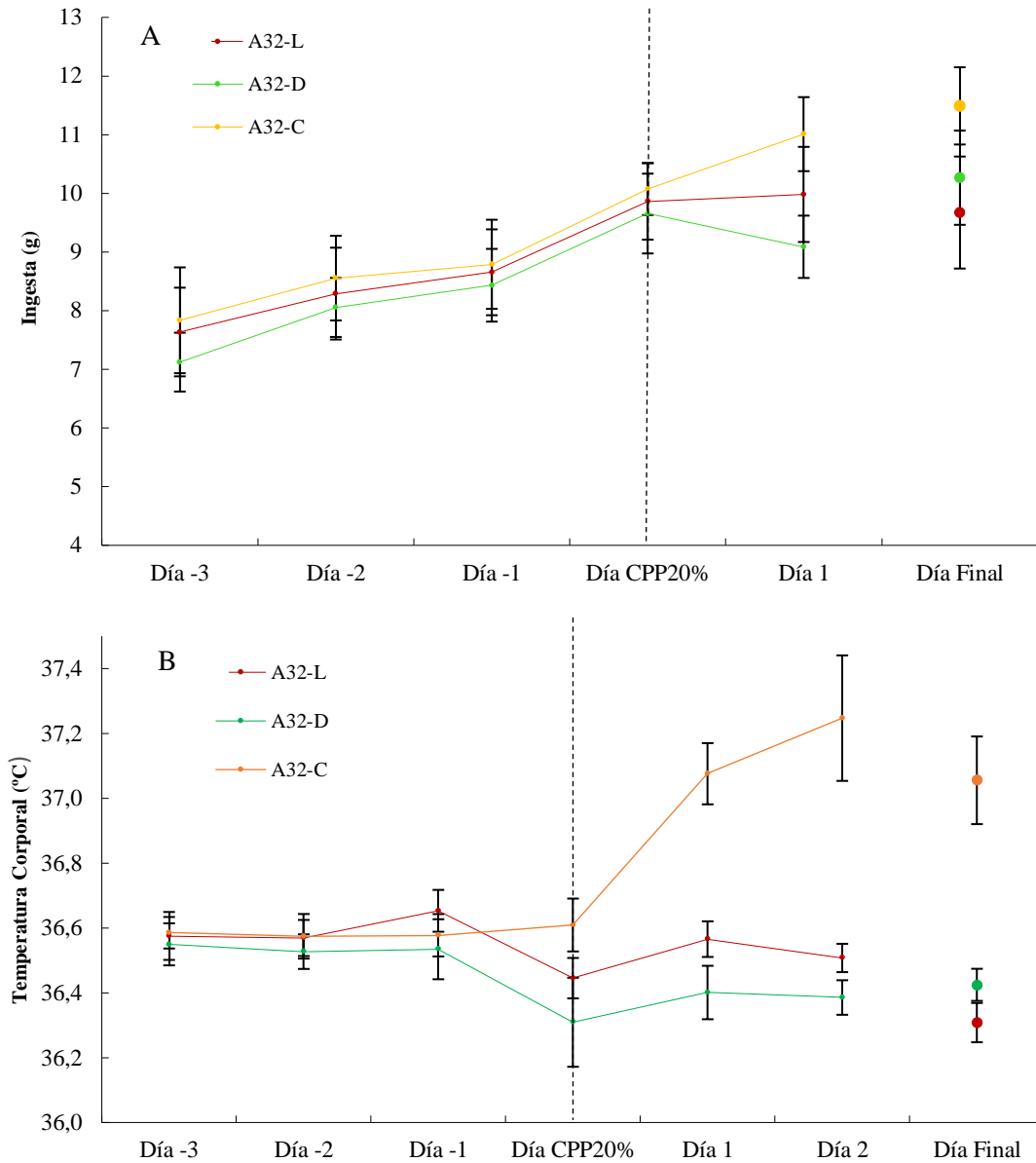


Figura 2. Media \pm SEM para ingesta (Figura 2A) y TC (Figura 2B) para los días previos y posteriores al Día CPP20%. La línea entrecortada marca el final de F1 y el comienzo de F2.

²⁵ La ingesta de los grupos A32-L y A32-D para F1 abarca los cuatro primeros puntos de la abscisa, mientras que, para el grupo A32-C, la ingesta en CPP20% ya forma parte de F2.

b) Fase 2

Los registros en las variables a lo largo de F2 aparecen representados en las Figuras 1-2 en tres puntos temporales diferentes (Día1, 2 y Final). Los resultados obtenidos en el análisis para comprobar si la aplicación de calor en diferentes momentos provocó cambios significativos en la respuesta de los animales se recogen en el Anexo F.

Por lo que respecta a la actividad, los resultados ponen de manifiesto la presencia de efectos principales significativos para los dos factores implicados, así como interacción significativa entre ambos (ver Anexo F). Como puede apreciarse en la Figura 1A, la actividad se vio drásticamente reducida en todos los grupos desde el comienzo de F2. Sin embargo, dicha reducción no fue equivalente en los tres grupos, ni su evolución similar, como revela la interacción encontrada entre estos factores. Las pruebas post-hoc realizadas indican que, en el Día1, el grupo 32-D corrió significativamente más que los animales de las otras condiciones ($\bar{X}_{A32-D} - \bar{X}_{A32-L} = 2728$, $p \leq .002$; $\bar{X}_{A32-D} - \bar{X}_{A32-C} = 3598$, $p \leq .001$), siendo el grupo A32-C el que exhibió menor actividad. En lo que respecta a la actividad en el Día2 y Final, las diferencias son significativas entre el grupo A32-C y cada uno de los otros grupos ($\bar{X}_{A32-C} - \bar{X}_{A32-D} = -4867$, $p \leq .003$; $\bar{X}_{A32-C} - \bar{X}_{A32-L} = -4353$, $p \leq .006$), pero no entre estos últimos (ver Figura 1A).

Con respecto al peso, los análisis revelaron efectos principales significativos para *DíasF2*, así como interacción significativa entre este y *Grupo*. Como puede observarse en la Figura 1B, a pesar de que inicialmente se mantiene la tendencia de pérdida de peso a lo largo de F2, esta no transcurre de manera similar para los tres grupos. Para explorar las diferencias de peso entre los grupos en el DíaFinal, se analizaron los efectos simples para el factor *Grupo* en el nivel DíaFinal del factor *DíasF2*. Los resultados obtenidos revelan diferencias significativas ($F_{(2,29)} = 5.423$, $p = .010$). Las pruebas post-hoc correspondientes pusieron de relieve que estas diferencias ocurrieron entre el grupo A32-C con respecto a cada uno de los otros ($\bar{X}_{A32-C} - \bar{X}_{A32-D} = 14.67$, $p \leq .044$; $\bar{X}_{A32-C} - \bar{X}_{A32-L} = 17.51$, $p \leq .020$), pero no entre estos últimos. Así, en F2 se mantiene la tendencia de pérdida de peso en las condiciones A32-L y A32-D, mientras que, para A32-C, el peso se estabiliza, llegando a situarse al nivel del DíaCPP20%. De este modo, en el DíaFinal, el grupo A32-C obtuvo un peso corporal significativamente mayor al de los grupos A32-L y A32-D.

En cuanto a la ingesta (ver Figura 2A), esta aumentó de forma progresiva en los tres grupos a lo largo de la F2, pero dicho incremento no alcanzó significatividad (ver Anexo F).

Así, los diferentes grupos mostraron un comportamiento similar en esta variable, sin existir diferencias entre estos en ningún día de F2.

Atendiendo a la TC (ver Figura 2B), todos los efectos resultaron significativos, tanto los principales (*DíasF2* y *Grupo*), como su interacción (ver Anexo F). Las pruebas post-hoc realizadas pusieron de relieve que la temperatura media de los animales del grupo A32-C fue significativamente superior a la de los grupos restantes en esta fase ($\bar{X}_{A32C}-\bar{X}_{A32L}=.5402$, $p\leq.001$; $\bar{X}_{A32C}-\bar{X}_{A32D}=.6167$, $p\leq.001$), sin existir diferencias significativas entre estos últimos. En lo que respecta al DíaFinal, el análisis de los efectos simples del factor *Grupo* puso de manifiesto la existencia de efectos significativos ($F_{(2,26)}=19.875$, $p\leq.001$). Las pruebas post-hoc correspondientes confirmaron que, en el DíaFinal, las diferencias se dieron entre el grupo A32-C y cada uno de los restantes ($\bar{X}_{A32C}-\bar{X}_{A32L}=.7474$, $p\leq.001$; $\bar{X}_{A32C}-\bar{X}_{A32D}=.6294$, $p\leq.001$), sin existir diferencias significativas entre estos últimos.

En el Anexo G se reflejan las tasas de recuperación y retirada para las diferentes condiciones. El análisis de contingencias realizado para estos resultados reveló una asociación estadísticamente significativa entre el tratamiento empleado y el resultado de la condición experimental, $\chi^2(2)=7.084$, $p\leq.029$, siendo esta moderada y directamente proporcional (coeficiente de contingencia=.437²⁶, $p\leq.029$).

