



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**CARACTERIZACIÓN DE LOS RITMOS  
CIRCADIANOS DE ACTIVIDADES  
LOCOMOTRIZ DE RATONES MEDIANTE  
UNA TÉCNICA NO PARAMÉTRICA BASADA  
EN ANÁLISIS ESPECTRAL SINGULAR**

**TESIS**

Que para obtener el título de  
**Ingeniero Eléctrico Electrónico**

**P R E S E N T A**

Iván Oliver Domínguez

**DIRECTORA DE TESIS**

Dra. Karina Mendoza Ángeles



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2018

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres y a mi hermano por todo el apoyo que me brindan, ustedes siempre serán mi gran ejemplo a seguir.

A mis abuelitos paternos por toda la ayuda durante todos los años que he estado con ellos y a mis abuelitos maternos por ser grandes ejemplos de vida.

Al laboratorio de Redes Neuronales de la Facultad de Medicina, especialmente al Dr. Jesús Hernández Falcón por todo el apoyo para la realización de este proyecto.

Al Dr. Julio Rojas Castañeda del laboratorio de biología de la reproducción en el Instituto Nacional de Pediatría por facilitarnos el acceso a las instalaciones en la cuales se realizaron los registros.

A la Dra. Karina Mendoza Ángeles por permitirme ser tu ayudante en mate, aceptar ser la directora de tesis y por toda la asesoría para terminar este trabajo.

A la Dra. Elizabeth Ibarra Coronado por ser la mejor tutora del mundo, por permitirme trabajar en este proyecto y por la ayuda que me brindaste siempre.

Finalmente a todos mis compañeros revolucionarios de laboratorio que apoyaron en la realización de este trabajo, Dra. Mireya, Dr. Irving, Laura, Zarahi y Ribe muchas gracias por todo.

Para la realización del presente proyecto, se agradece el apoyo financiero del donativo PEI-91/2013 obtenido del Programa de Estímulos a la Innovación, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

## ÍNDICE

<b>1. Antecedentes</b>	1
1.1. Ritmos circadianos	1
1.2. Ritmos circadianos en ratones	3
1.3. Análisis de los ritmos circadianos	4
1.3.1. Actograma	5
1.3.2. Periodograma	6
1.3.3. Cosinor	9
1.3.4. Análisis espectral singular	9
1.4. Ritmos circadianos en el Trastorno del Espectro Autista	16
<b>2. Planteamiento del problema</b>	17
<b>3. Objetivo</b>	18
<b>4. Diseño Experimental</b>	19
<b>5. Material y Métodos</b>	22
5.1. Material biológico	22
5.2. Obtención de registros de actividad locomotriz	22
5.3. Análisis de los registros de actividad locomotriz	26
<b>6. Resultados</b>	27
6.1. Análisis del ritmo circadiano de actividad locomotriz	27
<b>7. Conclusiones</b>	39
<b>8. Referencias</b>	40
<b>9. Anexos</b>	43

# 1. ANTECEDENTES

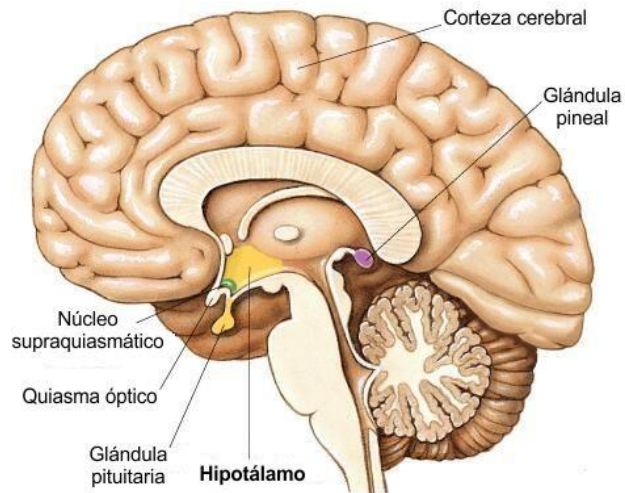
## 1.1. Ritmos circadianos

Un ritmo es una serie de movimientos, acontecimientos, sonidos, que se presentan periódicamente en un determinado intervalo de tiempo. En la naturaleza se observan diversos ritmos biológicos que pueden ser clasificados con base en su periodicidad. Si se caracterizan por una oscilación menor a 24 horas, se denominan ultradianos (ingesta de alimento); aquellos con una regularidad cercana a un día, circadianos (ciclo sueño-vigilia); mientras que si su periodicidad es mayor a 24 horas, infradianos (ciclo menstrual) **(Berger, 2004)**.

Los ritmos cercanos a 24 horas son regulados por el reloj circadiano el cual está integrado por tres componentes principales: vías de señalización de entrada (aférentes), un oscilador central y vías de señalización de salida (eferentes) **(Fuhr y cols., 2015)**.

