

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA O CRÓNICA DE
CICLOPENTILPROPIONATO DE TESTOSTERONA SOBRE EL PATRÓN DE
COMPORTAMIENTO DIARIO Y VARIACIÓN DIARIA DE LA TEMPERATURA
CORPORAL EN CORDEROS CASTRADOS**

Por

BAPTISTA, Gabriel

CICATIELLO, Bruno

MAÑANA, Josefina

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor/a en Ciencias Veterinarias: Producción Animal.

MODALIDAD Ensayo Experimental

MONTEVIDEO

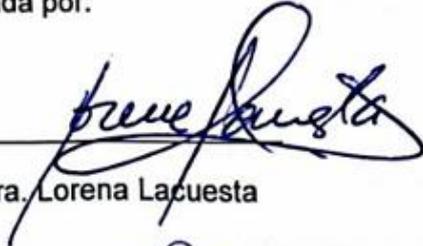
URUGUAY

2024

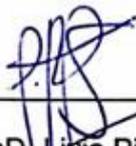
PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

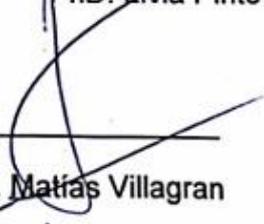
Presidente de mesa: _____


Dra. Lorena Lacuesta

Segundo miembro (tutor): _____


PhD. Livia Pinto-Santini

Tercer miembro: _____


Dr. Matias Villagran

Cuarto miembro: _____


PhD. Rodolfo Ungerfeld

Fecha: 24/05/2024

Autores: _____


Br. Gabriel Baptista


Br. Bruno Cicatiello


Br. Josefina Mañana

AGRADECIMIENTOS

A nuestra tutora Livia Pinto-Santini y co-tutor Rodolfo Ungerfeld, por su constante apoyo y dedicación brindada a lo largo de este trabajo.

A Florencia Scarabino, Valentina Reyes, Juan Carlos Orihuela y Ana María García por su colaboración en el experimento.

A la Facultad de Veterinaria, quien nos formó como profesionales.

A nuestras familias y amigos por ser un pilar fundamental y brindarnos todo su apoyo y confianza desde el inicio de la carrera universitaria, hasta el día de hoy.

A la Comisión de Investigación y Desarrollo Científico de la Facultad de Veterinaria quien, a través del Proyecto de Investigación 26-11-347-000-1-11, financió parte de esta tesis.

Tabla de contenido

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	5
RESUMEN	7
SUMMARY	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
2.1 Definición de ritmo circadiano y patrón de variación diario en mamíferos...	10
2.2 Características de los ritmos circadianos y/o patrones de variación diaria..	10
2.3 Sistema circadiano. Componentes	11
2.4 Rol de los esteroides sexuales en la modulación del sistema circadiano...	12
2.5 Patrón de variación diario de las conductas básicas en los ovinos	13
2.6 Patrón de variación diario de la temperatura corporal en ovinos	14
2.7 Asociación entre las concentraciones de testosterona, la conducta y la temperatura en los rumiantes	14
3. HIPÓTESIS	16
4. OBJETIVO	16
5. MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1 Ubicación, animales y manejo general	17
5.2 Tratamientos	17
5.3 Temperatura ambiente y humedad relativa	18
5.4 Actividades efectuadas por los corderos	18
5.5 Temperatura superficial y rectal	19
5.6 Análisis estadístico	19
6. RESULTADOS	
6.1 Conductas efectuadas por los corderos.....	21
6.2 Temperatura rectal y superficial	24
7. DISCUSIÓN	28
8. CONCLUSIONES	29
9. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	30

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Características de los ritmos circadianos y/o patrones de variación diario. En el caso representado, el periodo es cercano a las 24 h. **Página 11.**

Figura 2. Principales vías nerviosas de entrada de las señales fóticas y no fóticas al núcleo supraquiasmático. **Página 12.**

Figura 3. Localización de receptores de andrógenos y estrógenos en el NSQ. **Página 13.**

Figura 4. Variación de la temperatura ambiental y humedad relativa promedio por hora durante los días de medición. El color azul representa la temperatura ambiental (°C) y el color anaranjado la humedad relativa (%). El área sombreada en gris oscuro representa la fase de oscuridad: atardecer a las 19:00 h y el amanecer a las 06:40 h. **Página 18.**

Figura 5. Imágenes tomadas con la cámara termográfica FLIR, que ejemplifican la región rostral de los corderos, en las cuales se midieron la temperatura de la córnea, a nivel del iris (color rojo), lacrimal interno (color azul), lacrimal proximal externo (color violeta) y lacrimal distal externo (color negro). **Página 19.**

Figura 6. Porcentaje del tiempo que dedicaron a comer (a), rumiar (b), estar de pie (c); echados (d) y durmiendo (e) durante el día los corderos con aplicación AGUDA (color anaranjado) y CRÓNICA (color gris) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no (CONTROL color azul). La línea debajo de color negro representa la fase de oscuridad: puesta del sol a las 19:00 h y el amanecer a las 06:40 h. Letras diferentes indican diferencias en los tiempos de medición ($P < 0,01$). **Página 23.**

Figura 7. Variación de la temperatura rectal a lo largo del día, de los corderos con aplicación AGUDA (color anaranjado) y CRÓNICA (color gris) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no aplicación (CONTROL, color azul). La línea debajo de color negro representa la fase de oscuridad: atardecer a las 19:00 h y el amanecer a las 06:40 h. Letras diferentes indican diferencias en los tiempos de medición ($P < 0,01$). **Página 25.**

Figura 8. a) Variación de la temperatura del iris a lo largo del día; b) Variación de la temperatura del lacrimal interno a lo largo del día; c) Variación de la temperatura del lacrimal externo proximal a lo largo del día; d) Variación de la temperatura del lacrimal externo distal a lo largo del día. La línea debajo de color negro representa la fase de oscuridad: atardecer a las 19:00 h y el amanecer a las 06:40 h. Los corderos con aplicación AGUDA de ciclopentilpropionato de testosterona están representados con el color anaranjado, CRÓNICA con el color gris, y el grupo CONTROL con color azul. **Página 26.**

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados \pm EE (error estándar) y efectos principales de la administración de una dosis (AGUDO), tres dosis (CRÓNICO) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no aplicación (CONTROL), hora del día (tiempo) y la interacción entre tratamiento y tiempo, sobre el porcentaje del tiempo que los carneros dedicaron a efectuar las actividades registradas. **Página 21.**

Cuadro 2. Medidas estimadas + EE (error estándar) de las características del patrón de variación diario del comportamiento de los corderos con aplicación de una dosis (AGUDO), tres dosis (CRÓNICO) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no aplicación (CONTROL). **Página 21.**

Cuadro 3. Medias de mínimos cuadrados, EE (error estándar) y principales efectos de la administración de una dosis (AGUDO) o tres dosis (CRÓNICO) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no (CONTROL) sobre la temperatura rectal y superficial (iris, lacrimal interno y lacrimal externo proximal y distal). **Página 24.**

Cuadro 4. Medias de mínimos cuadrados \pm EE (error estándar) de las características del ritmo circadiano de la temperatura rectal, del iris, lacrimal interno, lacrimal proximal y distal externo en corderos con aplicación de una dosis (AGUDO) o tres dosis (CRÓNICO) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no aplicación (CONTROL). **Página 24.**

RESUMEN

Los esteroides sexuales pueden modular diversos patrones de variación diario de la fisiología y de la conducta de los ovinos. No obstante, en los carneros, los cambios en los patrones de variación diario observados podrían diferir de acuerdo a la concentración de testosterona, la que a su vez es variable según el momento del año. En base a esto, el objetivo de la tesis fue determinar el efecto de la administración aguda o crónica de ciclopentilpropionato de testosterona en los patrones de variación diarios de las actividades comer, rumiar, estar echado, de pie y dormir, y de la temperatura corporal (superficial y rectal) en corderos que fueron castrados al nacer. Para ello, se utilizaron 30 corderos machos de 8-9 meses de edad, producto del cruzamiento de las razas Corriedale x Poll Dorset y Merilin x Finish. Los corderos fueron distribuidos en forma homogénea por raza y peso corporal, en los siguientes tratamientos: a) CONTROL (n=10): sin administración de ciclopentilpropionato de testosterona, b) AGUDO (n=10): administración de una sola dosis de 100 mg de ciclopentilpropionato de testosterona 48 h antes del inicio de los muestreos, c) CRÓNICO (n=10): administración de 3 dosis de 100 mg de ciclopentilpropionato de testosterona, una por semana por 3 semanas consecutivas, siendo la administración de la última dosis 48 h antes del inicio de los muestreos. Se determinó, por 48 h continuas con intervalos de 1 h, las actividades que efectuaban los corderos (paseo visual), así como su temperatura rectal (termómetro digital) y superficial (cámara infrarroja). Las características de los patrones de variación diario de todas las variables evaluadas (mesor, amplitud, acrofase y robustez) fueron determinadas usando el programa Cosinor.exe, versión 3.1 y posteriormente fueron comparadas mediante modelo mixto (Proc mixed; SAS OnDemand for Academics). Los tratamientos solo afectaron la acrofase del tiempo dedicado a comer de los corderos, la que se atrasó ~ 1 h en el grupo CRÓNICO en relación a los otros dos tratamientos ($P = 0,03$). No se presentaron cambios debidos a los tratamientos en el resto de las características del patrón de variación diario de la actividad comiendo ni para ninguna de las variables evaluadas. Las acrofases de las actividades rumiando, estar de pie, estar echado y durmiendo se presentaron ~ 05:00 h, ~ 12:00 h, ~ 23:00 h y ~ 20:00 h respectivamente. La acrofase de la temperatura superficial se presentó a las ~ 15:00 h y de la temperatura rectal a las ~ 18:00 h. En conclusión, los patrones de variación evaluados fueron bastante rígidos, por lo tanto, poco afectados por la administración de ciclopentilpropionato de testosterona.