Por último, no se apreciaron diferencias significativas en el número de días necesarios por los animales de las diferentes condiciones para alcanzar tanto el criterio de recuperación (*U de Mann-Whitney*(2,17)=.096, $p=.966$) como el de retirada (*U de Mann-Whitney*(2,13)=1.599, $p=.450$).

c) Evolución de la actividad y TC por fases en F1

A continuación, se presentan los resultados de los análisis efectuados para la actividad y TC de los diferentes grupos atendiendo a las diferentes fases del ciclo de luz-oscuridad. La evolución de la actividad a lo largo del experimento se representa en la Figura 3, mientras que la evolución de TC aparece recogida en la Figura 4. Los resultados de los análisis para estas variables se presentan en los Anexos H-I.

²⁶ El coeficiente de contingencia máximo obtenido para este contraste fue de 0.71.

c.1.) Actividad y TC en las distintas fases a lo largo de F1

Como puede comprobarse en el Anexo H, los resultados encontrados en los análisis revelaron efectos principales para los factores *ActividadLuzDíasF1*, *ActividadOscuridadDíasF1* y *TCLuzDíasF1*.

Estos resultados ponen de manifiesto una evolución homogénea de la actividad y TC en ambas fases del ciclo en los tres grupos en F1. Como puede observarse en la Figura 3, la actividad se vio incrementada progresivamente en las fases de luz y oscuridad, mientras que la temperatura disminuyó de forma progresiva solo en las fases de luz.

c.2.) Actividad y TC en las distintas fases a lo largo de F2

Los resultados de los análisis efectuados para la actividad y TC exhibida por los diferentes grupos atendiendo a las diferentes fases del ciclo de luz-oscuridad de F2 se presentan en el Anexo I.

Con respecto a la actividad en oscuridad, se encuentran efectos principales significativos para ambos factores, sin existir interacción entre ellos. Las pruebas post-hoc aplicadas para la actividad en las fases de luz pusieron de relieve que esta fue superior a lo largo de F2 para el grupo A32-D ($\bar{X}_{A32-D} - \bar{X}_{A32-L} = 247.79$, $p \leq .001$; $\bar{X}_{A32-D} - \bar{X}_{A32-C} = 247.55$, $p \leq .001$), sin existir diferencias significativas entre A32-L y A32-C. Es decir, el grupo A32-D corrió significativamente más que los restantes en las fases de luz de esta fase (ver Figura 3).

Las pruebas post-hoc aplicadas para la actividad en las fases de oscuridad pusieron de relieve que el grupo A32-L corrió significativamente más que el grupo A32-C en esos periodos ($\bar{X}_{A32-L} - \bar{X}_{A32-C} = 193.54$, $p \leq .031$), sin encontrarse diferencias significativas con respecto a A32-D o entre A32-D y A32-C.

En cuanto a la TC, los análisis para esta variable en las fases de luz revelaron efectos principales para los factores *TCLuzDíasF2* y *Grupo* (ver Anexo I). Las pruebas post-hoc realizadas pusieron de manifiesto que la TC en las fases de luz del grupo A32-C fue superior a la de los otros dos grupos ($\bar{X}_{A32-C} - \bar{X}_{A32-L} = .3504$, $p \leq .007$; $\bar{X}_{A32-C} - \bar{X}_{A32-D} = .7320$, $p \leq .001$) siendo, además, la de A32-L superior a la de A32-D ($\bar{X}_{A32-L} - \bar{X}_{A32-D} = .3816$, $p \leq .004$).

Por último, con respecto a la TC en las fases de oscuridad, se encontraron efectos principales para el factor *Grupo*, así como interacción entre este y *TCOscuridadDíasF2*. Las pruebas post-hoc aplicadas revelaron que el grupo A32-C registró una TC más alta que la de los grupos A32-L y A32-D durante las fases de oscuridad de F2 ($\bar{X}_{A32-C} - \bar{X}_{A32-L} = .7160$, $p \leq .001$; $\bar{X}_{A32-C} - \bar{X}_{A32-D} = .5312$, $p \leq .001$), sin hallarse diferencias significativas entre la TC de estos últimos.

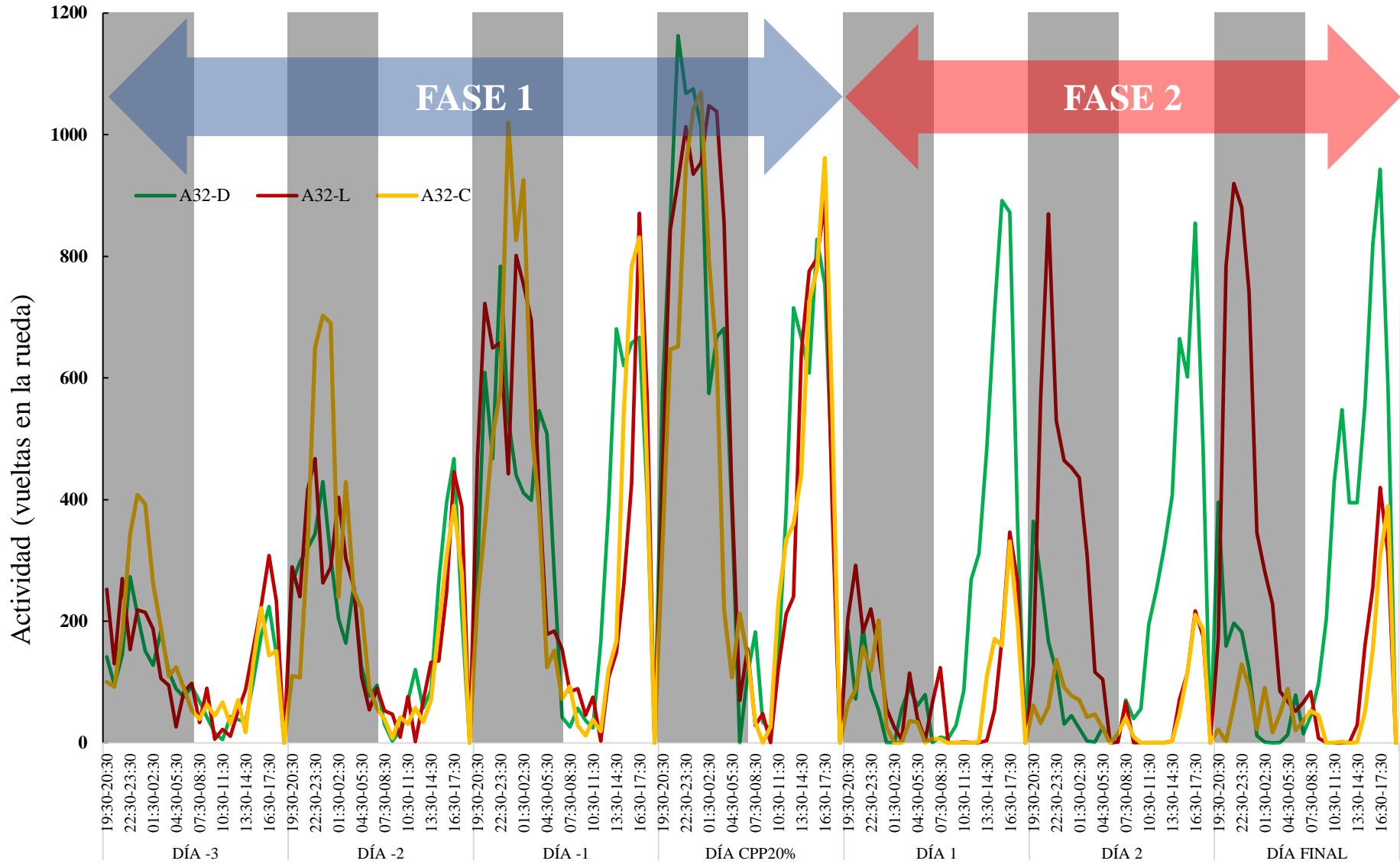


Figura 3. Evolución de la actividad en los tres grupos a lo largo de los días del experimento. Los bloques grises comprenden las fases de oscuridad, mientras que los bloques blancos representan las fases de luz.