Las vías de señalización aférentes reciben y transmiten estímulos del medio externo hacia el oscilador central. Estas señales, llamadas sincronizadores (*zeitgebers*), modulan las variaciones del oscilador central con el ciclo solar día-noche. La luz es el sincronizador más fuerte, aunque existen otras señales que funcionan como sincronizadores con menor intensidad, como son la temperatura, el ruido, la comida, el ejercicio y la concentración de melatonina **(Lowrey y Takahashi, 2011)**.

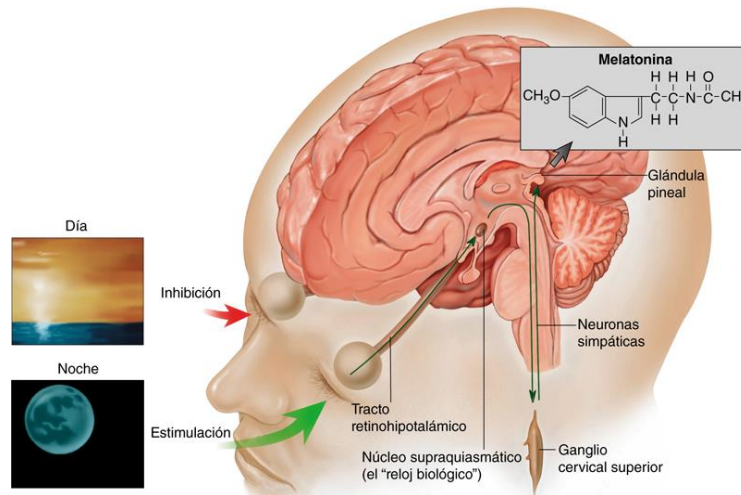
El oscilador central es el núcleo supraquiasmático (NSQ) **(Bollinger y Schibler, 2014)**, que en humanos se localiza bilateralmente en el hipotálamo "encima" del quiasma óptico **(Figura 1.1)**.



**Figura 1.1. Ubicación del núcleo supraquiasmático (en verde) en un corte sagital del cerebro (Recuperada de <https://blog.cognifit.com/es/hipotalamo/>)**

Las vías de señalización eferentes transmiten las señales del oscilador central hacia los osciladores periféricos que están presentes en la mayoría de las células y regulan diversos procesos bioquímicos y metabólicos **(Cuninkova y Brown, 2008)**.

La sincronización del reloj circadiano **(Figura 1.2)** inicia cuando las células de la retina, que reciben las señales luminosas del medio externo, transmiten la información al NSQ a través del tracto retino-hipotalámico. Después de la recepción del estímulo luminoso, el oscilador central manda señales a través del ganglio cervical superior a la glándula pineal, la cual produce y mantiene el ritmo de secreción de melatonina **(Meijer y Schwartz, 2003)**.



**Figura 1.2. Esquema del tracto retino-hipotalámico (Raff y cols., 2013).**

Para que un ritmo pueda ser considerado como circadiano debe tener ciertas características, entre las que se destacan ser endógeno, es decir, el ritmo circadiano "persiste" incluso en ausencia de entradas ambientales; es capaz de sincronizarse, ya que el oscilador puede reiniciarse mediante la exposición a diferentes señales de entrada; y es capaz de transmitir una señal de tiempo a los osciladores periféricos y restablecerlos al sincronizador predominante (Roenneberg y cols., 2013).

### 1.2. Ritmos circadianos en ratones

Los ratones son un modelo particularmente útil para estudiar la ritmicidad circadiana debido a que su reloj circadiano es análogo al de los humanos (Aguilar-Robledo y cols., 2004) y además tienen marcados perfectamente sus ritmos de actividad locomotriz durante las 24 horas del día, por lo cual su ciclo circadiano está bien caracterizado y es parecido a lo reportado en humanos (ciclo sueño-vigilia). En los ratones, en la fase diurna (12 horas) se presenta una actividad reducida que se hace significativamente mayor durante la fase nocturna (12 horas), esta propiedad se mantiene en condiciones de oscuridad constante, cuando su reloj circadiano endógeno dicta el comportamiento del ratón. Además sus ritmos circadianos son reproducibles bajo condiciones controladas de luz, oscuridad, temperatura, humedad, ruido (Eckel-Mahan y Sassone-Corsi, 2013).

Específicamente, se ha caracterizado el ritmo de actividad de la cepa C57/Bl6, el cual presenta todas las características descritas anteriormente, y se ha reportado que tiene una duración cercana a las 24 horas en promedio y que está formado por dos componentes, denominados como “morning” y “evening” (Adamah-Biassi y cols., 2013; Stewart y cols., 2006; Jagota y cols., 2000). Para explicar este fenómeno se ha propuesto un modelo de dos osciladores circadianos separados, pero mutuamente acoplados, compuestos por un oscilador vespertino, que impulsa el inicio de la actividad y un oscilador matutino, que conduce al final de actividad (Inagaki y cols., 2007).