SUMMARY

Sex steroids modulate some physiology and behavior daily variation patterns in sheep. In rams, the changes in the daily variation patterns could differ according to testosterone concentration, which is variable according to the time of the year. Based on this, this thesis aimed to determine the effect of acute or chronic administration of testosterone cyclopentyl propionate on the daily variation patterns of eating, ruminating, lying, standing, and sleeping activities, and body temperature (surface and rectal) in lambs that were castrated at birth. The experiment was performed with 30 Corriedale and Merilin crossbred male lambs (8-9 months old) that were homogeneously distributed into the following treatments, according to that were administered or not with testosterone (100 mg of cyclopentyl propionate per dose): a) ACUTE (n= 10): lambs received a single dose of testosterone 48 h before the start with the sampling; b) CHRONIC (n= 10): three weekly doses of testosterone, one per week for 3 consecutive weeks, with the last one administered 48 h before the start with the sampling; c) CONTROL (n=10): without administration of testosterone cyclopentyl propionate. All data were recorded every hour for 48 hours beginning 48 h after the last administration of testosterone. The activities effectuated by lambs (visual panning), as well as their rectal (digital thermometer) and surface (infrared camera) temperatures, were determined for 48 continuous hours at 1-hour intervals. The characteristics of the daily variation patterns (mesor, amplitude, acrophase, and robustness) of all variables evaluated were determined using the Cosinor.exe program, version 3.1, and then were compared using a mixed model (Proc mixed; SAS OnDemand for Academics). Treatments only affected the acrophase of the time that lamb males dedicated to eating. There was a delay of ~1h in the acrophase in the group CHRONIC about the other groups (P = 0,03) for this variable. There were no changes due to the treatments in the rest of the characteristics of the daily variations pattern for eating and any of the variables evaluated. The acrophase by the time spent ruminating, standing up, lying down, and sleeping occurred at ~ 05:00 h, ~ 12:00 h, ~ 23:00 h and ~ 20:00 h, respectively. The acrophase of the surface temperature occurred at ~15:00 h and the rectal temperature at ~18:00 h. In conclusion, the daily variation patterns evaluated were rigid and, consequently, were little affected by the administration of cyclopentyl propionate of testosterone.

1. INTRODUCCIÓN

Los ritmos circadianos están presentes en la mayoría de los seres vivos, incluidos los humanos y los animales. Estos ritmos biológicos permiten la adaptación de los organismos a los cambios cíclicos del ambiente y juegan un papel fundamental en la regulación de diversas funciones fisiológicas y conductuales, de acuerdo al momento del día (Golombeck, 2007). Los ciclos diarios de luz y oscuridad actúan como el principal sincronizador externo de los ritmos circadianos, permitiendo a los seres vivos anticiparse y ajustarse a las variaciones ambientales que se presentan a lo largo del día (homeostasis predictiva).

En el caso de los mamíferos, el núcleo supraquiasmático (NSQ) en el hipotálamo es el principal reloj biológico interno que regula los ritmos circadianos (Refinetti, 2016). Este reloj central se sincroniza con el ciclo luz:oscuridad a través de la retina, que es el órgano que, en los mamíferos, presenta sensibilidad a la luz. La información fotoperiódica recibida por la retina se traduce en señales neurales y hormonales que influyen en la actividad de otros relojes periféricos (órganos y tejidos), regulando así una variedad de funciones fisiológicas y de comportamiento (Corbalan-Tutau, Madrid, Nicolas & Garaulet, 2014; Evans & Silver, 2015). No obstante, otras señales no-fóticas, entre las que se destacan los ciclos de alimentación, de temperatura ambiente y las interacciones sociales (presencia/ausencia de parejas sexuales, presencia de predadores), pueden modular los ritmos circadianos (Refinetti, 2016). Estas señales constituyen información “especial” (estado de alerta, aumento de la actividad, mecanismos endócrinos - incluidas hormonas con acción metabólica y/o metabolitos - y neurotransmisores) que permite modular los ritmos circadianos favoreciendo la adaptación de los animales a su entorno (Buijs, Cox, van den Wildenberg & van der Molen, 2019; Pinto-Santini, Pérez-Clariget & Ungerfeld, 2022; Webb, Antle & Mistlberger, 2014).

Pinto-Santini & Ungerfeld (2019) reportaron que el ritmo circadiano de la secreción de cortisol y del metabolismo energético de las ovejas varía de acuerdo a la fase del ciclo estral. En carneros, la administración de gonadotropina coriónica equina (eCG) durante la estación no reproductiva (invierno) promueve la secreción de testosterona y modifica el patrón de variación diario del tiempo dedicado a comer y dormir, así como la hora del día en que se presenta la mayor concentración de insulina (Pinto-Santini, Pérez-Clariget & Ungerfeld, 2021). Además, aunque no modificó el patrón de variación diario de la temperatura superficial, la administración de eCG redujo sus valores medios. Estos trabajos permiten sugerir que los esteroides sexuales podrían ser una señal moduladora no-fótica de los relojes biológicos en ovinos. No obstante, en el caso de los carneros, los cambios en los patrones de variación diario observados podrían diferir de acuerdo a si el incremento de la testosterona se presenta en forma aguda, p.e. cuando se administra eCG, o en forma crónica o natural, debido a cambios de estación. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar si la administración aguda o crónica de ciclopentilpropionato de testosterona modifica los patrones diarios de las conductas básicas y temperatura corporal de corderos castrados.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Definición de ritmo circadiano y patrón de variación diario en mamíferos

Los ritmos biológicos pueden definirse como la variación regular de una función biológica en el curso del tiempo. Estos pueden clasificarse de acuerdo a su periodicidad en circadianos (frecuencia próxima al día; p.e. ciclo vigila-descanso en humanos, algunas secreciones hormonales, temperatura corporal), ultradianos (duración del ciclo inferior a un día; p.e. frecuencia respiratoria, cardíaca) e infradianos (duración del ciclo mayor a un día; p.e. ciclo estral en las hembras, patrones reproductivos estacionales) (Refinetti, 2016). Con relación a los ritmos circadianos, para que un ritmo biológico sea considerado como tal, además de tener una duración cercana a las 24 h, debe generarse internamente, es decir, que son de carácter endógeno (reloj biológico interno), y ser capaces de sincronizarse con los ciclos ambientales (Refinetti, 2016). En los mamíferos, el NSQ, que se encuentra en el hipotálamo, es la estructura física en donde se encuentra el reloj principal, el cual transmite la información del tiempo hacia otros relojes periféricos (órganos y tejidos). Cuando no se comprueba la naturaleza endógena de un ritmo, es preferible usar los términos ritmos diarios y/o patrón de variación diario para describir la ritmicidad de una variable a lo largo del día (incluida el día – fase lumínica y la noche – fase oscura) (Refinetti, 2016); este último es el término que se usará en la presente tesis. Las variaciones diarias de algunas funciones fisiológicas y de conducta se han mantenido durante el proceso evolutivo y permite que los organismos se preparen (homeostasis predictiva), a los cambios más o menos periódicos del ambiente, efectuando sus funciones en la hora más “idónea” del día, de acuerdo con su hábito (diurno o nocturno).

2.2 Características de los ritmos circadianos y/o patrones de variación diario

Los ritmos circadianos y/o los patrones de variación diario pueden ser caracterizados en base al mesor, la amplitud, y la acrofase en función de su período, (Figura 1), además de la robustez, las cuales se obtienen a partir del ajuste de una serie de datos de tiempo a una función cosenoidal. Por un lado, el período es definido como el intervalo entre dos acontecimientos idénticos, p.e. momento en que se produce el valor máximo o mínimo de un ritmo o patrón de variación diario, es decir, la duración de un ciclo completo (~ 24 h para el ritmo circadiano). El mesor, definido como el valor medio del ritmo de la variable estudiada, calculado a lo largo de un período completo. La amplitud, es la diferencia entre el mesor y el valor máximo alcanzado por la variable durante el período. La fase se define como el valor instantáneo de una variable biológica en un momento dado. Para caracterizar la fase, lo más usual es determinar la hora del día en que la variable estudiada alcanza su valor máximo a lo largo del ciclo, punto que se denomina “acrofase” (Sabater Gárrix, 2019). En cuanto a la robustez, es referida al ajuste de los datos obtenidos a la función cosenoidal (Refinetti, 2016).

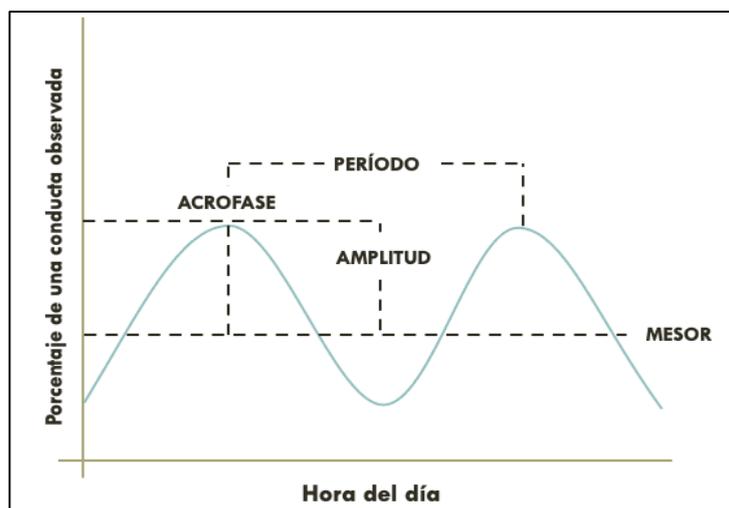


Figura 1. Características de los ritmos circadianos y/o patrones de variación diario. En el caso representado, el periodo es cercano a las 24 h (modificado de Refinetti, 2016).