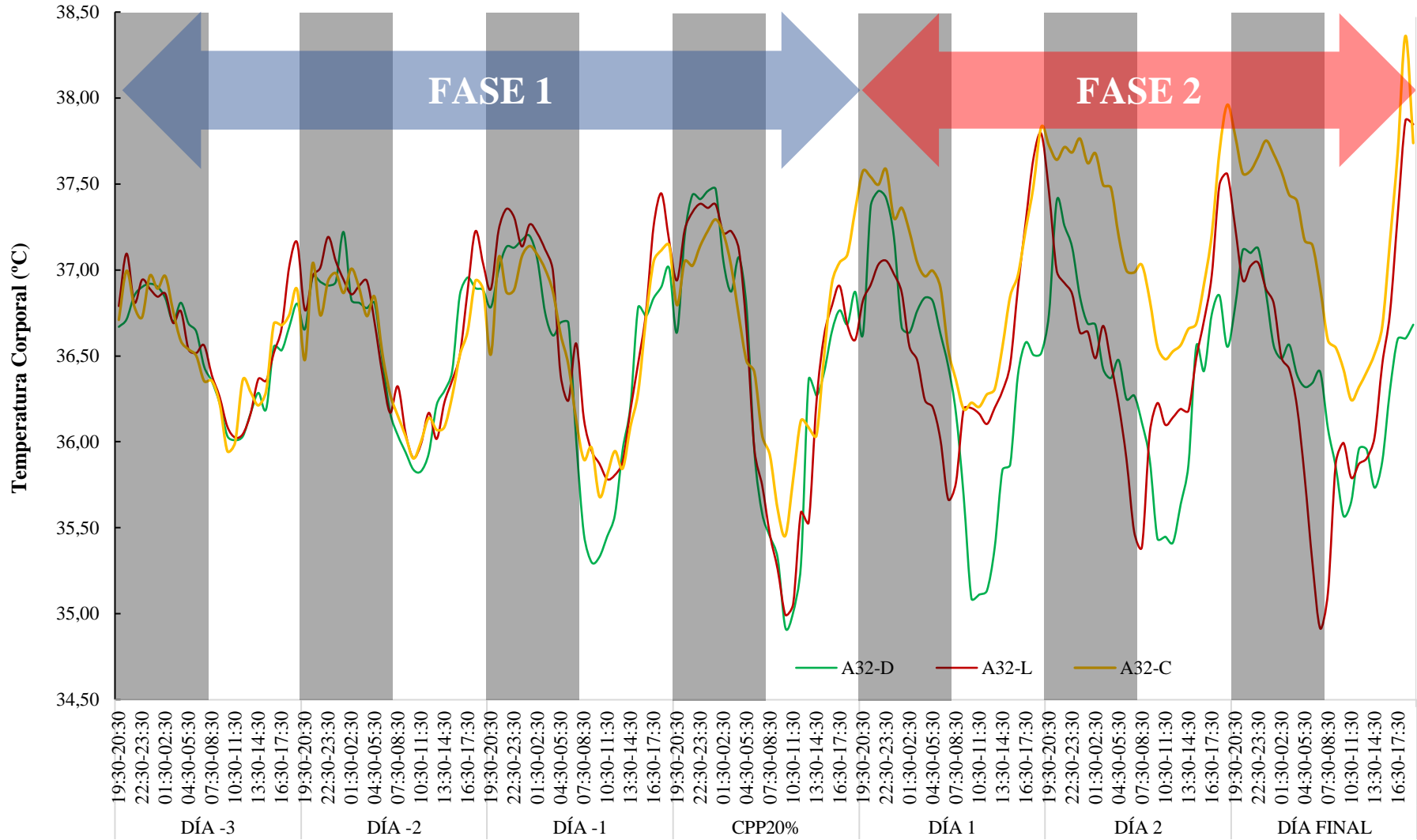


Figura 4. Evolución de la temperatura corporal (TC) a lo largo de los días del experimento. Los bloques grises comprenden las fases de oscuridad, mientras que los bloques blancos representan las fases de luz.

Discusión

Los resultados comentados en el apartado anterior ponen de relieve la existencia de diferencias notables entre el efecto de las diversas modalidades de aplicación de calor en las variables de actividad, peso y TC. Es capital recordar la equivalencia de los tres grupos en todas las variables antes de iniciar la fase de tratamiento. Así, todos los animales experimentaron los cambios en las diferentes variables de manera homogénea a lo largo de F1, independientemente de la condición experimental a la que, una vez alcanzado el CPP20%, fueran asignados.

Esta equivalencia entre grupos permite interpretar los cambios en F2 como efectos de la única manipulación realizada con respecto a F1: la modificación de la TA. Además, la existencia de diferencias entre grupos en la fase de tratamiento pone de relieve la cuestión que motivó la realización de la investigación. Así, los resultados sugieren que existen efectos diferenciales del calor sobre ratas macho²⁷ expuestas a ABA en función de la fase del ciclo de luz-oscuridad en la que dicho calor sea aplicado.

En lo que respecta a las tasas de recuperación de los diferentes grupos, destaca la superioridad de aquel sometido a una aplicación continua de calor (A32-C) en comparación con las otras condiciones (A32-D y A32-L). Así, el 90% de los animales incluidos en esta condición se recuperaron, frente al 45.5% de los que recibieron calor solo en su fase de luz (A32-L) y el 33.3% de aquellos calentados únicamente en oscuridad (A32-D). La influencia del calor en la recuperación de los animales de los diferentes grupos no se materializó en el tiempo requerido para alcanzar el criterio de recuperación.

²⁷ A pesar de que gran parte de la investigación en ABA se ha realizado con ratas macho, diversos estudios muestran que tanto machos como hembras desarrollan el fenómeno ABA, con pequeñas diferencias en el número de días que las hembras tardan en alcanzar el criterio de pérdida del 20% de peso (Cerrato, Carrera, Vázquez, Echevarría y Gutiérrez, 2012; Doerries et al. 1991). Esto sugiere que las hembras cuentan con mecanismos biológicos que les permiten adaptar su metabolismo a niveles excesivos de actividad, mostrando más resistencia a la pérdida de peso, a pesar de que, finalmente, sucumban a los estragos de la condición.

Con respecto a la actividad, el presente estudio replica hallazgos encontrados por otros investigadores, según los cuales una TA elevada disminuye la actividad de animales en ABA (Cerrato et al, 2012; Gutiérrez, Cerrato, Carrera y Vázquez, 2008; Hillebrand et al., 2005; Losada et al., 2018). Sin embargo, dichos estudios han investigado el efecto de la TA elevada en la totalidad del ciclo de luz-oscuridad, pero no cuando esta se eleva exclusivamente durante una de sus fases. Así, el presente estudio, con la inclusión de dos grupos de calor alternante asignados a cada fase del ciclo de luz-oscuridad, es el primero en analizar este aspecto. En lo que respecta a estas modalidades, el grupo que recibió calor en la fase de oscuridad exhibió mayores niveles de actividad en F2, seguido del grupo que recibió calor en la fase de luz. En cambio, la modalidad A32-C, equivalente a la utilizada por Cerrato et al. (2012) y Gutiérrez et al. (2008), experimentó las mayores disminuciones de actividad.

Estos resultados deben interpretarse teniendo en cuenta el ritmo circadiano de actividad de la rata, animal nocturno que muestra escasa actividad en su fase luz (Martínez, 2009). Complementariamente, la fase de oscuridad está acompañada de elevaciones en la TC del animal, la cual desciende en la fase de luz (Szymusiak, 2018). Así, teniendo en cuenta el efecto depresor del calor sobre la actividad física, podría esperarse que dicha reducción fuese más apreciable en el grupo que recibe calor en su fase de actividad, que en el grupo que lo recibe en su periodo de descanso. Sin embargo, el primero redujo su actividad en menor medida ya desde el primer día y mostró más resistencia a su disminución a lo largo de F2. Así, se obtiene evidencia a favor de la hipótesis de la que se partía, según la cual la aplicación de calor en la fase de luz podría ser más efectiva en la reducción de la actividad al prevenir los mínimos de TC alcanzados en esta fase.

En esta línea, al igual que observaron Davila et al. (2018)²⁸ y Hillebrand et al. (2005), cuando se analizó la evolución de la TC en los tres grupos en F1, se observó que esta disminuyó progresivamente en las sucesivas fases de luz²⁹, en paralelo a un aumento de la actividad (ver Figuras 3 y 4). Esto es especialmente destacable en el DíaCPP20%, en el que los animales

²⁸ En este estudio se encontró que impedir a los animales el acceso a la rueda como forma de tratamiento favorecía la hipotermia en ambas fases del ciclo, lo que sería congruente con la hipótesis de Gutiérrez et al. (2002), ya que el animal seguiría bajo restricción calórica y no podría realizar actividad para elevar su temperatura corporal.

²⁹ Como se explicó en la introducción, la hipotermia característica de los animales expuestos a ABA es fruto de la conjunción de las características de la condición experimental. Según Gutiérrez et al. (2002), la actividad motora es el mecanismo detonado para compensar la hipotermia desencadenada por la restricción calórica. Sin embargo, el ejercicio acaba agravando la hipotermia, entrando el animal en un bucle de retroalimentación negativa.

alcanzaron máximos absolutos de actividad y mínimos absolutos de TC. La elevación de TA en la fase de luz redujo en mayor medida la actividad de los grupos A32-L y A32-C en el primer día, mientras que las tasas de actividad del grupo A32-D fueron mayores a lo largo de F2. Así, los grupos que vieron amortiguados sus mínimos de TC exhibieron niveles de actividad más bajos que el grupo que no vio prevenida su hipotermia en dicha fase.