### 1.3. Análisis de los ritmos circadianos

La finalidad del análisis de los ritmos circadianos es conocer las características de una oscilación, tales como: forma de onda, periodo, amplitud y fase (Figura 1.3). La forma de onda puede ser vista como la desviación de la forma respecto a una onda sinusoidal pura; el periodo es la duración de un ciclo completo, es decir, el intervalo entre dos puntos de referencia; la amplitud se define como la diferencia entre el valor máximo (acrofase) y el valor medio (mesor); por último, la fase es el tiempo estimado de la ocurrencia para un punto dado. Cuando un sistema oscilante contiene más de una señal, otra característica importante es la relación de fase que se define como la diferencia de fase de ambas señales, si una es la fase de referencia, cuando la fase de la otra variable ocurre antes es un adelanto de fase y si ocurre después es un retraso de fase (Minors y Waterhouse, 1988).

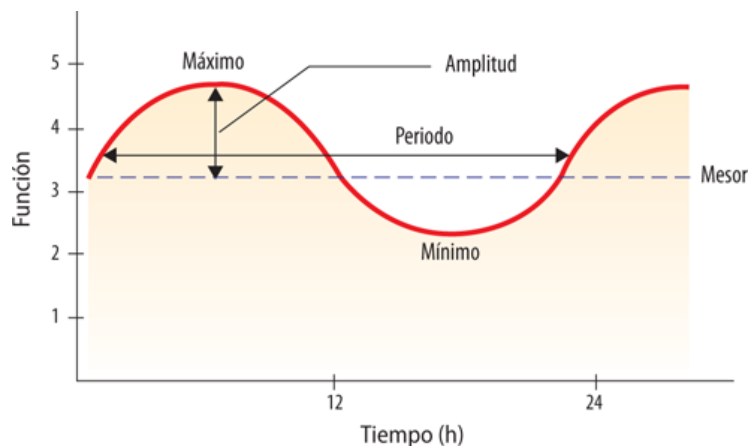
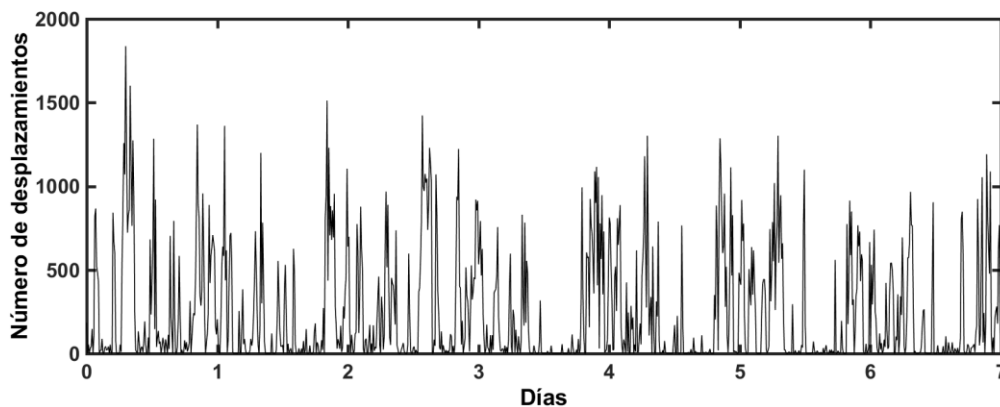


Figura 1.3. Esquema de las características principales de una oscilación (Tresguerres y cols., 2010).

Para caracterizar al oscilador que genera un ritmo, el cambio cíclico que se observe debe ser medible, y debido a que este cambio es continuo, se debe obtener una secuencia de eventos o números, que representen el comportamiento del cambio cíclico. Esto se logra muestreando las variables de interés, a la secuencia obtenida se le llama serie de tiempo (Enright, 1965).

Cuando se obtiene la serie de tiempo, un primer acercamiento para observar el comportamiento del ciclo, es realizar una representación gráfica en la cual, en el eje de las abscisas se encuentra el tiempo y en el eje de las ordenadas, la amplitud (Figura 1.4).



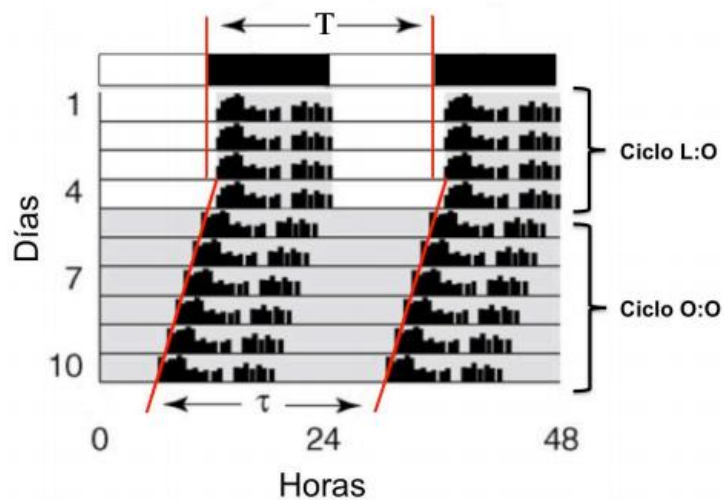
**Figura 1.4. Actividad locomotriz de un ratón durante 7 días.**