2.3 Componentes de un sistema circadiano

El sistema circadiano de los mamíferos tiene cuatro componentes básicos. Por un lado, un marcapasos central de carácter endógeno o reloj localizado en el NSQ ubicado en el quiasma óptico del hipotálamo ventral, el que tiene oscilaciones de actividad con ritmos cercanos a las 24 h (Migliaro, 2018). Por otro lado, hay osciladores secundarios y vías de salida desde el NSQ a los sistemas efectores necesarios para la expresión de los ritmos. Por último, existen sincronizadores fóticos y no fóticos (Madrid & Rol de Lama, 2006; Refinetti, 2016). A continuación, se detalla la vía de acción de ambos sincronizadores:

Sincronizadores fóticos:

La señal fótica, producida por el ciclo luz:oscuridad, es la principal sincronizadora del reloj biológico (Refinetti, 2016). En los mamíferos, la retina es el órgano que presenta sensibilidad a la luz. Un subgrupo de las células ganglionares de la retina que son fotorreceptoras o intrínsecamente fotosensibles produce la melanopsina. Estas células participan, además de la formación de imágenes, en la sincronización del ritmo circadiano por la luz (Pérez-León & Brown, 2009). La información acerca del fotoperiodo es recibida por el NSQ, el cual la traduce en impulsos neurales y hormonales, los cuales van a afectar los ritmos del animal. En lo que respecta a los impulsos neurales, se sabe que la información de la luz se transmite al NSQ mediante el tracto retino-hipotalámico (Figura 2). Mediante el sistema simpático, el NSQ envía impulsos hacia la glándula pineal la cual va a secretar melatonina. Esta hormona es secretada durante las horas de oscuridad y se asocia con la sincronización de algunos ritmos circadianos, entre ellos de la actividad locomotora y de la temperatura corporal (Corbalan-Tutau et al., 2014).

Sincronizadores no-fóticos:

Tal como se mencionó anteriormente, hay otras señales no fóticas que pueden modular los ritmos circadianos (Refinetti, 2016). Entre estas destacan los ciclos de alimentación, de temperatura ambiente y las interacciones sociales. Estos sincronizadores pueden actuar a través de mecanismos de retroalimentación e incluir metabolitos, hormonas, como los esteroides sexuales, y neurotransmisores (Webb et al., 2014). La presencia de receptores de esteroides en el NSQ, como se verá más adelante, sugiere que estos esteroides están involucrados en el funcionamiento del sistema circadiano como sincronizadores no fóticos. Las vías de entrada de los sincronizadores no fóticos pueden observarse en la Figura 2, e incluyen las neuronas serotoninérgicas del núcleo dorsal y medio del rafe (Evans et al., 2015).

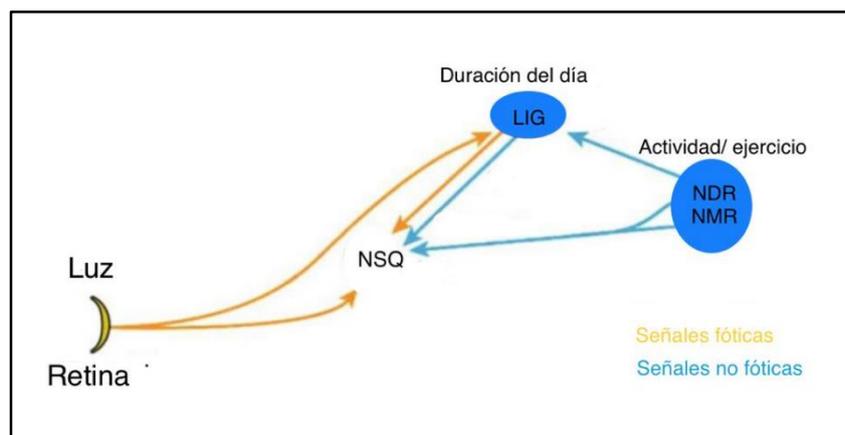


Figura 2. Principales vías nerviosas de entrada de las señales fóticas y no fóticas al núcleo supraquiasmático.

LIG: láminas intergeniculadas, NDR: núcleo dorsal del rafe, NMR: núcleo medial del rafe (tomado de Evans et al., 2015).

2.4 Rol de los esteroides sexuales en la modulación del sistema circadiano

La principal función de los esteroides sexuales, tal como lo indica su nombre, es la reproductiva. Sin embargo, además de esta función, participan en procesos metabólicos (Clarke, Clarke, Rao, Cowley, & Henry 2012), así como también en la modulación del sistema circadiano (Pinto-Santini et al., 2022). En el caso de los machos, el principal esteroide sexual es la testosterona. La testosterona es sintetizada a partir del colesterol y es secretada por las células intersticiales de Leydig en los testículos, y en menor cantidad en las glándulas adrenales (Ladera, 2009). La concentración de testosterona es regulada a través de la retroalimentación hormonal que requiere señales del hipotálamo y la glándula pituitaria (Justel, Bentosela & Ruetti, 2010), y la hormona LH estimula su secreción (Ladera, 2009).

En roedores se reportó la presencia de receptores de esteroides en el NSQ, lo que constituye hasta ahora una de las principales evidencias del posible rol modulador que estas hormonas pueden tener en el sistema circadiano. No obstante, existen diferencias sexuales en la localización de los receptores de andrógenos y de estrógenos, lo que pudiera indicar que su rol modulador es dependiente del sexo. En tal sentido, en ratones machos intactos, los receptores de andrógenos se expresan en

la región central del NSQ (región que también recibe las señales fóticas), no así en los ratones machos castrados. En contraste, los receptores de estrógenos, tanto en hembras como en machos, se expresan principalmente en la envoltura del NSQ (Figura 3) (Yan & Silver, 2016).

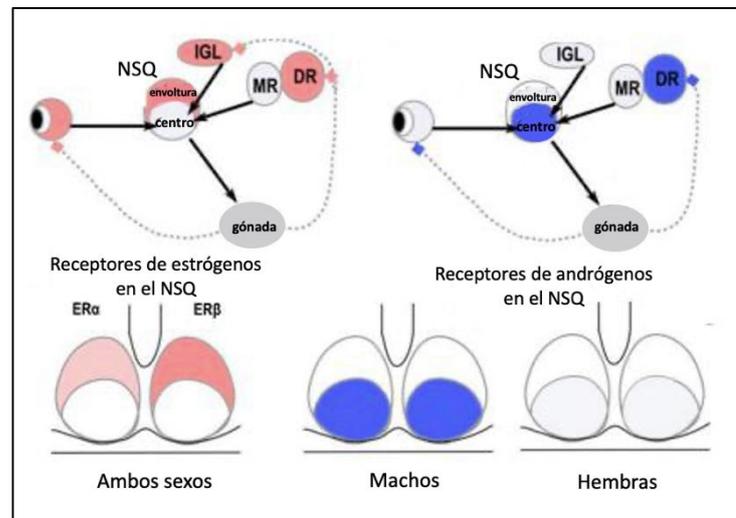


Figura 3. Localización de receptores de andrógenos y estrógenos en el NSQ (tomado de Yan et al., 2016).

2.5 Patrón de variación diario de las conductas básicas en los ovinos

A los ovinos se los clasifica, de acuerdo a sus hábitos, como animales diurnos ya que su pico máximo de actividad - desplazamiento se presenta durante la fase de luz (Piccione, Giannetto, Casella, & Caola, 2008; Piccione, Giannetto, Caola & Casella, 2010). Aparte del desplazamiento, los rumiantes efectúan otras conductas básicas como comer, rumiar, estar de pie, echados y dormir. La definición de estas conductas, según los registros etológicos en ovinos son: a) comer: cuando se observa a los animales con la cabeza hacia abajo para la aprehensión de los alimentos, y en esa posición, se observan efectuando movimientos de mandíbula (masticación) entre bocados; b) rumiar: se observa a los animales efectuando una masticación rítmica visible la cual es precedida de una regurgitación y posterior re-deglución del bolo alimenticio, no asociada a la ingestión de alimento, por lo que la masticación se hace con la cabeza recta (Fernández, Blas, Cervera, Fernández, Jóver & Pascual, 2017); c) estar de pie: una animal se encuentra de pie cuando tanto los miembros anteriores como los posteriores se observan extendidos; d) echado: el animal se encuentra acostado para descansar, dormir o rumiar; y e) dormir: se considera que un ovino duerme cuando se encuentra en posición acostada con la cabeza apoyada sobre el flanco y los ojos cerrados (Ternman, 2014).

En relación con el momento del día que se llevan a cabo las conductas básicas de los corderos, está demostrado que generalmente comen desde el amanecer, lo que continúa en intervalos durante el día, finalizando al anochecer (Arnold, 1962). Se ha observado que en ovejas que tienen acceso a comida durante todo el día, los ritmos de alimentación son diurnos, presentando un pico de alimentación al amanecer y otro al atardecer (Piccione, Caola, & Refinetti, 2007). También se ha registrado que son capaces de anticipar la hora de la comida, aumentando su actividad motora unas

horas antes (Piccione, Caola, & Refinetti, 2011). A pesar de ello, se ha visto que, mediante técnicas de restricción alimentaria, se puede alterar el ritmo de actividad diurno de las ovejas a un ritmo nocturno (Piccione et al., 2007), lo que es congruente con el rol sincronizador del sistema circadiano de la alimentación. En cuanto a la rumia, ésta se presenta en varios momentos del día, pero con más frecuencia en la noche (entre las 21:00 y 05:00 h del día) (Gordon & McAllister, 1970; Kieltyka-Kurc, Rydel-Gigauri, & Gorecki, 2013); el descanso echado, con o sin rumia, también se presenta en varios momentos del día, pero estas dos conductas asociadas (echado y rumiando) se presentan con mayor incidencia por la noche (Gordon et al., 1970; Kieltyka-Kurc et al., 2013). Por otra parte, dormir es una actividad poco frecuente en los ovinos, a la que le dedican apenas 4-5 h al día (Fraser, 1980).

2.6 Patrón de variación diario de la temperatura corporal en los ovinos

Los ovinos son una especie endoterma, es decir, pueden mantener una temperatura corporal relativamente estable cuando están expuestos al calor o al frío debido a su capacidad para modular tanto la producción de calor (termogénesis, principalmente vinculada a la actividad metabólica del animal) como la pérdida de calor (termólisis), presentando temperaturas corporales próximas a 39 °C (Refinetti, 2016). En ovinos y en vacunos, la temperatura superficial medida a nivel del ojo (córnea) se relaciona con la temperatura corporal (George, Godfrey, Ketring, Vinson, & Willard, 2014). El intercambio calórico de los animales endotermos con el medio que los rodea incluye tanto procesos evaporativos (jadeo, sudoración) como procesos no evaporativos o de intercambio de calor sensible (radiación, convección y conducción) (Crossley, 1988). La eficiencia de estos mecanismos depende del ambiente físico que rodea al animal, pero, además, supone, sobre todo en el caso de las pérdidas de calor por las vías sensibles, la transferencia de calor desde las zonas más internas del cuerpo hasta la superficie del mismo. La dirección del flujo sanguíneo, con vasodilatación y/o vasoconstricción periférica, dependiendo si se quiere conservar o liberar calor, son claves en este proceso.