En cuanto al grupo A32-L en F2, sus mínimos de actividad ocurrieron en la fase de luz, en la cual recibían calor. Además, los mínimos de temperatura se alcanzaron en este grupo al final de la fase de oscuridad, siguiendo a los periodos de máxima actividad. Así, a pesar de que la aplicación de calor externo en la fase de luz previno la hipotermia típica de esta fase, estos animales no vieron prevenida la actividad en oscuridad al no recibir calor en la fase en la que esta es máxima. De este modo, la actividad se mantuvo en niveles excesivos en esta fase, desembocando en una hipotermia cada vez mayor en la parte final de las fases de oscuridad, lo que también es congruente con lo propuesto por Gutiérrez et al. (2002).

Así, los efectos depresores del calor sobre la actividad parecen ser específicos de la fase en la que este se aplique. Así, en el grupo calentado en oscuridad, la actividad es máxima en la fase de luz, y mínima en oscuridad, ocurriendo lo contrario en el grupo calentado durante el día. Teniendo esto en cuenta, las tasas de actividad inferiores de A32-C podrían explicarse como un efecto sumativo de los beneficios de recibir calor en ambas fases por separado. De hecho, no existen diferencias en actividad en luz entre el grupo continuo y el calentado en luz, ni tampoco en oscuridad entre el primero y el calentado en oscuridad.

Otro aspecto relevante recogido en la literatura son las alteraciones del ritmo circadiano de actividad en animales en ABA. Dichas alteraciones se manifiestan en una distribución anormal de la actividad a lo largo del ciclo: mientras que ratas en condiciones naturales están inactivas en la fase de luz, aquellas sometidas a ABA destinan progresivamente más tiempo de esta fase al ejercicio³⁰ (Chowdhury, 2015). Watanabe et al. (1990) identifican estas alteraciones circadianas en el momento en el que la actividad en la fase de luz es igual o superior al 50% de la total a lo largo del ciclo. En este estudio puede observarse que los animales comienzan a

³⁰ Las alteraciones en los ciclos de sueño-vigilia son también muy frecuentes entre las pacientes con AN (APA, 2013). Kim et al. (2010) estima que el 58,3% de mujeres con AN refiere algún tipo de alteración en el sueño, reconociéndose entre las más comunes el insomnio primario y terciario. Del mismo modo, en una revisión realizada por Allison et al. en 2016 se encuentra que, siguiendo al Síndrome de Ingesta Nocturna, la AN es el trastorno de la conducta alimentaria con más alteraciones de sueño asociadas.

mostrar más actividad en la fase de luz desde el comienzo del experimento, lo que es congruente con las evidencias mencionadas. Comenzados los tratamientos, el grupo en el que el calor se aplicó exclusivamente en la fase de oscuridad no solo no redujo esta tendencia sino que la aumentó, de modo que el 88% de la carrera total del DíaFinal se exhibió en este grupo en la fase de luz, en contraste con el 21% del grupo A32-L. Teniendo en cuenta que la alteración en los ritmos circadianos de actividad viene dada por crecientes tasas de actividad en la segunda mitad de la fase de luz del animal, la analogía con la AN en este aspecto correspondería con los despertares tempranos en el trastorno³¹.

Sin embargo, el aumento de actividad en la fase de luz en los grupos en F1, y en el grupo A32-D tras el tratamiento, debe ser interpretado con cautela puesto que, atendiendo a la distribución de la actividad en las fases de luz y oscuridad a lo largo del experimento, se aprecia un fenómeno común en ABA, denominado *Food-Anticipatory Activity* (FAA). La FAA es un fenómeno cronobiológico que consiste en un aumento de la actividad del animal en las horas previas al periodo de alimentación (Mistleberger, 2009), siendo entendida como una conducta de forrajeo motivada por la escasez de comida (Gutiérrez, 2013; Mistleberger, 2009). Este ritmo biológico es independiente del establecido por el núcleo supraquiasmático (NSC), que regula los ritmos de sueño-vigilia utilizando la luz como clave de sincronización o *zeitgeber*; alternativamente, la comida es el *zeitgeber* que regula la FAA. Así, la actividad se vería regulada, en principio, por dos sistemas, el que regula los ritmos de sueño-vigilia, a cargo del NSC que utiliza la luz como *zeitgeber*, y el que regula la FAA, dependiente de sustratos neurales en proceso de estudio³², que utiliza la comida como clave. Así, atribuir el aumento de la actividad en la fase de luz exclusivamente a una alteración del ritmo circadiano de la actividad no sería prudente, al estar presente una conducta dependiente de unos sustratos diferentes. A pesar de esto, los resultados apuntan en dicha dirección, ya que la FAA aparece progresivamente antes en los tres grupos a medida que pasan los días. Además, en F2 se mantiene la existencia de FAA en los tres grupos, viéndose exacerbada en el caso de A32-D y

³¹ Un aspecto relevante puesto de relieve por Delvenne, Kerkhofs, Appelboom-Fondy, Lucas y Mendlewicz (1992), es el de que pacientes con AN muestran mayor número de despertares, así como mayor duración de los mismos, que adolescentes con depresión. Así, las autoras sugieren que las alteraciones en el sueño en AN no están mediadas necesariamente por la existencia de un episodio del estado de ánimo.

³² La FAA es un fenómeno que ha sido referido con frecuencia en la literatura sobre ABA. Sin embargo, sus sustratos neurales aún no están definidos, atribuyéndose un papel relevante al núcleo arqueado del hipotálamo, así como al hipotálamo dorsomedial y lateral (Verhagen et al., 2011)

atenuada en los otros grupos, lo que puede atribuirse a la ausencia o presencia de calor en el momento en el que comienza la FAA³³.

Un aspecto reseñable es la disminución de la actividad del grupo A32-L en la fase de oscuridad del Día1. Ya que dicho grupo no recibió calor en esta fase, esta conducta podría resultar difícil de explicar. Sin embargo, existe evidencia de que la estimulación auditiva modula la actividad de animales expuestos a ABA (Fraga, de Pedro, Cerrato, Carrera y Gutiérrez, 2012), por lo que los bajos niveles de actividad del grupo A32-L en ese momento podrían deberse a la ausencia de estimulación auditiva procedente de la carrera de las ratas que ya estaban recibiendo calor. El hecho de que la disminución de la carrera se aprecie solo en un día puede explicarse por este fenómeno, en tanto que la deprivación auditiva atenúa, pero no impide, el desarrollo de la actividad y las consecuencias de ABA (Fraga et al., 2012).

La ausencia de diferencias entre grupos en lo que respecta a la ingesta indica que las diferencias en el peso y en las tasas de recuperación solo podrían atribuirse a las diferentes reducciones de actividad. Así, el grupo expuesto a una TA de 32°C en las dos fases del ciclo no solo estabilizó su peso, sino que éste repuntó en su día final, en la línea de lo encontrado por Cerrato (2010) y Losada et al. (2018), de acuerdo con el papel protector del calor de las consecuencias de ABA³⁴.

En definitiva, en lo que respecta a reducción de actividad, obtención de mayor peso corporal y tasas superiores de supervivencia a la condición experimental, la aplicación continua de calor en las dos fases del ciclo de luz-oscuridad resulta significativamente superior a la aplicación de calor alternante. En el caso de la aplicación alternante, esta parece resultar más beneficiosa en la recuperación de ABA durante la fase de inactividad que en la fase de actividad, sin resultar ninguna de ellas, sin embargo, lo suficientemente efectivas en la recuperación exitosa de los animales.

³³ El hecho de que la aplicación de calor disminuya, pero no elimine el fenómeno FAA puede ser un indicador de que la conducta de forrajeo sea de más importancia para el organismo que la termogénesis en ese periodo, aspecto también señalado en la investigación de Hillebrand et al. (2005).

³⁴ En este sentido, Cerrato (2010) considera que el papel protector del calor se manifiesta no en una recuperación total del peso original, sino en la reversión de una tendencia de pérdida de peso que es incompatible con la vida del animal.

a) Limitaciones

El horario de alimentación puede constituir una limitación del estudio, ya que los animales de la condición A32-L siempre recibieron calor durante el mismo, al contrario que el grupo A32-D. Para estudiar los efectos puros de la administración de calor en las diferentes fases, sería conveniente un horario de alimentación diferente para cada grupo, de modo que ambos reciban calor en el periodo de alimentación, o ninguno lo haga. Así, el grupo A32-L podría ser alimentado en las horas utilizadas en este estudio, mientras que el grupo A32-D podría tener un periodo de alimentación equivalente al primero, es decir, en las últimas horas de la fase de oscuridad, p.e., 7:00h.-8:30h. Para llevar a cabo esta propuesta, podría dividirse a los grupos en salas independientes. Además, un horario de alimentación establecido en oscuridad permitiría diferenciar en mayor medida la existencia de alteraciones circadianas del fenómeno FAA mencionado en el apartado anterior.

La utilización de salas separadas podría ser útil para subsanar una segunda limitación, referente a la actividad reducida que muestra el grupo A32-L en la fase de oscuridad del Día1, probablemente debida a la ausencia de estimulación auditiva por parte de los animales del grupo A32-D, que cesaron su carrera al recibir calor (Fraga et al., 2012).