### 1.3.1. Actograma

Una de las formas más comunes de representar una serie de tiempo para identificar si se presenta un ritmo es el actograma, esta gráfica es la forma más utilizada para examinar los datos de actividad, pues permite estimar el periodo de la señal, al mismo tiempo que describe otras características de la conducta relacionadas a la sincronización como el inicio de actividad.

El actograma consiste en el ordenamiento consecutivo de gráficas de ocurrencia de eventos mediante una técnica llamada double-plot que, a partir de la captura de datos, efectuada durante un periodo  $T$ , a intervalos constantes, se agrupan en  $n$  subintervalos y se escalan para construir una gráfica de  $n$  barras, donde  $n$  es el número de intervalos definidos en  $T$  (Figura 1.5) (Kohsaka y cols., 2007).



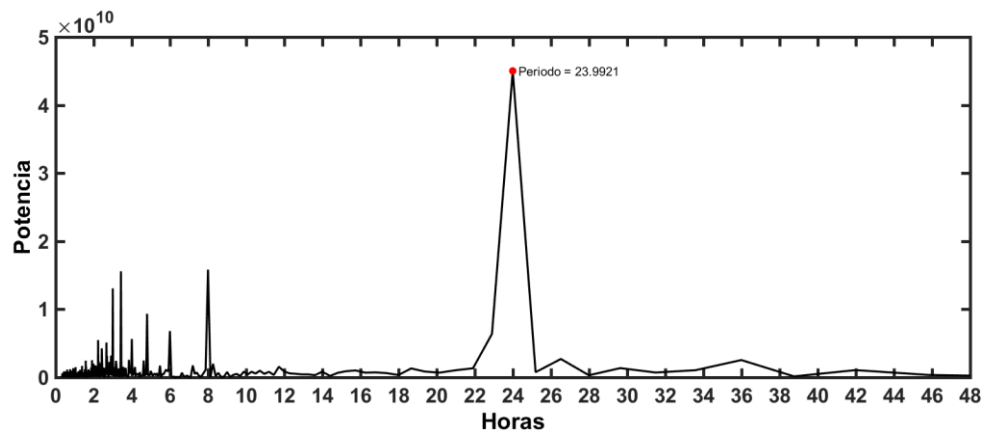


**Figura 1.5. Actograma de la actividad locomotriz de un ratón durante 10 días. Los primeros cuatro días en un ciclo de luz-oscuridad y los últimos seis en oscuridad constante. Las líneas rojas representan el inicio de actividad (Modificada de Kohsaka y Bass, 2007).**

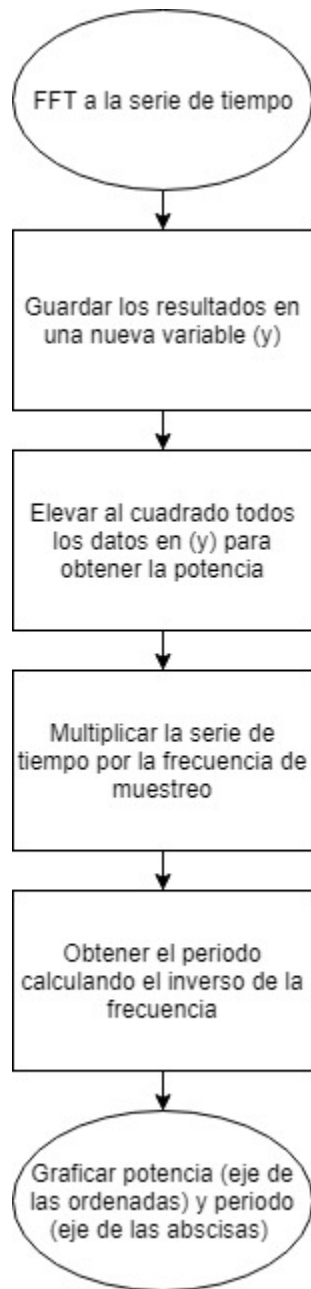
### 1.3.2. Periodograma

El periodograma es una técnica matemática que permite estimar el periodo de los componentes responsables de la oscilación de un fenómeno (**Figura 1.6**).

Existen diversos procedimientos para la obtención del periodograma, entre los cuales se encuentra el basado en la transformada rápida de Fourier (TRF). Dicho método consiste en aplicar la TRF a la serie de tiempo, los resultados se elevan al cuadrado para calcular la potencia. Para obtener el periodo, se calcula el inverso de la frecuencia (**Figura 1.7**) (**Welch, 1967**).