Si bien los animales endotermos presentan mecanismos homeostáticos para mantener su temperatura corporal a pesar de las fluctuaciones en su entorno externo, también presentan patrones de variación asociados al momento del día, por lo que, la temperatura corporal también es regulada por el sistema circadiano (Refinetti, 2020). De hecho, el ritmo circadiano de la temperatura corporal es bastante robusto. La temperatura corporal en ovinos comienza a aumentar al amanecer y alcanza su pico máximo al atardecer, luego del que comienza a disminuir (Aschoff, 1965; Gerpe, 2014), presentando un rango de oscilación entre 1 y 5 °C (Refinetti, 2010). La acrofase de la temperatura corporal en ovinos ocurre entre las 9:00 y 14:00 h (Piccione & Refinetti, 2003).

2.7 Asociación entre las concentraciones de testosterona, la conducta y temperatura de los rumiantes

La concentración de testosterona se asocia con el comportamiento sexual y con la expresión de conductas agresivas en carneros. En ese sentido, los incrementos en la secreción de testosterona se asocian con un mayor despliegue de conductas sexuales de cortejo hacia las hembras (olfateo anogenital, aproximaciones laterales) (Ungerfeld, Clemente, & Orihuela, 2018). Además, Ungerfeld y Lacuesta (2015)

reportaron que las concentraciones de testosterona son más altas antes de la estación reproductiva en carneros dominantes que en carneros subordinados, lo que parcialmente puede explicarse por una mayor competencia entre los carneros. Probablemente las conductas sexuales y de competencia presentadas por los carneros con mayor testosterona puedan modificar el patrón de variación diario del tiempo que éstos dedican a efectuar sus conductas básicas (comer, rumiar y descansar). En este sentido, recientemente se reportó que la administración de eCG durante la estación no reproductiva (finales del invierno) incrementa la concentración de testosterona en forma aguda, lo cual se asoció con un adelanto en la hora en que se presenta la acrofase del tiempo dedicado a comer y el de dormir de los carneros (Pinto-Santini et al., 2022). Por otro lado, al evaluar el efecto del momento del año, el cual también implica cambios en la concentración de testosterona, nuevamente se observaron cambios en el ciclo de vigilia y reposo de los carneros. En este caso, aunque no se presentaron cambios en el patrón de variación diario del tiempo dedicado a comer, durante la estación reproductiva (mayores concentraciones de testosterona) los carneros durmieron más temprano y dedicaron menos tiempo a comer que durante la estación no reproductiva (menores concentraciones de testosterona) (Pinto-Santini et al., 2021).

Los andrógenos se asocian con cambios termorregulatorios de acuerdo al sexo. Por ejemplo, los machos presentan una menor temperatura de la musculatura esquelética en reposo que las hembras, lo que se explica por una mayor cantidad de receptores de andrógenos en áreas centrales como el área preóptica rostral y caudal del hipotálamo (Clarke et al., 2012). Además, la testosterona también podría afectar la temperatura corporal a través de sus efectos vasodilatadores periféricos (Jones, Pugh, Jones & Channer, 2003). La vasodilatación aumenta el flujo sanguíneo cutáneo, lo que conduce a una pérdida de calor (Someren, 2011). La administración de eCG durante el invierno, como se mencionó anteriormente, también conduce a una reducción de la temperatura superficial en los carneros medida a nivel ocular (Pinto-Santini et al., 2021). Además, según lo informado por Pinto-Santini et al. (2022), la temperatura superficial sigue un patrón diario que se ajusta a las estaciones, con el pico máximo ocurriendo más temprano en invierno que en verano. Según este reporte, las variaciones estacionales en la temperatura ambiente y la irrigación sanguínea, influenciadas por los niveles de testosterona, podrían explicar en parte la modificación estacional en el patrón de variación diaria de la temperatura superficial.

3. HIPÓTESIS

La administración aguda o crónica de ciclopentilpropionato de testosterona modifica los patrones de variación diarios de la conducta y la temperatura corporal en corderos castrados.

4. OBJETIVO

Determinar, en corderos castrados, el efecto de la administración aguda o crónica de ciclopentilpropionato de testosterona sobre los patrones de variación diarios del tiempo dedicado a comer, rumiar, estar de pie, echado y dormir; y la temperatura rectal y superficial.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Ubicación, animales y manejo general

Todos los procedimientos efectuados en el presente trabajo fueron aprobados por la Comisión de Ética en el Uso de Animales Experimentales de la Facultad de Veterinaria (CEUA, Universidad de la República, Uruguay; CEUAFVET-1261). El experimento se llevó a cabo en el Campo Experimental N° 1, Facultad de Veterinaria, durante los meses de febrero y marzo del 2022 (verano). Se utilizaron 30 corderos machos de las razas Corriedale x Poll Dorset y Merilin x Finish, de 8-9 meses de edad, castrados con goma aproximadamente a las 24 h de nacidos. Los animales fueron manejados, previo al experimento, de acuerdo a lo previsto en el Campo Experimental. Brevemente, fueron destetados a los 4 meses de edad y se manejaron en condiciones extensivas, con pastoreo a cielo abierto en campo natural. Durante la fase experimental, los corderos estuvieron alojados en dos corrales colectivos (uno por cada grupo de medición), distribuidos en forma balanceada por raza y peso (n=15). Se los alimentó con fardos de alfalfa, suministrado en dos comidas al día (07:00 y 19:00 h) y tuvieron acceso a agua a voluntad. Además, por 14 días consecutivos, fueron sometidos diariamente a un periodo de acostumbramiento al manejo experimental y a la presencia humana. Para ello, los corderos fueron alojados en corrales individuales (2 m x 1 m), por periodos cortos del día, en los que, además de contar también con fardo y agua, se les suministró 250 g de alimento concentrado comercial y se les estimuló táctilmente mediante el cepillado individual en la región dorsal durante 5 min, a los fines de reducir el miedo a la presencia humana y a la captura y sujeción, que pudieran interferir durante las determinaciones.

5.2 Tratamientos

Los corderos fueron distribuidos en forma homogénea por raza y peso corporal en los siguientes tratamientos:

- a) CONTROL (n=10): corderos castrados al nacer a los que no se les administró ciclopentilpropionato de testosterona.
- b) AGUDO (n=10): corderos castrados al nacer a los que se les administró una dosis única de testosterona (100 mg de ciclopentilpropionato de testosterona, intramuscular del laboratorio Dispert) 48 h antes de iniciar las mediciones.
- c) CRÓNICO (n=10): corderos castrados al nacer a los que se les administró una dosis semanal de testosterona (100 mg de ciclopentilpropionato de testosterona, intramuscular del laboratorio Dispert), por 3 semanas consecutivas. En este caso, la última dosis de ciclopentilpropionato de testosterona se administró 48 h antes de iniciar las mediciones.

Los muestreos se efectuaron en dos momentos (grupos de medición) diferentes, evaluando en cada uno a 15 corderos diferentes (5 por tratamiento). Las mediciones se efectuaron a intervalos de 1 h y tuvieron una duración de 48 h continuas, iniciando a las 09:00 h del primer día.

5.3 Temperatura ambiente y humedad relativa

La temperatura ambiente y la humedad relativa fue registrada cada hora, durante las 48 h de medición de cada grupo, con un termohigrómetro portátil colocado a la altura de los corderos. Los valores promedios por hora de todos los días de evaluación (4 en total) se presentan en la Figura 4. La temperatura ambiente varió durante el día: las temperaturas más elevadas se presentaron entre las 14:00 y 15:00 h, siendo 29,0 °C para ambas horas, mientras que las temperaturas menores se presentaron entre las 05:00 y 06:00 h, siendo 11,7 °C y 11,6 °C respectivamente. Con respecto a la humedad relativa, los valores máximos se presentaron a las 5:00 y 6:00 h, mientras que la humedad mínima se presentó entre las 15:00 h y 17:00 h. El atardecer ocurrió a las 19:00 h y el amanecer a las 06:40 h, siendo así la duración de la fase de oscuridad de 11:40 h.

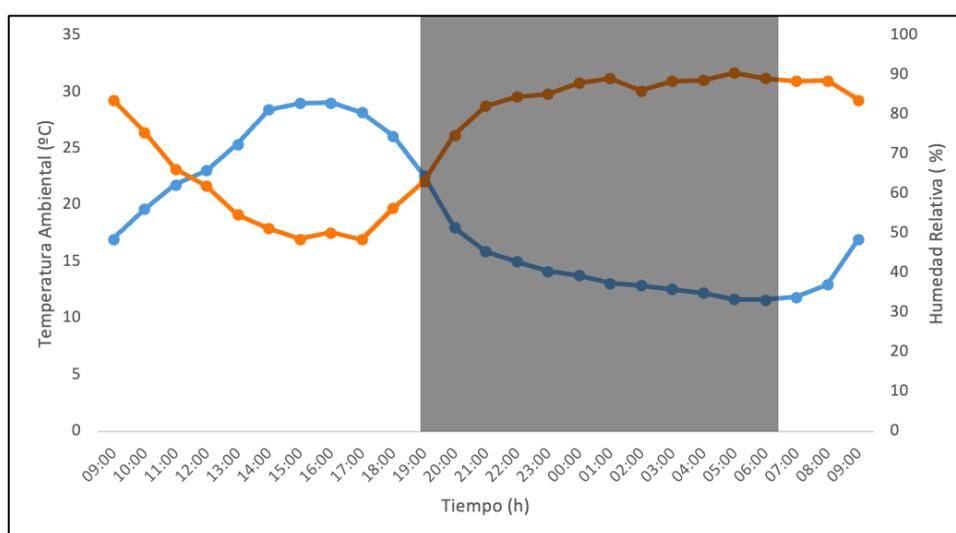


Figura 4. Variación de la temperatura ambiente y humedad relativa promedio por hora durante los días de medición (marzo 2022). El color azul representa la temperatura ambiente (°C) y el color anaranjado la humedad relativa (%). El área sombreada en gris oscuro representa la fase de oscuridad: atardecer a las 19:00 h y el amanecer a las 06:40 h.