Una última limitación podría residir en el momento en el que se inicia la recepción de calor en el grupo A32-L. Del mismo modo que el grupo A32-C recibió calor desde el momento en el que se determinó que alcanzaba el CPP20%, esto podría haberse aplicado al grupo A32-L, puesto que el pesaje tenía lugar en la fase de luz. Así, la primera ingesta del animal tras el alcance del CPP20% ocurriría bajo calor, y la primera recepción de calor no se demoraría hasta las 9:00h. del Día1.

b) Futuras líneas de trabajo

Investigaciones futuras podrían ahondar en las condiciones de aplicación de calor que potencian la recuperación de animales expuestos a ABA, replicando y optimizando las condiciones de este estudio, eliminando variables extrañas. Asimismo, es fundamental replicar este experimento con ratas hembra, así como profundizar en el estudio de los fenómenos bioconductuales implicados en la termorregulación.

Independientemente de la riqueza de los resultados obtenidos en la investigación básica, no debe perderse una visión práctica y aplicada de los mismos. Futuras investigaciones podrían

entroncarse en líneas recientemente iniciadas centradas en los efectos de la aplicación de calor y frío en la ingesta y actividad en individuos sanos (Charlot, Faure y Antoine-Jonville, 2017; Faure et al., 2016), lo que podría ser de utilidad para entender aspectos críticos de trastornos como la AN y enfermedades como la obesidad.

En el campo de la AN, es capital la necesidad de estudiar de forma exhaustiva el papel de la hiperactividad en el trastorno, ideando sistemas de evaluación que permitan su adecuada operativización. Solamente un adecuado registro de la actividad en sus diferentes formas permitirá evaluar de forma válida y fiable los efectos del calor en esta variable³⁵.

³⁵ A este respecto, la necesidad de operativizar la actividad en AN comienza a tenerse en cuenta en la literatura. Un ejemplo es el del estudio de Carrera et al. (2012), en el que diferentes medidas psicopatológicas se analizaron en consonancia con niveles de actividad registrados por un dispositivo específico (acelerómetro). Además, en esta investigación se encontraron correlaciones negativas entre el nivel de actividad exhibido y la TA registrada en las estaciones meteorológicas más cercanas a las pacientes.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren la existencia de efectos diferenciales del calor en función del momento del ciclo de luz-oscuridad en el que este se aplique. Dichos efectos se manifiestan no solo en diferencias en actividad, peso y TC medias en los diferentes grupos, sino también en diferentes tasas de supervivencia a la condición. La identificación de estos efectos puede ser relevante en el campo de investigación del calor como estrategia de recuperación en ABA, así como en su extrapolación al tratamiento de la AN en seres humanos.

A pesar de que Gull (1874) recomendaba la aplicación de calor en las primeras descripciones de la AN³⁶, no fue hasta comienzos de este siglo que sus beneficios se estudiaron en ensayos clínicos de potenciales tratamientos del trastorno (Bergh, Brodin, Lindberg y Södersten, 2002; Birmingham, Gutiérrez, Jonat y Beumont, 2004; Gutiérrez y Vázquez, 2001). Así, el calor ha probado tener un efecto ansiolítico en pacientes con AN, el cual se aprecia a los pocos minutos de su aplicación y carece de efectos secundarios, al contrario que los tratamientos farmacológicos utilizados con frecuencia en el trastorno (Zandian et al., 2017).

En esta línea, el papel de la TA en el curso de la AN ha probado ser relevante en la modulación de la sintomatología, agravada en las estaciones frías y atenuada en las estaciones más cálidas (Favaro y Santonastaso, 2009; Fraga et al., 2015), así como en la distribución geográfica del trastorno, siendo más prevalente en zonas de climas templados con temperaturas suaves (Gutiérrez, Carrera, Vázquez y Birmingham, 2013; Sanmartino, 2017).

Desde un enfoque traslacional³⁷, esta investigación podría entenderse como un primer acercamiento a determinar en qué momentos del ciclo de luz-oscuridad la aplicación de calor

³⁶ Resulta curioso que el autor hiciese esta recomendación basándose en los estudios de Chossat acerca del beneficio del calor en la recuperación de animales en proceso de desnutrición (citado en Gull, 1874).

³⁷ Klein y Walsh (2005) definen la investigación traslacional en AN como la aplicación de principios y metodologías utilizadas en campos de conocimiento relacionados para avanzar en el entendimiento y, ulteriormente, tratamiento y prevención del trastorno.

resultaría más efectiva en pacientes con AN; esto determinaría las fuentes de calor a utilizar. La respuesta podría estar en la utilización mantas eléctricas en el caso de la aplicación de calor durante la noche, o en chalecos térmicos³⁸ durante el día; otras medidas podrían consistir en la elevación de la temperatura de los hogares de las pacientes o de las plantas de ingreso en los hospitales. En lo que respecta a las alteraciones del ritmo circadiano en pacientes con AN, una extrapolación preliminar de los resultados de este estudio predeciría que la aplicación de calor durante la noche³⁹ sería la modalidad más efectiva en la prevención de los despertares tempranos.

Las limitaciones del modelo ABA en lo que respecta a su validez traslacional son compartidas por todos los modelos animales de trastornos psicológicos. Estos, por su naturaleza de animales no humanos, no replican la sintomatología cognitiva propia de la AN, siendo comprensible, por tanto, la existencia de dudas acerca de su utilidad en el estudio del trastorno. De acuerdo con Klein y Walsh (2005), estas dudas están basadas en una concepción errónea del propósito de dichos modelos animales, que no es el de replicar un determinado síndrome de forma completa en un animal no humano. Por el contrario, “...rather, the goal is to gain insight into important aspects of the human disorder [...] using methods that for a variety of reasons cannot be employed in humans”.

A modo de conclusión, la validez del modelo ABA como modelo animal análogo, que no homólogo, de la AN debe entenderse en los términos de sus potenciales aportaciones a nivel bioconductual. Así, lejos de invalidar otras propuestas teóricas centradas en otras esferas del trastorno, la investigación en ABA es una aproximación más en el campo de estudio de un trastorno tan complejo como es la Anorexia Nerviosa.

³⁸ Esta medida fue utilizada, entre otras como sesiones en saunas de infrarrojos, en el estudio de Gutiérrez y Vázquez (2001), mientras que las mantas eléctricas fueron utilizadas por Zandian et al. (2017).

³⁹ Dicha aplicación podría tener lugar de forma específica entre 4 y 6 horas después del inicio del sueño, momento en el que se alcanzan los mínimos de TC en humanos (Kräuchi, 2007).

Referencias bibliográficas

- Allison, K., Spaeth, A. y Hopkins, C. (2016). Sleep and eating disorders. *Current Psychiatry Reports*, 18(10), 1-8. doi:10.1007/s11920-016-0728-8. Recuperado de: <http://bit.ly/2WK3gpx>
- American Psychiatric Association. (2002). *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales* (4 ed.). Barcelona: Masson.
- American Psychiatric Association. (2013). *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales* (5 ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Barbarich-Marsteller, N.C. (2012). Activity-Based Anorexia in the rat. En N. M. Avena (Ed.), *Animal Models of Eating Disorders* (pp. 281-290). Totowa, NJ: Humana Press.
- Bergh, C., Brodin, U., Lindberg, G. y Södersten, P. (2002). Randomized controlled trial of a treatment for anorexia and bulimia nervosa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(14), 9486-9491. Recuperado de: <http://bit.ly/2KVDo31>
- Birmingham, C. L., Gutierrez, E., Jonat, L. y Beumont, P. (2004). Randomized controlled trial of warming in anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 35(2), 234-238. doi:10.1002/eat.10246. Recuperado de: <http://bit.ly/2KMJF0z>
- Brobeck, J. R. (1997). Food intake as a mechanism of temperature regulation. *Obesity Research*, 5(6), 641-645. Recuperado de: <http://bit.ly/2XKNIUe>
- Bruch, H. (2002). *La jaula dorada. El enigma de la anorexia nerviosa*. Barcelona: Paidós.