**Figura 1.6. Periodograma de la actividad locomotriz de un ratón registrado durante una semana.**



**Figura 1.7. Esquema para la obtención del periodograma mediante FFT.**

### 1.3.3. Cosinor

Uno de los métodos más utilizados para el análisis de los ritmos circadianos es cosinor, el cual parte de un ajuste por mínimos cuadrados para determinar la función de mejor aproximación cosenoidal a la serie de tiempo (Cornelissen, 2014). Se utiliza el siguiente modelo:

$$f(t) = M + A \cos(\omega t + \phi) \quad \text{Ec. 1.1}$$

donde  $t$  es tiempo,  $\phi$  acrofase,  $A$  amplitud,  $\omega$  frecuencia angular y  $M$  mesor.

El método de cosinor se puede usar iterativamente con diferentes valores de prueba, de tal forma que se pueden estimar los parámetros de la ecuación 1.1.

Los valores estimados de los parámetros son expresados comúnmente en gráficas para su visualización (Figura 1.8).

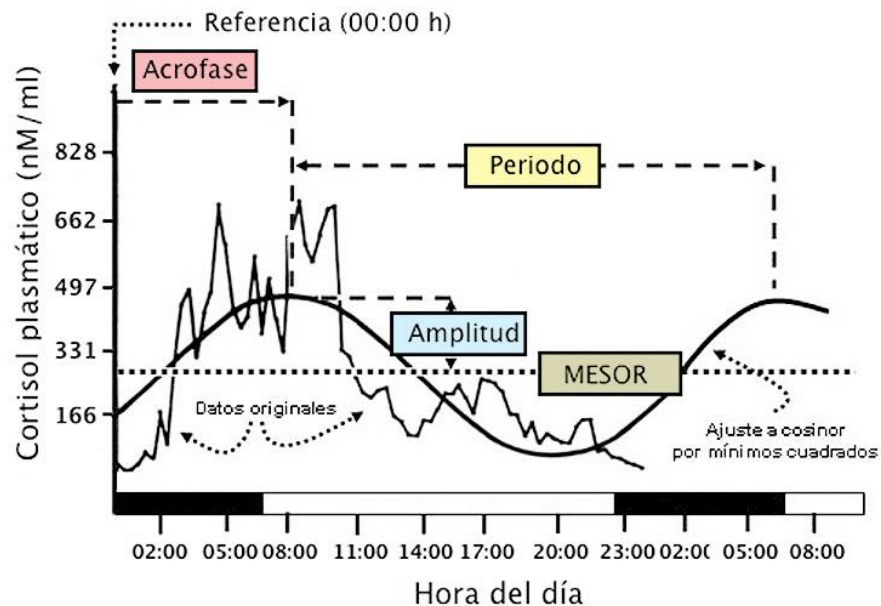


Figura 1.8. Gráfica del método de cosinor (Modificada de Tuitou y Haus, 1994).

### 1.3.4. Análisis espectral singular

El análisis espectral singular (SSA, por sus siglas en inglés), es una técnica de análisis de series de tiempo que incorpora elementos del análisis clásico, geometría multivariante, sistemas dinámicos y procesamiento de señales (Hassani, 2007).

El propósito principal del SSA es descomponer la serie original en una suma de series, de modo que cada componente en esta suma pueda ser identificado como un componente de tendencia, oscilaciones periódicas o ruido. Esto es seguido por una reconstrucción de la serie original.

El análisis espectral singular es una herramienta que se puede utilizar para resolver los siguientes problemas en el análisis de los ritmos circadianos: 1) encontrar tendencias de resolución diferente; 2) extracción de componentes de estacionalidad; 3) extracción simultánea de ciclos con períodos pequeños y grandes; 4) extracción de periodicidades con amplitudes variables; y 5) detección de punto de cambio.

La técnica del SSA consta de dos etapas complementarias: descomposición y reconstrucción, y ambas incluyen dos pasos.

El primer paso en la etapa de descomposición, es el encaje o inmersión (embedding en inglés).

El encaje puede considerarse como un mapeo que transfiere una serie de tiempo unidimensional:

$$Y_T = (y_1, \dots, y_T) \quad \text{Ec. 1.2}$$

a la serie multidimensional:

$$X_1, \dots, X_K \quad \text{Ec. 1.3}$$

con vectores:

$$X_i = (y_i, \dots, y_{i+L-1})^t \quad \text{Ec.1.4}$$

donde:

$$K = N - L + 1 \quad \text{Ec. 1.5}$$

El único parámetro del encaje es la longitud de la ventana  $L$ , un número entero tal que  $2 \leq L \leq T$ .  $N$  es la longitud de la serie de tiempo (número total de muestras).