5.4 Actividades efectuadas por los corderos

Las actividades efectuadas por los corderos fueron determinadas individualmente, mediante paneo visual, cada una hora durante las 48 h continuas de evaluación de cada grupo de medición. Durante la fase diurna, el paneo fue realizado a una distancia tal que no interfiera con las actividades, y durante la fase nocturna, las observaciones se efectuaron utilizando binoculares con visión nocturna. Las actividades registradas fueron comiendo, rumiando, estar de pie, echados y durmiendo. Los datos fueron agrupados en los siguientes intervalos de tiempo: 09:00 a 12:00 h; 13:00 a 16:00 h; 17:00 a 20:00 h; 21:00 a 00:00 h; 01:00 a 04:00 h; 05:00 a 08:00 h. Los resultados se expresan como porcentaje del tiempo en que cada cordero fue observado realizando dicha actividad en cada intervalo, calculando independientemente mesor, amplitud, acrofase y robustez para cada actividad.

5.5 Temperatura superficial y rectal

Luego del registro de las actividades, siempre en el mismo orden, se determinó individualmente la temperatura superficial a nivel del ojo y la temperatura rectal. La temperatura superficial se midió a ~ 50 cm del animal, con una cámara termográfica FLIR modelo E95 (Flir, Estonia), previamente calibrada. Dichas imágenes fueron analizadas utilizando el software FLIR Tools, utilizando la herramienta elipse y la de punto, de acuerdo a la región. Las regiones anatómicas del ojo que se utilizaron para medir la temperatura fueron: la córnea (a nivel del iris), lacrimal interno, lacrimal proximal externo y lacrimal distal externo (Figura 5). En cada región se determinó la temperatura máxima. Para la temperatura rectal se utilizó un termómetro digital.

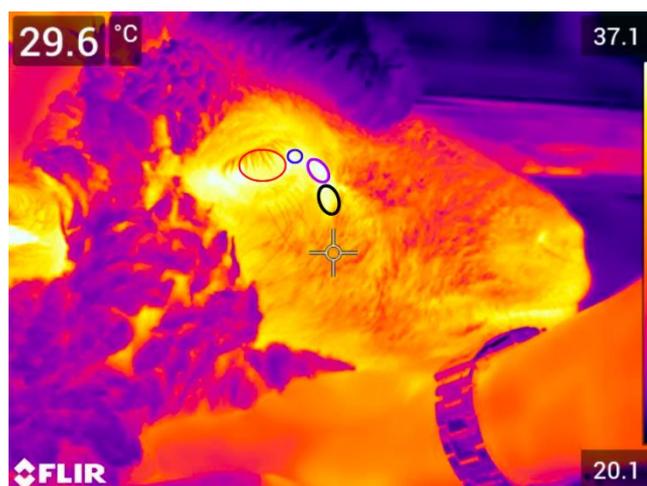


Figura 5. Imágenes tomadas con la cámara termográfica FLIR, que ejemplifican la región rostral de los corderos, en las cuales se midieron la temperatura de la córnea, a nivel del iris (color rojo), lacrimal interno (color azul), lacrimal proximal externo (color violeta) y lacrimal distal externo (color negro).

5.6 Análisis estadístico

La unidad experimental fue cada animal. Todas las variables se analizaron con modelos mixtos (proc mixed; SAS OnDemands for Academics), previo chequeo de la normalidad. El modelo incluyó el efecto del tratamiento, tiempo de medición como medida repetida y las interacciones respectivas. La estructura de varianza-covarianza que mejor se ajustó a los datos fue seleccionada utilizando el criterio Bayesiano (BIC) descrito por Littell, Henry & Ammerman (1998).

Para determinar las características de los patrones de variación diarios evaluados, se efectuó un análisis cosinor (Programa Cosinor.exe, versión 3.1). Las características determinadas fueron amplitud (mitad de la diferencia entre el valor máximo y mínimo del patrón de variación); mesor (nivel medio del patrón de variación); acrofase (hora en que se presenta el valor máximo) y robustez (fuerza del patrón de variación diario). Para el análisis se asumió que el periodo del patrón de variación fue de 24 h. Posteriormente, los resultados fueron comparados de acuerdo con los tratamientos, usando un modelo mixto (proc mixed; SAS OnDemands for Academics). Los

resultados fueron considerados significativos cuando $P \leq 0,05$ y, tendencias cuando $0,05 < P \leq 0,10$.

6. RESULTADOS

6.1 Conductas efectuadas por los corderos

En el Cuadro 1 y 2 se observan los efectos del tratamiento, hora del día y su interacción, sobre el porcentaje del tiempo en que se observó a los corderos efectuando las actividades evaluadas y las características del patrón de variación diario de cada una de ellas, respectivamente. Ninguna de las conductas realizadas por los corderos fue afectada por el tratamiento o por la interacción entre tratamiento y tiempo. No obstante, el porcentaje del tiempo que fue dedicado a cada actividad varió de acuerdo a la hora del día en todas las variables evaluadas ($P < 0,0001$). Respecto a las características de los patrones de variación diario, solo se presentaron cambios en la hora del día en que se presentó la acrofase del tiempo dedicado a comer ($P < 0,05$).

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados \pm EE (error estándar) y efectos principales de la administración de una dosis (AGUDO), tres dosis (CRÓNICO) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no aplicación (CONTROL), hora del día (tiempo) y la interacción entre tratamiento y tiempo, sobre el porcentaje del tiempo que los carneros dedicaron a efectuar las actividades registradas.

Variable	Tratamiento				P		
	CONTROL	AGUDO	CRÓNICO	EE	Tratamiento	Tiempo	Interacción entre tratamiento y tiempo
Comiendo	17,8	17,3	18,8	1,4	0,74	<0,0001	0,27
Rumiando	20,3	19,3	21,5	2,5	0,71	<0,0001	0,34
Parado	26,7	25,9	28,3	1,6	0,57	<0,0001	0,56
Echado	71,8	72,7	71,8	2,5	0,90	<0,0001	0,76
Durmiendo	13,6	16,7	17,6	1,8	0,26	<0,0001	0,53

Cuadro 2. Medidas estimadas \pm EE (error estándar) de las características del patrón de variación diario del comportamiento de los corderos con aplicación de una dosis (AGUDO), tres dosis (CRÓNICO) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no aplicación (CONTROL).

Conducta	Mesor	Amplitud	Acrofase (h) ¹	Robustez (%)
Comiendo				
CONTROL	17,3 \pm 1,2	17,9 \pm 1,9	11:06 \pm 00:24 ^b	51,4 \pm 6,3
AGUDO	16,9 \pm 1,2	19,2 \pm 1,9	10:24 \pm 00:24 ^b	55,2 \pm 5,9

CRÓNICO	18,6 ± 1,2	18,5 ± 1,9	12:00 ± 00:24 ^a	47,6 ± 5,9
Rumiando				
CONTROL	18,3 ± 1,2	14,9 ± 2,4	05:13 ± 00:54	33,3 ± 5,3
AGUDO	17,4 ± 1,2	14,5 ± 2,4	04:00 ± 00:54	40,5 ± 5,6
CRÓNICO	19,3 ± 1,2	16,0 ± 2,4	06:42 ± 00:54	37,9 ± 5,6
Parado				
CONTROL	27,0 ± 1,9	24,1 ± 2,8	12:00 ± 00:24	59,9 ± 6,5
AGUDO	27,5 ± 1,9	23,5 ± 2,8	11:36 ± 00:24	49,4 ± 6,2
CRÓNICO	29,1 ± 1,9	26,1 ± 2,8	11:54 ± 00:24	55,2 ± 6,2
Echado				
CONTROL	71,4 ± 2,0	23,3 ± 2,7	23:06 ± 00:24	44,5 ± 6,7
AGUDO	72,4 ± 2,0	21,9 ± 2,7	23:36 ± 00:24	49,1 ± 7,0
CRÓNICO	71,9 ± 2,0	23,6 ± 2,7	23:18 ± 00:24	52,3 ± 7,0
Durmiendo				
CONTROL	15,3 ± 2,4	10,2 ± 1,2	20:42 ± 02:18	28,8 ± 3,7
AGUDO	19,0 ± 2,4	8,4 ± 1,2	18:54 ± 02:18	17,5 ± 4,2
CRÓNICO	20,3 ± 2,5	7,5 ± 1,2	20:48 ± 02:18	20,8 ± 4,2

¹ Valores ajustados a las 24:00 h. ^{a,b} Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0,05).

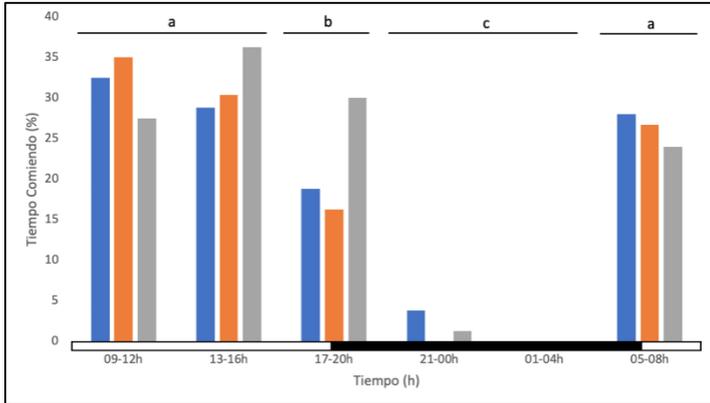
El mayor tiempo dedicado a comer se presentó en los periodos de 09:00-12:00 h y 13:00 y 16:00 h (fase diurna; Figura 6a; P < 0,0001). No obstante, la acrofase del tiempo dedicado a comer se presentó 1 hora más tarde en los corderos del grupo CRÓNICO que en los otros dos grupos (P=0,03). La robustez del patrón de variación diario del tiempo dedicado a comer no varió entre tratamientos siendo superior al 40% en todos los casos (Cuadro 2).