- Carrera, O., Adan, R. A. H., Gutierrez, E., Danner, U. N., Hoek, H. W., van Elburg, A. A. y Kas, M. (2012). Hyperactivity in anorexia nervosa: Warming up not just burning-off calories. *PLoS ONE*, 7(7), e41851. doi:10.1371/journal.pone.0041851. Recuperado de: <http://bit.ly/2Ke3z5a>
- Carrera, O., Fraga, Á., Pellón, R. y Gutiérrez, E. (2014). Rodent model of Activity-Based Anorexia. *Current Protocols in Neuroscience*, 67(1), 9.47.1-9.47.11. doi:10.1002/0471142301.ns0947s67. Recuperado de: <http://bit.ly/2IdxizN>
- Carrera, O. y Gutiérrez, E. (2018). Hyperactivity in anorexia nervosa: To warm or not to warm. That is the question (a translational research one). *Journal of Eating Disorders*, 6(1), 4. doi:10.1186/s40337-018-0190-6. Recuperado de: <http://bit.ly/2RmWctb>
- Casper, R. C. (2006). The 'drive for activity' and "restlessness" in anorexia nervosa: Potential pathways. *Journal of Affective Disorders*, 92(1), 99. doi:10.1016/j.jad.2005.12.039. Recuperado de: <http://bit.ly/2KNC6qI>
- Casper, R.C. y Davis, J.M. (1977). On the course of anorexia nervosa. *American Journal of Psychiatry*, 134(9), 974-978. doi: 10.1176/ajp.134.9.974. Recuperado de: <http://bit.ly/2MWxwsW>
- Casper, R. C., Sullivan, E.L. y Tecott, L. (2008). Relevance of animal models to human eating disorders and obesity. *Psychopharmacology*, 199(3), 313-329. doi:10.1007/s00213-008-1102-2. Recuperado de: <http://bit.ly/2KfUEAj>
- Cerrato, M. (2010). *Efecto modulador de la temperatura ambiental en el modelo animal de anorexia basada en la actividad: Implicaciones para el tratamiento de la anorexia nerviosa* (Tesis doctoral). Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España. Recuperado de: <http://bit.ly/2WEeHPz>
- Cerrato, M., Carrera, O., Vazquez, R., Echevarría, E. y Gutierrez, E. (2012). Heat makes a difference in activity-based anorexia: A translational approach to treatment

- development in anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 45(1), 26-35. doi:10.1002/eat.20884. Recuperado de: <http://bit.ly/2KHQqAW>
- Charlot, K., Faure, C. y Antoine-Jonville, S. (2017). Influence of hot and cold environments on the regulation of energy balance following a single exercise session: A mini-review. *Nutrients* 9, 592. doi:10.3390/nu9060592. Recuperado de: <http://bit.ly/2wQuEmf>
- Chowdhury, T. G., Chen, Y. y Aoki, C. (2015). Using the activity-based anorexia rodent model to study the neurobiological basis of anorexia nervosa. *Journal of Visualized Experiments*, (104). doi:10.3791/52927. Recuperado de: <http://bit.ly/2WCAKBa>
- Davila, M., Fraga, Á., Losada, N. y Gutiérrez, E. (2018). Manipulation of experimental conditions in recovery from Activity-Based Anorexia (ABA). Trabajo de cartel presentado en XXX Congreso Internacional de la Sociedad Española de Psicología Comparada. Ávila, España.
- Davis, C. (1997). Eating disorders and hyperactivity: A psychobiological perspective. *Canadian Journal of Psychiatry*, 42(2), 168-175. doi:10.1177/070674379704200207. Recuperado de: <http://bit.ly/31xKi40>
- Davis, H. y Attia, E. (2017). Pharmacotherapy of eating disorders. *Current Opinion in Psychiatry*, 30(6), 452-457. doi:10.1097/YCO.0010000000000358. Recuperado de: <http://bit.ly/2F7Yozs>
- Davis, C., Kennedy, S. H., Ravelski, E. y Dionne, M. (1994). The role of physical activity in the development and maintenance of eating disorders. *Psychological Medicine*, 24(4), 957-967. doi:10.1017/S0033291700029044. Recuperado de: <http://bit.ly/2IdVWcH>
- Delvenne, V., Kerkhofs, J., Appelboom-Fondu, J., Lucas, F. y Mendlewicz, J. (1992). Sleep polygraphic variables in anorexia nervosa and depression: A comparative study in

adolescents. *Journal of Affective Disorders*, 25, 167-172. doi: 10.1016/0165-0327(92)90002-N

Doerries, L.E., Stanley, E.Z. y Aravich, P.F. (1991). Activity-Based Anorexia: relationship to gender and Activity-Stress Ulcers. *Physiology and Behavior*, 50(5), 945-949. doi: 10.1016/0031-9384(91)90419-O

Epling, W. F. y Pierce, W. D. (1988). Activity-based anorexia: A biobehavioral perspective. *International Journal of Eating Disorders*, 7(4), 475-485. doi: AID-EAT2260070405>3.0.CO;2-M

Epling, W. F., Pierce, W. D. y Stefan, L. (1983). A theory of activity-based anorexia. *International Journal of Eating Disorders*, 3(1), 27-46. doi: AID-EAT2260030104>3.0.CO;2-T

España. Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. Boletín Oficial del Estado, 8 de febrero de 2013, núm. 34, pp. 11370 a 11421. Recuperado de: <http://bit.ly/2WDWfS3>

Faure, C., Charlot, K., Henri, S., Hardy-Dessources, M., Hue, O. y Antoine-Jonville, S. (2016). Effect of heat exposure and exercise on food intake regulation: A randomized crossover study in young healthy men. *Metabolism*, 65(10), 1541-1549. doi:10.1016/j.metabol.2016.07.004. Recuperado de: <http://bit.ly/2WEy32b>

Favaro, A. y Santonastaso, P. (2009). Seasonality and the prediction of weight at resumption of menses in anorexia nervosa. *Fertility and Sterility*, 91(4), 1395-1397. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.04.055. Recuperado de: <http://bit.ly/2XbclHi>

Fraga, Á., Caggianesse, V., Carrera, O., Graell, M., Morandé, G. y Gutiérrez, E. (2015). Seasonal BMI differences between restrictive and purging anorexia nervosa subtypes.

International Journal of Eating Disorders, 48(1), 35-41. doi:10.1002/eat.22357.

Recuperado de: <http://bit.ly/2Kgh6t6>

Fraga, Á., De Pedro, B., Cerrato, M., Carrera, O. y Gutiérrez, E. (2012). Effect of auditory isolation on activity-based anorexia. *Psicothema*, 24(3), 416-421. Recuperado de: <http://bit.ly/2IIRYb6>

Gordon, C. (1990). Thermal biology of the laboratory rat. *Physiology and Behavior*, 47, 936-991.

Gull, W. W. (1874). Anorexia nervosa (apepsia hysterica, anorexia hysterica). Transactions of the Clinical Society, 7, 22-28, 1874. Reimpreso en *Obesity Research*, 5(5), 498-502. doi:10.1002/j.1550-8528.1997.tb00677.x. Recuperado de: <http://bit.ly/2WEi5Ka>

Gutiérrez, E. (2013). A rat in the labyrinth of Anorexia Nervosa: Contributions of the Activity-Based Anorexia rodent model to the understanding of Anorexia Nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 46, 289-301. doi: 10.1001/eat.22095. Recuperado de: <http://bit.ly/2wSyL1i>

Gutiérrez, E. y Vazquez, R. (2001). Heat in the treatment of patients with anorexia nervosa. *Eating and Weight Disorders*, 6(1), 49-52. doi:10.1007/BF03339752. Recuperado de: <http://bit.ly/31sxYII>

Gutiérrez, E., Baysari, M. T., Carrera, O., Whitford, T. J. y Boakes, R. A. (2006). High ambient temperature reduces rate of body-weight loss produced by wheel running. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 59(7), 1196-1211. doi:10.1080/17470210500417688. Recuperado de: <http://bit.ly/2RjKRdi>

Gutiérrez, E. y Carrera, O. (2014). Psychotherapy in anorexia nervosa: What does the absence of evidence mean? *World Journal of Translational Medicine*, 3, 150-157. doi: 10.5528/wjtm.v3.i3.150. Recuperado de: <http://bit.ly/2IhfCg9>

- Gutiérrez, E. y Carrera, O. (2016). Anorexia nervosa and body-image disturbance. *The Lancet Psychiatry*, 3; e9-10. doi: 10.1016/S2215-0366(15)00581-7. Recuperado de: <https://bit.ly/2WMeSbA>
- Gutiérrez, E. y Carrera, O. (2018). Anorexia nervosa treatments and Occam's razor. *Psychological Medicine*, 48, 1390-91. doi: 10.1017/S0033291717003944.
- Gutiérrez, E., Carrera, O., Vazquez, R. y Birmingham, C. L. (2013). Climate might be considered as a risk factor for anorexia nervosa? A hypothesis worth another look. *Eating Behaviors*, 14(3), 278-280. doi:10.1016/j.eatbeh.2013.05.006. Recuperado de: <http://bit.ly/2F6KaPm>
- Gutiérrez, E., Cerrato, M., Carrera, O. y Vázquez, R. (2008). Heat reversal of Activity-Based Anorexia: Implications for the treatment of Anorexia Nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 41(7), 594-601. doi:10.1002/eat.20535. Recuperado de: <http://bit.ly/2WFPrmY>
- Gutiérrez, E., Vázquez, R. y Boakes, R. (2002). Activity-based anorexia: Ambient temperature has been a neglected factor. *Psychonomic Bulletin & Review*, 9(2), 239-249. doi:10.3758/BF03196278. Recuperado de: <http://bit.ly/2KMN6Ev>.
- Halmi, K. A. (2009). Perplexities and provocations of eating disorders. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 50(1-2), 163-169. doi:10.1111/j.1469-7610.2008.01983.x. Recuperado de: <http://bit.ly/31sV9fT>
- Hebebrand, J., Exner, C., Hebebrand, K., Holtkamp, C., Casper, R. C., Remschmidt, H., . . . Klingenspor, M. (2003). Hyperactivity in patients with anorexia nervosa and in semistarved rats: Evidence for a pivotal role of hypoleptinemia. *Physiology & Behavior*, 79(1), 25-37. doi:10.1016/S0031-9384(03)00102-1. Recuperado de: <http://bit.ly/2IB5iOQ>