El resultado de este paso es la matriz de trayectoria  $X$  (**Figura 1.9**):

$$\mathbf{X} = [\mathbf{x}_1 \cdots \mathbf{x}_K] = \begin{bmatrix} x_1 & x_2 & x_3 & \cdots & x_K \\ x_2 & x_3 & x_4 & \cdots & x_{K+1} \\ x_3 & x_4 & x_5 & \cdots & x_{K+2} \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots \\ x_L & x_{L+1} & x_{L+2} & \cdots & x_{L+K-1} \end{bmatrix}$$

**Figura 1.9. Matriz de trayectoria en el SSA resultado del encaje (Götz y cols., 2017).**

El segundo paso es la descomposición de valores singulares (SVD por sus siglas en inglés).

La SVD hace la descomposición de la matriz de trayectoria  $X$  y la representa como una suma de matrices elementales.

Si:

$$\lambda_1, \dots, \lambda_L \quad \text{Ec. 1.6}$$

son los valores propios de:

$$XX^t \quad \text{Ec. 1.7}$$

en orden decreciente de magnitud:

$$(\lambda_1 \geq \dots \geq \lambda_L \geq 0) \quad \text{Ec. 1.8}$$

y:

$$U_1, \dots, U_L \quad \text{Ec. 1.9}$$

es el sistema ortonormal, es decir:

$$(U_i, U_j) = 0 \text{ para } i \neq j \quad \text{Ec. 1.10}$$

y:

$$|U_i| = 1 \quad \text{Ec. 1.11}$$

de los vectores propios de la matriz  $XX^t$  correspondiente a estos valores propios  $(\lambda_1, \dots, \lambda_L)$ .

Entonces:

$$(U_i, U_j) \quad \text{Ec. 1.12}$$

es el producto interno de los vectores  $U_i$  y  $U_j$ .

y:

$$|U_i| \quad \text{Ec. 1.13}$$

es el módulo del vector  $U_i$ .

Se puede establecer que  $d$  es el máximo valor de  $i$ , tal que  $\lambda_i > 0$ .

De tal manera que:

$$d = \text{rango de } X \quad \text{Ec. 1.14}$$

Si

$$V_i = X^t U_i / \sqrt{\lambda_i} \quad \text{Ec. 1.15}$$

Entonces la SVD de la matriz de trayectoria puede ser escrita como:

$$X = X_1 + \dots + X_d \quad \text{Ec. 1.16}$$

donde:

$$X_i = \sqrt{\lambda_i} U_i V_i^t, (i = 1, \dots, d) \quad \text{Ec. 1.17}$$

Las matrices  $X_i$  tienen rango 1; por lo tanto, son matrices elementales,  $U_i$  (que se denominan funciones ortogonales empíricas de factores) y  $V_i$  (que se conocen como componentes principales) representan los vectores propios izquierdo y derecho de la matriz de trayectoria; mientras que  $\sqrt{\lambda_i}$ , ( $i = 1, \dots, d$ ) son los valores singulares de la matriz  $X$  y el conjunto  $\{\sqrt{\lambda_i}\}$  se llama el espectro de la matriz  $X$ .

El primer paso en la etapa de reconstrucción, la segunda etapa del SSA, es el agrupamiento.

En el agrupamiento, las matrices elementales  $X_i$  se dividen en varios grupos y se suman las matrices dentro de cada grupo.

Si:

$$I = \{i_1, \dots, i_p\} \quad \text{Ec. 1.18}$$

es un conjunto de índices:

$$i_1, \dots, i_p \quad \text{Ec. 1.19}$$

Entonces la matriz  $X_I$  correspondiente al conjunto  $I$  se define como:

$$X_I = X_{i_1} + \dots + X_{i_p} \quad \text{Ec. 1.20}$$

$Y$ , el conjunto de índices:

$$J = 1, \dots, d \quad \text{Ec. 1.21}$$

en los subconjuntos que no tienen elementos en común

$$I_1, \dots, I_m \quad \text{Ec. 1.22}$$

corresponde a la representación:

$$X = X_{I_1} + \dots + X_{I_m} \quad \text{Ec. 1.23}$$

Para cualquier conjunto  $I$ , la contribución del componente  $X_i$  se mide por la participación de los valores propios correspondientes, mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{\sum_{i \in I} \lambda_i}{\sum_{i=1}^d \lambda_i} \quad \text{Ec. 1.24}$$

El último paso del SSA es el promedio de diagonales, el cual transfiere cada matriz  $I$ , a una serie de tiempo, que es un componente aditivo de la serie inicial  $Y_T$ .

Si  $z_{ij}$  representa un elemento de una matriz  $Z$ , entonces el  $k$ -ésimo término de la serie resultante se obtiene promediando  $z_{ij}$  para toda  $i, j$  tal que  $i + j = k + 2$ . Este procedimiento se denomina promediado diagonal o *Hankelization* de la matriz  $Z$ .