Los corderos fueron observados rumiando la mayor parte del día; el menor tiempo dedicado a rumiar se presentó entre las 17:00 h y 20:00 h (Figura 6b; P < 0,0001). La acrofase del tiempo dedicado a rumiar se presentó previo al amanecer (entre las 04:00 h y 06:00 h), sin diferencias entre los tratamientos. La robustez que se obtuvo en dicha variable fue ~35% en todos los tratamientos (Cuadro 2).

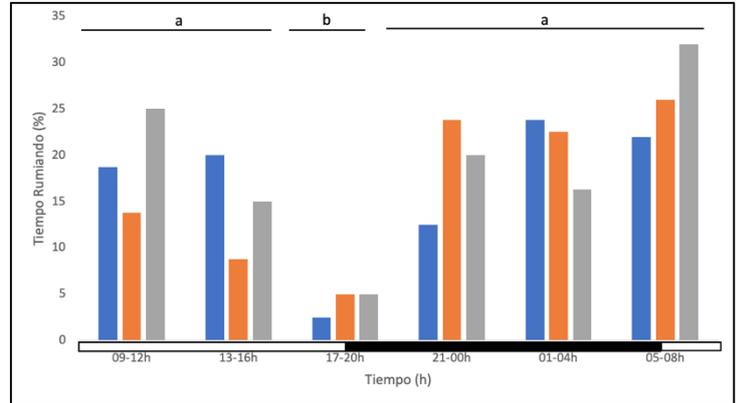
Respecto al tiempo dedicado a estar de pie, el mayor tiempo dedicado a efectuar dicha actividad se presentó en los periodos comprendidos entre las 09:00 h y las 16:00 h del día (~ 40 %; Figura 6c; P < 0,0001), con una acrofase ~ 12:00 h del mediodía y una robustez de ~ 50% (Cuadro 2). Contrariamente, el menor tiempo dedicado a estar de pie se presentó entre la 01:00 h y las 04:00 h del día, coincidiendo con el mayor tiempo dedicado a estar echados (Figura 6d; P < 0,0001). No obstante, la acrofase del tiempo dedicado a estar echados ocurrió ~ 23:00 h, sin diferencias entre tratamientos (robustez > 40 %; Cuadro 2). Los corderos dedicaron tiempo a dormir en varios momentos del día, principalmente en la tarde (entre las 13:00 y 20:00 h) y durante la

madrugada (entre las 01:00 h y 04:00 h) (Figura 6e; $P < 0,0001$); la acrofase para esta actividad se presentó ~ 20:00 h. La robustez del patrón de variación diario del tiempo dedicado a dormir fue de alrededor de 20 % (Cuadro 2).

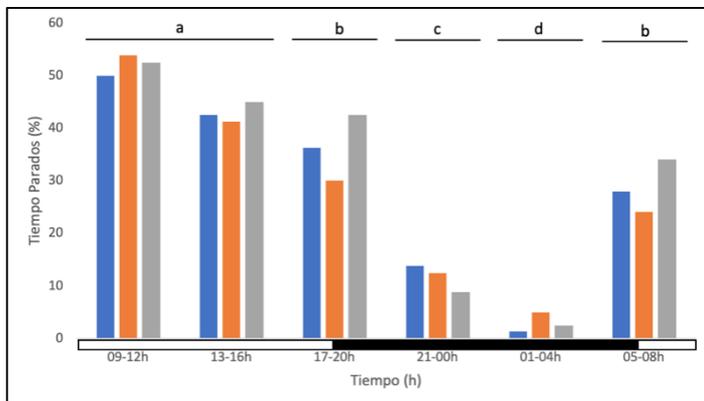
a) Comiendo



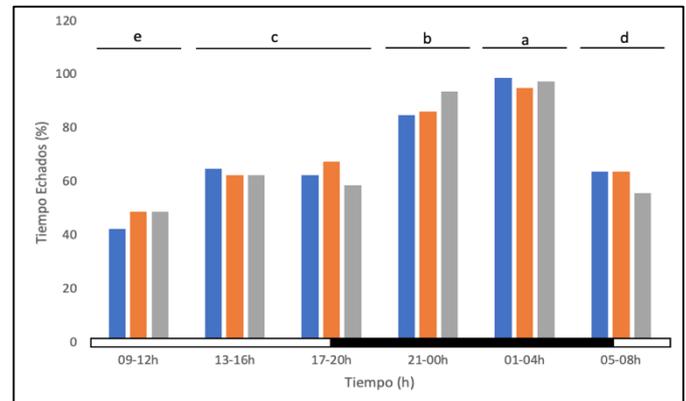
b) Rumiando



c) Parado



d) Echado



e) Durmiendo

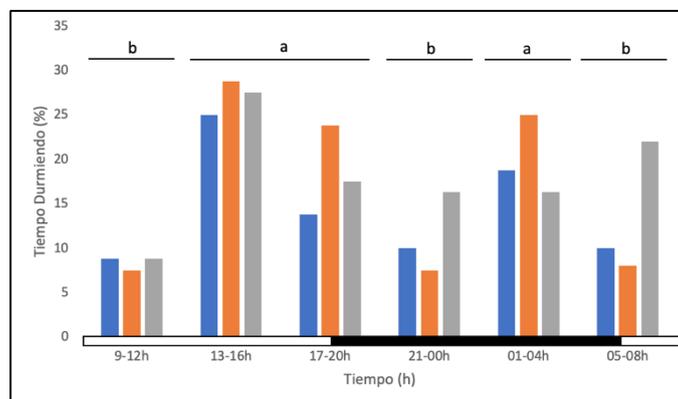


Figura 6. Porcentaje del tiempo que dedicaron a comer (a), rumiando (b), estar de pie (c); echados (d) y durmiendo (e) durante el día en corderos con aplicación AGUDA (color anaranjado) y CRÓNICA (color gris) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no (CONTROL color azul). La línea debajo de color negro representa la fase de

oscuridad: atardecer a las 19:00 h y el amanecer a las 06:40 h. Letras diferentes indican diferencias en los tiempos de medición ($P < 0,01$).

6.2 Temperatura rectal y superficial

En el Cuadro 3 se presentan las medias de la temperatura rectal y de las temperaturas superficiales evaluadas. En cuanto a la temperatura rectal, en los tres grupos estudiados se registró una temperatura de ~ 39 °C, variando a lo largo del día ($P < 0,0001$). Por otro lado, las temperaturas superficiales registradas en todas las regiones no tuvieron diferencia entre tratamientos y también variaron a lo largo del día ($P < 0,0001$). No hubo interacción entre tratamiento y tiempo en ninguna de las temperaturas registradas. Respecto a las características del patrón de variación diario de ambas temperaturas (superficial y rectal), no se obtuvieron diferencias entre tratamientos en ninguna de ellas (Cuadro 4). Solo se observó una tendencia a una acrofase más tardía en la temperatura medida a nivel del lacrimal interno en el grupo AGUDO ($P = 0,07$).

Cuadro 3. Medias de mínimos cuadrados, EE (error estándar) y principales efectos de la administración de una dosis (AGUDO) o tres dosis (CRÓNICO) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no (CONTROL) sobre la temperatura rectal y superficial (iris, lacrimal interno y lacrimal externo proximal y distal).

Variable (°C)	Tratamiento			P		Interacción entre tratamiento y tiempo
	CONTROL	AGUDO	CRÓNICO	Tratamiento	Tiempo	
Temp. Rectal	39,1 ± 0,10	39,1 ± 0,17	39,0 ± 0,17	0,29	<0,0001	0,91
Iris	36,8 ± 0,03	36,8 ± 0,03	36,8 ± 0,03	0,71	<0,0001	0,99
Lacrimal interno	37,4 ± 0,05	37,4 ± 0,05	37,4 ± 0,05	0,92	<0,0001	0,99
Lacrimal prox. Externo	37,4 ± 0,04	37,4 ± 0,04	37,2 ± 0,04	0,13	<0,0001	0,99
Lacrimal dist. Externo	36,9 ± 0,06	37,1 ± 0,06	37,0 ± 0,06	0,08	<0,0001	0,99

Cuadro 4. Medias estimadas ± EE (error estándar) de las características del patrón de variación diario de la temperatura rectal, del iris, lacrimal interno, lacrimal proximal y distal externo en corderos con aplicación de una dosis (AGUDO) o tres dosis (CRÓNICO) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no aplicación (CONTROL).

Temperatura	Mesor	Amplitud	Acrofase (h)	Robustez (%)
Rectal				
CONTROL	39,1 ± 0,1	0,3 ± 0,02	17:17 ± 00:55	43,4 ± 4,3

AGUDO	39,2 ± 0,1	0,3 ± 0,02	18:29 ± 00:55	38,9 ± 4,3
CRÓNICO	39,0 ± 0,1	0,3 ± 0,02	17:38 ± 00:55	37,3 ± 4,3

Ojo (iris)

CONTROL	36,7 ± 0,1	0,5 ± 0,08	15:12 ± 00:36	22,8 ± 2,7
AGUDO	36,8 ± 0,1	0,3 ± 0,08	15:41 ± 00:36	24,9 ± 2,7
CRÓNICO	36,8 ± 0,1	0,4 ± 0,08	15:00 ± 00:36	22,8 ± 2,7

Lacrimal interno

CONTROL	37,4 ± 0,2	0,4 ± 0,05	14:53 ± 00:18	30,6 ± 2,5
AGUDO	37,3 ± 0,2	0,4 ± 0,05	15:26 ± 00:18 †	25,3 ± 2,5
CRÓNICO	37,5 ± 0,2	0,3 ± 0,05	14:32 ± 00:18	27 ± 2,5

Lacrimal proximal externo

CONTROL	37,1 ± 0,3	0,6 ± 0,05	15:23 ± 00:26	24,3 ± 3,8
AGUDO	37,4 ± 0,3	0,4 ± 0,05	15:38 ± 00:26	26,5 ± 3,8
CRÓNICO	37,2 ± 0,3	0,4 ± 0,05	15:46 ± 00:26	20,6 ± 3,8

Lacrimal distal externo

CONTROL	37,2 ± 0,2	0,5 ± 0,01	14:22 ± 00:37	25,7 ± 4,7
AGUDO	37,1 ± 0,2	0,6 ± 0,01	15:13 ± 00:37	31,7 ± 4,5
CRÓNICO	37,3 ± 0,1	0,5 ± 0,01	14:32 ± 00:37	29,5 ± 5,9

El símbolo † indica una tendencia (P = 0,07).