- Hillebrand, J. J. G., de Rijke, C. E., Brakkee, J. H., Kas, M. J. H. y Adan, R. A. H. (2005). Voluntary access to a warm plate reduces hyperactivity in activity-based anorexia. *Physiology & Behavior*, 85(2), 151-157. doi:10.1016/j.physbeh.2005.03.017. Recuperado de: <http://bit.ly/31vVPAZ>
- Kim, K., Jung, Y., Shin, M., Nomkoong, K., Kim, J. y Lee, K. (2010). Sleep disturbance in women with eating disorder: Prevalence and clinical characteristics. *Psychiatry Research*, 176, 88-90. doi: 10.1016/j.psychres.2009.03.021. Recuperado de: <http://bit.ly/2Ki6xWj>
- Kräuchi, K. (2007). The thermophysiological cascade leading to sleep initiation in relation to phase of entrainment. *Sleep Medicine Reviews*, 11, 439-451. doi: 10.1016/j.smr.2007.07.001. Recuperado de: <http://bit.ly/2KjVuMg>
- Klein, D.A. y Walsh, B.T. (2005). Translational approaches to understanding anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 37(S1), S14. doi:10.1002/eat.20108. Recuperado de: <http://bit.ly/2F7TYZE>
- Klein, D.A., Mayer, L.E.S., Schebendach, J.E. y Walsh, B.T. (2007). Physical activity and cortisol in anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, 32(5), 539-547. doi:10.1016/j.psyneuen.2007.03.007. Recuperado de: <http://bit.ly/2Ih6Sqk>
- Kron, L., Katz, J. L., Gorzynski, G. y Weiner, H. (1978). Hyperactivity in anorexia nervosa: A fundamental clinical feature. *Comprehensive Psychiatry*, 19(5), 433-440. doi:10.1016/0010-440X(78)90072-X. Recuperado de: <http://bit.ly/2WD4Kgv>
- Losada, N., Davila, M., Fraga, A. y Gutiérrez, E. (2018). Effects of ambient temperature on the reversal of Activity-Based Anorexia (ABA). Trabajo de cartel presentado en XXX Congreso Internacional de la Sociedad Española de la Psicología Comparada. Ávila, España.

- Martínez, G.S. (2009). Regulación circadiana del comportamiento: Diferencias entre especies diurnas y nocturnas. *Universitas Psychologica*, 8(2), 487-496. Recuperado de: <http://bit.ly/2IEI4HI>
- Meyer, C., Taranis, L. y Touyz, S. (2008). Excessive exercise in the eating disorders: A need for less activity from patients and more from researchers. *European Eating Disorders Review*, 16(2), 81-83. doi:10.1002/erv.863. Recuperado de: <http://bit.ly/2X8YGRc>
- Mistlberger, R.E. (2009). Food-anticipatory circadian rhythms: Concepts and methods. *The European Journal of Neuroscience*, 30(9), 1718-1729. Doi:10.1111/j.1460-9568.2009.06965.x. Recuperado de: <http://bit.ly/2IdmSJA>
- Morrow, N. S., Schall, M., Grijalva, C. V., Geiselman, P. J., Garrick, T., Nuccion, S. y Novin, D. (1997). Body temperature and wheel running predict survival times in rats exposed to activity-stress. *Physiology & Behavior*, 62(4), 815-825. doi:10.1016/S0031-9384(97)00243-6. Recuperado de: <http://bit.ly/2KhauL2>
- Organización Mundial de la Salud (1992). *CIE 10. Décima Revisión de la Clasificación Internacional de Las Enfermedades. Trastornos Mentales y del Comportamiento: Descripciones Clínicas y pautas para el Diagnóstico*. Madrid: Meditor.
- Routtenberg, A. y Kuznesof, A. W. (1967). Self-starvation of rats living in activity wheels on a restricted feeding schedule. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 64(3), 414-421. doi:10.1037/h0025205
- Sanmartino, C. (2017). *Revisión de la asociación entre la Anorexia Nerviosa y el clima. Una perspectiva bibliométrica* (Trabajo de fin de Grado). Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España. Recuperado de: <http://bit.ly/2MMD2yd>

- Schalla, M.A. y Stengel, A. (2019). Activity-Based Anorexia as an animal model for Anorexia Nervosa- A systematic review. *Frontiers in Nutrition* 6. doi: 0.3389/fnut.2019.00169. Recuperado de: <http://bit.ly/2XhHfOs>
- Scolnick, B. y Mostofsky, D.I. (2014). Anorexia nervosa: A rogue hibernation? *Medical Hypotheses*, 82(2), 231-235. doi:10.1016/j.mehy.2013.12.003. Recuperado de: <http://bit.ly/2F7QAY2>
- Smink, F. R. E., van Hoeken, D. y Hoek, H. W. (2012). Epidemiology of eating disorders: Incidence, prevalence and mortality rates. *Current Psychiatry Reports*, 14(4), 406-414. doi:10.1007/s11920-012-0282-y. Recuperado de: <http://bit.ly/2Kh0T72>
- Södersten, P., Bergh, C. y Zandian, M. (2006). Psychoneuroendocrinology of anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, 31(10), 1149-1153. doi:10.1016/j.psyneuen.2006.09.006. Recuperado de: <http://bit.ly/2WzzSxb>
- Szymusiak, R. (2018). Body temperature and sleep. *Handbook of clinical neurology*, 156, 341-351. doi:10.1016/B978-0-444-63912-7.00120-5.
- Unión Europea. Directiva (UE) 2010/63 del Consejo, de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. Diario Oficial de la Unión Europea L 276, 20 de septiembre de 2010, pp. 33-79. Recuperado de: <https://www.boe.es/doue/2010/276/L00033-00079.pdf>
- Verhagen, L.A.W., Luijendijk, M.C.M., de Groot, J., van Dommelen, L.P.G, Klimstra, A.G., Adan, R.A.H. y Roeling, T.A.P. (2011). Anticipation of meals during restricted feeding increases activity in the hypothalamus in rats. *European Journal of Neuroscience*, 34(9), 1485-1491. doi:10.1111/j.1460-9568.2011.07880.x. Recuperado de: <http://bit.ly/2WJ1JQz>

- Watanabe, K., Hara, C. y Ogawa, N. (1990). Relationship between running activity rhythm and the development of activity-stress ulcer in rats. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 52(3), 421-429. doi:10.1254/jjp.52.421. Recuperado de: <http://bit.ly/2WNRPOd>
- Zandian, M., Holmstedt, E., Larsson, A., Bergh, C., Brodin, U. y Södersten, P. (2017). Anxiolytic effect of warmth in anorexia nervosa. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 135, 266-267. doi: 10.1111/acps.12691. Recuperado de: <http://bit.ly/2WEpPfc>
- Zipfel, S., Giel, K.E., Bulik, C.M., Hay, P. y Schmidt, U. (2015). Anorexia nervosa: Aetiology, assessment, and treatment. *Lancet Psychiatry*, 2(12), 1099-1111. doi: 10.1016/S2215-0366(15)00356-9. Recuperado de: <http://bit.ly/2KeQWqN>

Índice de figuras

Figura 1. Media \pm SEM para actividad (Figura 1A) y peso corporal relativo al día de inicio de experimento (Figura 1B) para los días previos y posteriores al Día CPP20%. La línea entrecortada marca el final de F1 y el comienzo de F2. 22

Figura 2. Media \pm SEM para ingesta (Figura 2A) y TC (Figura 2B) para los días previos y posteriores al Día CPP20%. La línea entrecortada marca el final de F1 y el comienzo de F2. 23

Figura 3. Evolución de la actividad en los tres grupos a lo largo de los días del experimento. Los bloques grises comprenden las fases de oscuridad, mientras que los bloques blancos representan las fases de luz. 28

Figura 4. Evolución de la temperatura corporal (TC) a lo largo de los días del experimento. Los bloques grises comprenden las fases de oscuridad, mientras que los bloques blancos representan las fases de luz. 29

Anexos

Anexo A. Tratamientos conductuales en adolescentes y adultos con anorexia nerviosa.