El resultado del promedio de diagonales de una matriz  $Z$ , es la matriz de Hankel  $HZ$ , que es la matriz de trayectoria correspondiente a la serie obtenida como resultado del promedio diagonal.



La matriz Hankel HZ define de forma única la serie relacionando el valor en las diagonales con los valores de la serie. Al aplicar el procedimiento de promedio de diagonales a todos los componentes de la matriz obtenemos:

$$X = \dot{X}_{I1} + \dots + \dot{X}_{Im} \quad \text{Ec. 1.25}$$

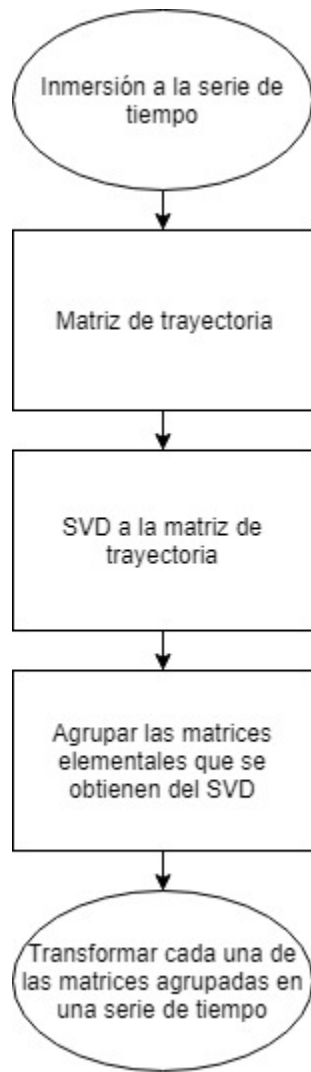
donde:

$$\dot{X}_{I1} = HZ \quad \text{Ec. 1.26}$$

Esto es equivalente a la descomposición de la serie inicial  $Y_T=(y_1, \dots, Y_T)$  en una suma de m series:

$$Y_t = \sum_{k=1}^m \dot{y}_t^{(k)} \quad \text{Ec. 1.27}$$

El análisis de series de tiempo mediante SSA, se puede resumir en tres pasos (**Fossion y cols., 2017**). 1) La serie temporal se transforma en una matriz que representa el espacio de fase subyacente de la serie de tiempo (matriz de trayectoria), 2) La descomposición de valores singulares (SVD) se aplica para descomponer dicha matriz como una suma de matrices elementales, para descomponer el espacio fase original en una superposición de "espacios de subespacios", y 3) Cada una de las matrices elementales o "espacios de subespacios" se transforma de nuevo en un componente de la serie de tiempo (**Figura 1.10**).



**Figura 1.10. Esquema de los pasos del análisis espectral singular.**

#### **1.4. Ritmos circadianos en el Trastorno del Espectro Autista**

El autismo fue descrito inicialmente por Kanner en 1943 como una falta congénita de interés en la interacción con otras personas **(Kanner, 1968)**. La American Psychiatric Association incluye al autismo dentro de los trastornos generalizados del desarrollo (TGD), los cuales son definidos como un conjunto de alteraciones neuropsicológicas graves, generalizadas y heterogéneas presentes a lo largo del desarrollo de un individuo. Según el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales en su quinta edición (DSM-5), las manifestaciones del Trastorno del Espectro Autista (TEA) afectan principalmente a tres componentes importantes del desarrollo: 1) Las habilidades relacionadas con la interacción social, expresadas principalmente por un déficit en la comunicación social; 2) Las habilidades del lenguaje y de comunicación y; 3) los intereses, comportamientos y actividades que se muestran repetitivos, restringidos y estereotipados. Estas alteraciones frecuentemente están acompañadas por retraso mental, modificaciones en la percepción de los sentidos y retraso o ausencia del lenguaje, dichos síntomas son presentes desde la primera infancia y dificultan la actividad cotidiana del individuo **(DSM-V, 2013)**.

Diversos trastornos presentes en el TEA pueden estar ligados a la alteración de la regulación del ciclo circadiano, entre los más comunes se encuentran los trastornos de sueño, que se manifiestan por la presencia de despertares nocturnos y retraso en el inicio del sueño **(Richdale y Schreck, 2009; Johnson y Malow, 2008)**.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para el estudio y comprensión del TEA se han utilizado modelos murinos, entre ellos la cepa c58/j, la cual reproduce algunas de las principales características conductuales del autismo de forma espontánea desde etapas tempranas **(Moy y cols., 2009)**.

La cepa c58/j se ha validado para el estudio de conductas repetitivas características de este trastorno **(Muehlmann y cols., 2012)**, sin embargo, respecto a los trastornos de sueño y de ritmos circadianos, existe muy poca información, de hecho, no se conoce la expresión de sus ritmos circadianos o su regulación a través del NSQ y si pudiera tener alteraciones similares a las reportadas en humanos.