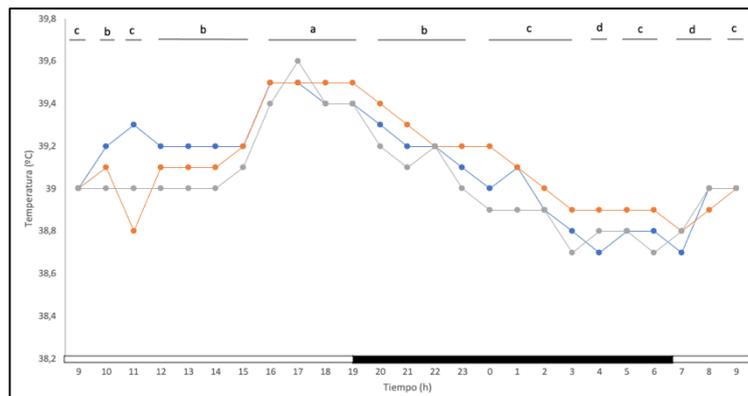
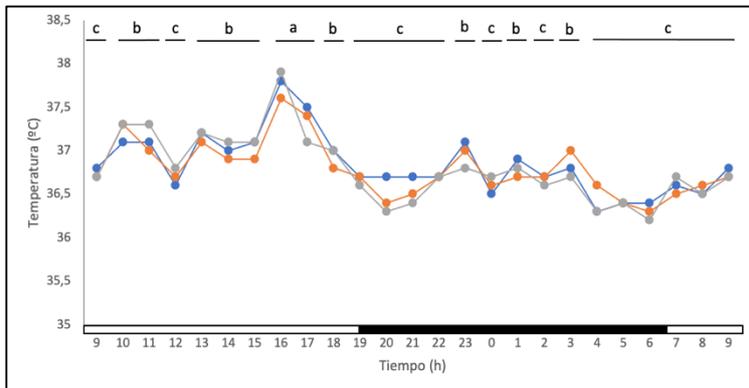
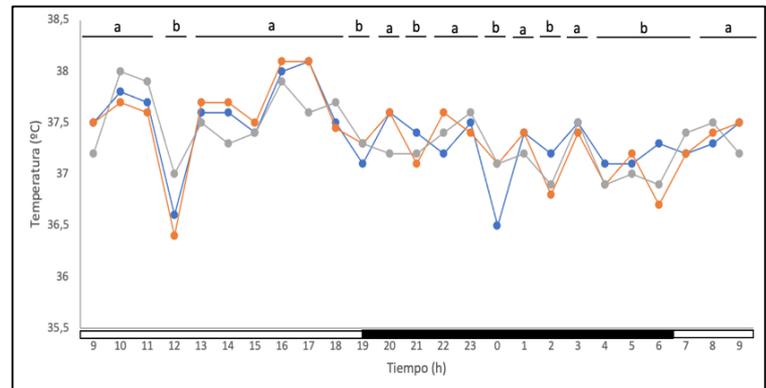


Figura 7. Variación de la temperatura rectal a lo largo del día, de los corderos con aplicación AGUDA (color anaranjado) y CRÓNICA (color gris) de ciclopentilpropionato de testosterona, o no aplicación (CONTROL, color azul). La línea debajo de color negro representa la fase de oscuridad: atardecer a las 19:00 h y el amanecer a las 06:40 h. Letras diferentes indican diferencias en los tiempos de medición ($P < 0,01$).

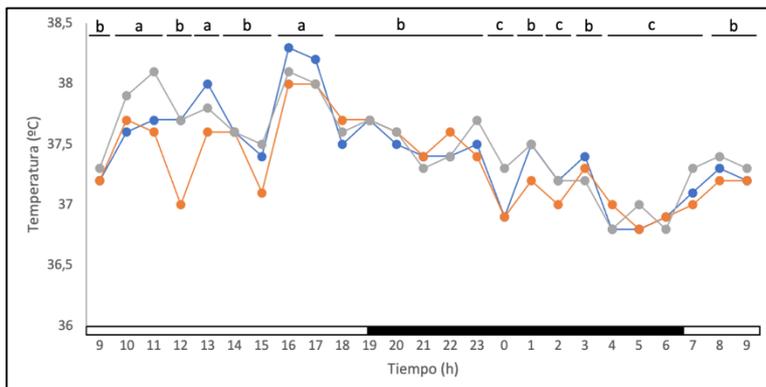
a) Iris



b) Lacrimal interno



c) Lacrimal externo proximal



d) Lacrimal externo distal

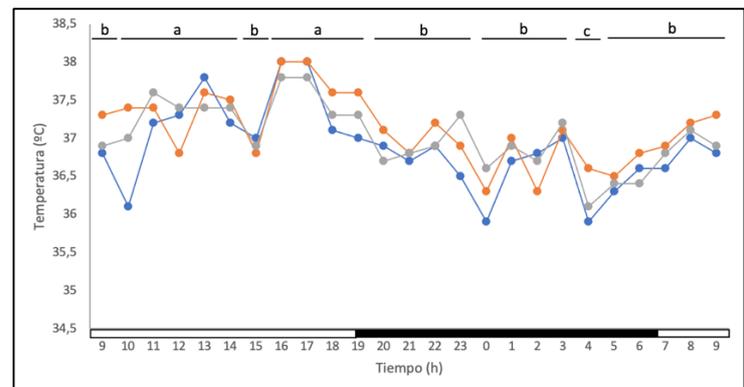


Figura 8. a) Variación de la temperatura del iris a lo largo del día; b) Variación de la temperatura del lacrimal interno a lo largo del día; c) Variación de la temperatura del lacrimal externo proximal a lo largo del día; d) Variación de la temperatura del lacrimal externo distal a lo largo del día. La línea debajo de color negro representa la fase de oscuridad: atardecer a las 19:00 h y el amanecer a las 06:40 h. Los corderos con aplicación AGUDA de ciclopentilpropionato de testosterona están representados con el color anaranjado, CRÓNICA con el color gris, y el grupo CONTROL con color azul.

Las mayores temperaturas rectales se presentaron ~18:00 h (Cuadro 4; Figura 7; $P < 0,001$), coincidiendo con la hora en que se presentó su acrofase. En cuanto a la temperatura superficial, la acrofase ocurrió entre las 14:00 h y las 16:00 h aproximadamente en todos los puntos estudiados (iris, lacrimal interno, lacrimal externo proximal y distal) (Cuadro 4; Figura 8; $P < 0,001$). La robustez de la temperatura rectal fue ~40%, mientras que de la temperatura superficial varió entre 20

y 30% (Cuadro 4). Por otro lado, el mesor de la temperatura rectal fue de ~ 39 °C mientras que el de la temperatura superficial estuvo entre 36 y 37 °C (Cuadro 4).

7. DISCUSIÓN.

La administración de ciclopentilpropionato de testosterona, ya sea de forma aguda o crónica, tuvo efectos marginales sobre los patrones de variación diarios evaluados. No obstante, la acrofase del tiempo dedicado a comer se presentó más tarde en el grupo CRÓNICO en relación a los otros tratamientos, indicando que la testosterona puede estar involucrada en la modulación de dicha actividad. En general, los patrones evaluados fueron bastante rígidos, posiblemente debido a que tienen un fuerte carácter evolutivo asociado a la sincronización fótica (ciclo luz:oscuridad) (Refinetti, 2016).

El atraso en la acrofase en el tiempo que los corderos dedican a comer cuando el andrógeno fue administrado en forma crónica podría deberse a un menor apetito promovido por la mayor concentración de testosterona. En tal sentido, la administración de una dosis elevada de andrógenos en ratas machos castrados reduce la ingesta de alimentos y el peso corporal, de acuerdo a reportes efectuados por Gentry & Wade (1976). También, se ha reportado en carneros que las modificaciones del fotoperiodo, así como con la concentración de testosterona se asocian con incrementos en la expresión del neuropéptido Y (NPY), un potente regulador del apetito (Dobbins, Lubbers, Jackson, Kuehl, & Hileman, 2004). Otra posible explicación para estos resultados podría ser que los machos, ante incrementos en las concentraciones de testosterona, prioricen otras actividades, como por ejemplo las asociadas a la reproducción, como ocurre en carneros que se encuentran a campo, los cuales dedican mayor tiempo a las actividades sexuales que aquellos con menor concentración de testosterona (Rosa, Juniper & Bryant, 2000) o al hecho de que los andrógenos promuevan estados excitatorios generales que modifican los patrones de actividad (Webb et al., 2014). No obstante, dado que los corderos no tuvieron acceso a hembras durante el experimento, no es posible confirmar esta explicación de los cambios en el patrón de variación observado.

La administración de andrógenos a los corderos no afectó el patrón de variación diario de su temperatura corporal. En general, se observó que la temperatura superficial de los corderos fue más baja y presentó una acrofase más temprana que la temperatura rectal, lo cual es esperable fisiológicamente debido al gradiente de la temperatura corporal propio de los animales endotermos (Refinetti, 2020). Respecto al patrón de variación diario de las temperaturas, las mayores temperaturas rectales de los animales se presentan durante la fase activa del día (diurna) o al final de la misma (Aschoff, 1965; Gerpe, 2014). Contrariamente, las menores temperaturas rectales se presentan durante la fase inactiva (fase nocturna) (Maloney, Meyer, Blache & Fuller, 2013) y, hasta donde puede conocerse, no hay reportes de cambios en este patrón de variación asociados a la concentración de testosterona. No obstante, en el caso de la temperatura superficial, se han reportado cambios estacionales en su acrofase. En tal sentido, durante el invierno, la acrofase de la temperatura superficial se presenta antes que durante el verano (Pinto-Santini et al., 2022). Sin embargo, aunque la estación implica cambios de la concentración de testosterona, probablemente las diferencias reportadas en la acrofase de la temperatura superficial se explican por cambios en la temperatura ambiente de las estaciones más que por cambios en la concentración de testosterona.