	Evidencia	Efectos (nivel de evidencia)
AN en adolescentes		
Terapia familiar	Fuerte*	+++ (1)
Terapia familiar de Maudsley	Fuerte*	+++ (1)
Terapia familiar sistémica	Moderada*	++ (2)
Terapia centrada en el adolescente	Moderada*	++ (2)
Terapia cognitivo conductual	Débil/moderada	-/+ (4)
Terapia cognitivo-conductual mejorada	Moderada*	+ (4)
AN en adultos		
Terapia cognitivo-conductual	Débil	+
Terapia cognitivo-conductual mejorada	Moderada*	++
Terapias conductuales	Débil	-/+
Psicoterapia interpersonal	Débil	+
Terapia psicodinámica	Débil	+
Terapia cognitivo-analítica	Débil	+
Psicoterapia psicodinámica focal	Moderada*	++
Modelo Maudsley para la anorexia nerviosa en adultos (MANTRA)	Moderada*	++
Manejo clínico de apoyo no específico	Moderada*	+ (+)

Nota. Los grados de evidencia son débil, moderada y fuerte. Los grados del efecto son: - para efecto no beneficioso; -/+ para resultados inconsistentes; + para ligero beneficio; + (+) para efecto beneficioso moderado; ++ para efecto moderado y duradero (se mostró mejoría en seguimiento); y +++ para un fuerte efecto beneficioso (superioridad demostrada como principal resultado de ensayos clínicos aleatorizados). Los niveles de evidencia son: 1 para bien establecido, 2 para probablemente eficaz y 4 para experimental. *Al menos un ECA o más de uno. Adaptado de “Anorexia nervosa: eatiology, assessment, and treatment”, por S. Zipfel, K.E. Giel, C. M. Bulik, P. Hay y U. Schmidt, 2015, *Lancet Psychiatry*, 2, p.1105.

Anexo B. Citas de casos clínicos publicados en los que se describen síntomas de actividad incansable, marcada energía y vitalidad en pacientes con anorexia nerviosa entre 1868 y 1957.

Conducta	Estado mental	Referencias
Inquieta y activa, deseo persistente por el movimiento, marcada inquietud, marcada y sorprendentemente desproporcionada abundancia de energía física	Irritabilidad de temperamento	(Gull, 1874; Gull, 1868, 1964; Gull, 1888)
La abstinencia tiende a incrementar la aptitud por el movimiento; nunca está cansada	Inagotable optimismo; vitalidad paradójica;	(Lasègue, 1873)
Movimientos exagerados		(Janet, 1903)
Extraña inquietud, largos paseos que superan sus fuerzas	Baila en su habitación	(Albutt and Rollston, 1905)
Excesivamente aficionada a largos paseos		(Gee, 1908)
Marcada actividad mental y física		(Nicolle, 1938)
A pesar de su emaciación, a menudo está activa e incluso incansable	Estado mental peculiarmente eufórico	(Nicolle, 1938)
Marcada y sorprendentemente desproporcionada abundancia de energía física		(Palmer and Jones, 1939)
Fuerza sorprendentemente preservada		(McCullagh and Tupper, 1940)
Urgencia interna hacia el incremento de actividad		(Waller et al., 1940)
No disminuida, sino casi excesiva vitalidad	Animada y activa	(Pardee, 1941)
Relativamente extraordinario grado de actividad física	... y mental	(Berkman, 1948)
El criterio más práctico es la actividad exhibida por las pacientes con anorexia nerviosa		(Bond, 1949)
Hiperactividad	Jubilosa	(Meyer and Weinroth, 1957)

Nota. Adaptado "The 'drive for activity' and 'restlessness' in anorexia nervosa: potential pathways", de R.C. Casper, 2006, *Journal of Affective Disorders*, 92, p.101. Copyright 2005 por Elsevier B.V.

Anexo C. Comparación de las características de la AN y animales expuestos a ABA.

Anorexia Nervosa	Anorexia Basada en Actividad
Restricción de la ingesta energética	Restricción de la ingesta energética
Peso corporal significativamente bajo	Peso corporal significativamente bajo
Hiperactividad, ejercicio excesivo	Hiperactividad, ejercicio excesivo
Amenorrea	Pérdida de ciclo estral en hembras
Mayor vulnerabilidad en la adolescencia 90-95% mujeres	Mayor vulnerabilidad en la adolescencia Ocurre tanto en machos como en hembras; las diferencias de sexo dependen de la edad del animal
Intenso miedo de ganar peso o engordar, conducta persistente de evitación de ganancia de peso, incluso a pesos significativamente bajos	Incapacidad de mantener y/o incrementar el peso corporal incurriendo en conductas que promueven la pérdida de peso, en lugar de conservar la energía y/o aumentar ingesta cuando la comida está disponible para maximizar recursos
Distorsión en la manera en la que se percibe el peso corporal o silueta, influencia excesiva de la silueta corporal o peso en la autoevaluación, o persistente falta de conciencia de la seriedad de los bajos niveles de peso.	No pueden ser replicados por el modelo

Nota. Adaptado de “*Activity-Based Anorexia in the rat*”, de N.C. Barbarich-Marsteller, 2012, p. 283. Copyright 2013 por Springer Science+Business Media.

Anexo D. Peso medio y error estándar de la media (SEM) en Día 0 para las tres condiciones de tratamiento.

Grupo	Peso medio \pm SEM Día 0
A32-L (n=11)	231.45 \pm 2.58
A32-D (n=9)	228.78 \pm 2.78
A32-C (n=10)	232.80 3.39

Anexo E. Resultados de ANOVA de medidas repetidas para las variables dependientes actividad, peso, ingesta y TC en F1.

Variables	gl	F	Significación (p)
Actividad			
DíasF1	(1.9;51.9)	67.242	≤.001***
Grupo	(2,27)	.118	.889
Interacción	(3.8;51.9)	.428	.780
Peso			
DíasF1	(1.4;39.3)	219.331	≤.001***
Grupo	(2,27)	.375	.691
Interacción	(2.9;39.3)	1.225	.313
Ingesta			
DíasF1	(2.3;62.1)	22.836	≤.001***
Grupo	(2,27)	.545	.586
Interacción	(4.6;62.1)	.124	.982
TC			
DíasF1	(1.8;45.5)	3.358	.046*
Grupo	(2,24)	.935	.406
Interacción	(3.7;45.5)	1.520	.214

*p<.05, dos colas. **p<.01, dos colas. ***p<.001, dos colas.

Anexo F. Resultados de ANOVA de medidas repetidas para las variables dependientes actividad, peso, ingesta y TC en F2.

Variables	gl	F	p
Actividad			
DíasF2	(2.1;58.5)	97.757	≤.001***
Grupo	(2,27)	4.715	.018*
Interacción	(4.3;58.5)	2.802	.030*
Peso			
DíasF2	(1.8;50)	6.749	.003**
Grupo	(2,27)	2.574	.095
Interacción	(3.7;50)	5.205	.002**
Ingesta			
DíasF2	(4,54)	2.248	.115
Grupo	(2,27)	1.775	.189
Interacción	(4,54)	2.007	.106
TC			
DíasF2	(2.2;54.9)	5.825	.004**
Grupo	(2,24)	26.833	≤.001***
Interacción	(4.5;54.9)	3.669	.008**

*p<.05, dos colas. **p<.01, dos colas. ***p<.001, dos colas.

Anexo G. Animales recuperados y retirados para cada condición de tratamiento.

Grupo	Recuperadas (%)	Retiradas (%)
A32-L (n=11)	5 (45.5%)	6 (54.5%)
A32-D (n=9)	3 (33.3%)	6 (66.7%)
A32-C (n=10)	9 (90%)	1 (10%)

Anexo H. Resultados de ANOVA de medidas repetidas para la actividad y TC en luz y oscuridad en los tres grupos en F1

Variables	gl	F	Significación (p)
ActividadLuzF1			
ActividadLuzDíasF1	(2.2;59.4)	62.510	≤.001**
Grupo	(2,27)	.530	.595
Interacción	(4.4;59.4)	1.014	.412
ActividadOscuridadF1			
ActividadOscuridadDíaF1	(1.8;49.8)	31.943	≤.001***
Grupo	(2,27)	.287	.753
Interacción	(3.6;49.8)	.669	.605
TemperaturaLuzF1			
TCLuzDíasF1	(1.6;39.9)	7.788	.002**
Grupo	(2,24)	1.049	.366
Interacción	(3.3;39.9)	2.256	.066
TemperaturaOscuridadF1			
TCOscuridadDíasF1	(2.2;53.1)	.771	.480
Grupo	(2, 24)	.156	.856
Interacción	(4.4;53.1)	.270	.911

*p<.05, dos colas. **p<.01, dos colas. ***p<.001, dos colas.

Anexo I. Resultados de ANOVA de medidas repetidas para la actividad y TC en luz y oscuridad de los tres grupos en F2.

Variables	gl	F	Significación (p)
ActividadLuzF2			
ActividadLuzDíasF2	(1.8;50.4)	27.766	≤.001***
Grupo	(2,27)	34.169	≤.001***
Interacción	(3.7;50.4)	6.609	≤.001***
ActividadOscuridadF2			
ActividadOscuridadDíasF2	(1.6;44.4)	78.999	≤.001***
Grupo	(2,27)	4.846	.016*
Interacción	(3.2; 44.4)	2.595	.059
TemperaturaLuzF2			
TCLuzDíasF2	(2.1;52.3)	13.017	≤.001***
Grupo	(2,24)	22.914	≤.001***
Interacción	(4.3;52.3)	2.209	.075
TemperaturaOscuridadF2			
TCOscuridadDíasF2	(2.2;54.4)	.857	.443
Grupo	(2, 24)	19.197	≤.001***
Interacción	(4.5;54.4)	8.015	≤.001***

*p<.05, dos colas. **p<.01, dos colas. ***p<.001, dos colas.