Si bien la presencia de receptores de testosterona en el NSQ permite especular que este esteroide participa en la modulación del sistema circadiano, la mayor expresión de los mismos se presenta a nivel central del núcleo, lugar donde también convergen las señales fóticas (Yan et al., 2016), lo que pudiera limitar su acción o simplemente ser sinérgica con la sincronización impuesta por el ciclo luz:oscuridad. Lo anterior podría en parte explicar los pocos cambios presentados en los patrones de variación estudiados debidos a la administración de testosterona. Otra posible explicación, también asociada a los receptores, es que la edad de los corderos y haber sido castrados al nacer influyan sobre la expresión de los mismos, por lo que estuvieron poco expuestos a la acción de la testosterona. De acuerdo a lo reportado por Yan & Silver (2016), la presencia de receptores de testosterona en el núcleo supraquiasmático es dependiente de la propia concentración de testosterona. De hecho, la menor expresión de los receptores de andrógenos de los machos castrados en relación a los enteros (Yan et al., 2016) evidencia lo anteriormente dicho. Por consiguiente, es probable que se necesite un mayor tiempo de exposición a la hormona, ya sea mediante la abstención de la castración o la castración de los corderos en una etapa más avanzada de su desarrollo, con el fin de permitir que la misma, en caso de desempeñar un papel más activo en la modulación de los ritmos evaluados, pudiera expresarse.

8. CONCLUSIONES

La administración de ciclopentilpropionato de testosterona en corderos castrados al nacer solamente modificó el tiempo en que se presentó la acrofase del tiempo dedicado a comer cuando fue administrado en forma crónica, sin otros efectos en el patrón diario de actividades. La acrofase de la temperatura superficial ocurrió antes que la de la temperatura rectal. En general, los patrones de variación diarios evaluados fueron bastante rígidos, siendo poco afectados por la administración de ciclopentilpropionato de testosterona.

9. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

- Arnold, G. (1962). The influence of several factors in determining the grazing behavior of Border Leicester x Merino sheep. *Grass and Forage*, 17(1), 41-51.
- Aschoff, J. (1965). Circadian Rhythms in Man: A self-sustained oscillator with an inherent frequency underlies human 24-hour periodicity. *Science*, 148, 1427-1432.
- Buijs, J., Cox, R. F. A., van den Wildenberg, W. P. M., & van der Molen, M. W. (2019). Heart rate variability during feedback in young adults: The role of attention, valence, and expectancy. *International Journal of Psychophysiology*, 144, 1-8.
- Clarke, S., Clarke, L., Rao, A., Cowley, M., & Henry, B. (2012). Sex differences in the metabolic effects of testosterone in sheep. *Endocrinology*, 153, 123-131.
- Corbalan-Tutau, D., Madrid, J.A., Nicolas, F., & Garaulet, M. (2014). Daily profile in two circadian markers "melatonin and cortisol" and associations with metabolic syndrome components. *Physiology & Behavior*, 123, 231-235.
- Crossley, J. (1988). Termorregulación en especies domésticas, importancia productiva y clínica. *Monografías de Medicina Veterinaria*, 10(2), 3-11.
- Dobbins, A., Lubbers, L. S., Jackson, G. L., Kuehl, D. E., & Hileman, S. M. (2004). Neuropeptide Y gene expression in male sheep: influence of photoperiod and testosterone. *Neuroendocrinology*, 79(2), 82-89.
- Evans, J., & Silver, R. (2015). The suprachiasmatic nucleus and the circadian timekeeping system of the body. En D. W. Pfaff, N. D. & Volkow, J. L. Rubenstein (Eds.), *Neuroscience in the 21st Century* (pp. 2577-2625). New York: Springer.
- Fernández Carmona, J., Blas Ferrer, E., Cervera Fras, C., Fernández Martínez, C., Jóver Cerdá, M., & Pascual Amorós, J. (2017). *Datos sobre conducta y bienestar de animales en granja departamento de ciencia animal*. Valencia: Universitat politècnica Valencia.
- Fraser, A.F. (1980). Farm animal behavior and welfare. Ethology welfare and preventive medicine for livestock. *Frontiers in Veterinary Science*, 2, 16.
- Gentry, R. T., & Wade, G. N. (1976). Androgenic control of food intake and body weight in male rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 90(1), 18.
- George, W. D., Godfrey, R. W., Ketring, R. C., Vinson, M. C., & Willard, S. T. (2014). Relationship among eye and muzzle temperature measured using digital infrared thermal imaging and vaginal and rectal temperature in hair sheep and cattle. *Journal of Animal Science*, 92(11), 4949-4955.
- Gerpe, A. I. (2014). *Ritmos de actividad-inactividad de la oveja mallorquina* (Memoria de grado). Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca.

- Golombek D. (2007). Introducción. La Máquina del Tiempo. En *Cronobiología humana. Ritmos y relojes biológicos en la salud y en la enfermedad* (2ª ed., pp. 19-35). Buenos Aires: Universidad Nacional de Quilmes.
- Gordon, J. G., & McAllister, I. K. (1970). The circadian rhythm of rumination. *Journal of Agricultural Science*, 74(02), 291.
- Jones, R. D., Pugh, P. J., Jones, T. H., & Channer, K. S. (2003). The vasodilatory action of testosterone: a potassium-channel opening or a calcium antagonistic action? *British Journal of Pharmacology*, 138(5), 733-744.
- Justel, N., Bentosela, M., & Ruetti, E. (2010). Testosterona, emoción y cognición: Estudios en animales castrados. *Interdisciplinaria*, 257(2), 191-208.
- Kieltyka-Kurc, A., Rydel-Gigauri, J., & Gorecki, M. (2013). Circadian activity of dairy ewes kept indoors. *Annals of Animal Science*, 13(1), 55-62
- Ladera, A. (2009). *Control hormonal de la reproducción*. Lima: UCSS.
- Littell, R. C., Henry, P. R., & Ammerman, C. B. (1998). Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal of Animal Science*, 76(4), 1216-1231.
- Madrid, J.A., & Rol de Lama, M.A. (2006). *Cronobiología básica y clínica*. Madrid: Editec@Red, S.L.
- Maloney, S., Meyer, L., Blache, D., & Fuller, A. (2013). Energy intake and circadian rhythm of core body temperature in sheep. *Physiological Reports*, 1(5), e00118.
- Migliaro, A. (2018). *Modulación ambiental y hormonal del ritmo circadiano de la conducta eléctrica* (Tesis de doctorado). Facultad de Ciencias, UDELAR, Montevideo.
- Pérez-León, J. A., & Brown, R. L. (2009). Las células con melanopsina: nuevos fotorreceptores en la retina de los vertebrados. *Revista de Educación Bioquímica*, 28(1), 9-18.
- Piccione, G., Caola, G., & Refinetti, R. (2007). Circadian rhythmicity of body temperature in the horse. *Biological Rhythm Research*, 33(1), 113-119.
- Piccione, G., Caola, G., & Refinetti, R. (2011). Circadian rhythms of body temperature and liver function in fed and food-deprived goats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 134(3), 563-572.
- Piccione, G., Giannetto, C., Caola, G., & Casella, S. (2010). Daily locomotor activity in five domestic animals. *Animal Biology*, 60(1), 15-24.
- Piccione, G., Giannetto, C., Casella, S., & Caola, G. (2008). Circadian Activity Rhythm in Sheep and Goats Housed in Stable Conditions. *Folia Biologica*, 56(3), 133-137.

- Piccione, G., & Refinetti, R. (2003). Thermal chronobiology of domestic animals. *Frontiers in Bioscience*, 8, 258-264.
- Pinto-Santini, L., & Ungerfeld, R. (2019). The phase of the estrous cycle modifies the endocrine, metabolic and behavior rhythms in ewes. *Physiology & Behavior*, 15, 324-335.
- Pinto-Santini, L., Pérez-Clariget, R., & Ungerfeld, R. (2021). Daily variation of the cortisol and insulin concentration, glycemia, surface temperature, and behavior patterns due the administration of equine Chorionic Gonadotropin in rams. *Domestic Animal Endocrinology*, 78, 106688.
- Pinto-Santini, L., Pérez-Clariget, R., & Ungerfeld, R. (2022). Does the metabolic and behavior daily variation pattern on rams differ in summer and winter?. *Biological Rhythm Research*, 54(2), 213-231.
- Refinetti, R., (2010). The circadian rhythm of body temperature. *Frontiers in Bioscience*, 15, 564-594.
- Refinetti, R. (2016). *Circadian physiology* (3^a ed.). Boca Ratón: CRC.
- Refinetti, R. (2020). Circadian rhythmicity of body temperature and metabolism. *Temperature*, 7(4), 321-362.
- Rosa, H. J., Juniper, D., & Bryant, M. (2000). The effect of exposure to oestrous ewes on rams' sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Applied Animal Behaviour Science*, 67(4), 293-305. doi:10.1016/s0168-1591(00)00086-1
- Sabater Gárrix, A. (2019). *Parámetros circadianos del ritmo sueño vigilia en adultos con parálisis cerebral y su relación con los hábitos de vida: estudio piloto* (Memoria de maestría). Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca.
- Someren, V. (2011). *Handbook of the Biology of Aging* (7^a ed.). Cambridge: Academic Press.
- Ternman, E. (2014). *Sleep in Dairy Cows* (Tesis doctoral). Faculty of Veterinary, Uppsala.
- Ungerfeld, R., Clemente, N., & Orihuela, A. (2018). Treatments with eCG and courtship behavior in rams during the breeding and the non-breeding seasons. *Animal Production*, 59(5), 865-869.
- Ungerfeld, R., & Lacuesta, L. (2015). Competition between different social ranked rams has similar effects on testosterone and sexual behavior throughout the year. *Reproduction in Domestic Animals*, 50, 1022-1027.
- Webb, I.C., Antle, M.C., & Mistlberger, R.E. (2014). Regulation of circadian rhythms in mammals by behavioral arousal. *Behavioral Neuroscience*, 128, 304-325.

Yan, L., & Silver, R. (2016). Neuroendocrine underpinnings of sex differences in circadian timing systems. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 160, 118-126. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.10.007>