### **3. OBJETIVO**

El objetivo de este proyecto fue caracterizar el ritmo circadiano de la actividad locomotriz de las cepas de ratones c58/j y c57/Bl6, mediante un algoritmo basado en análisis espectral singular con la finalidad de identificar, si las hubiera, diferencias en el ritmo entre las dos cepas.

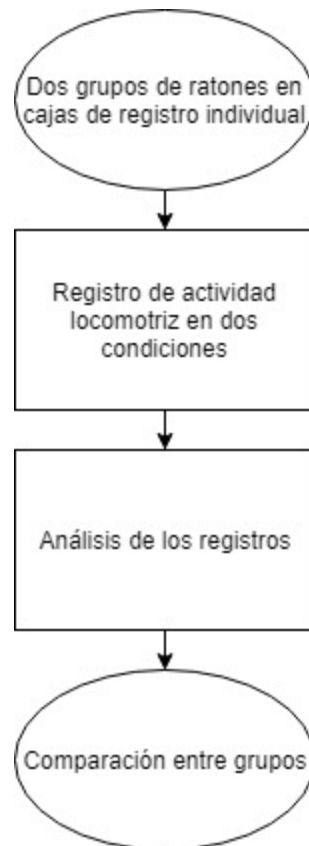
#### 4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para cumplir el objetivo propuesto, se desarrolló el trabajo experimental de la siguiente manera (**Figura 4.1**):

Se utilizaron 8 ratones c57/Bl6 como control y 8 ratones de la cepa C58/j para la realización del proyecto. Se llevaron a cabo registros de actividad locomotriz en dos diferentes condiciones: 1) en ciclo 12:12, es decir, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad; y 2) en oscuridad constante. En ambas condiciones los ratones fueron evaluados individualmente en cajas de registro (**Figuras 4.2 y 4.3**).

Los registros tuvieron una duración de tres semanas continuas para cada condición establecida.

Una vez obtenidos los registros de actividad locomotriz en las tres condiciones, fueron analizados mediante gráficas de actividad, periodograma basado en TRF, cosinor y análisis espectral singular.



**Figura 4.1. Diseño experimental.**



**Figura 4.2. Estante con las cajas de registro individuales.**



**Figura 4.3. Caja de registro individual.**

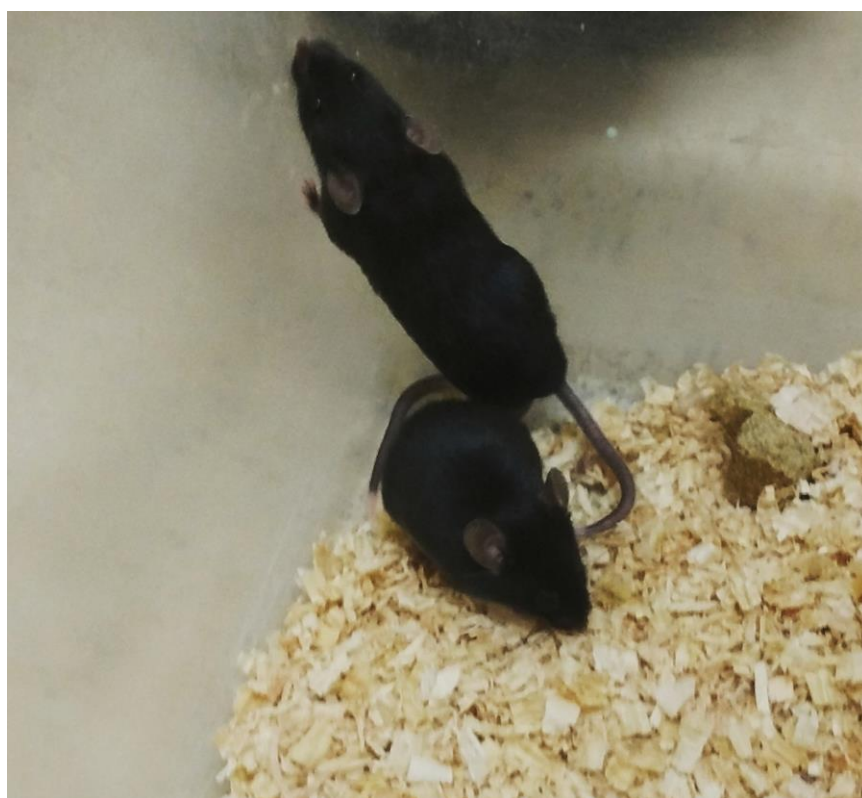


## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1. Material biológico

Los experimentos se realizaron en ratones macho adultos de la cepas c58/j (**Figura 5.1**) y c57/Bl6, se utilizó una n=8 por grupo. Toda la manipulación se realizó con estricto apego a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) y a la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals editado por The National Academies, 8a Ed.

El presente proyecto ha sido aprobado por la comisiones de ética e Investigación de la Facultad de Medicina, UNAM.

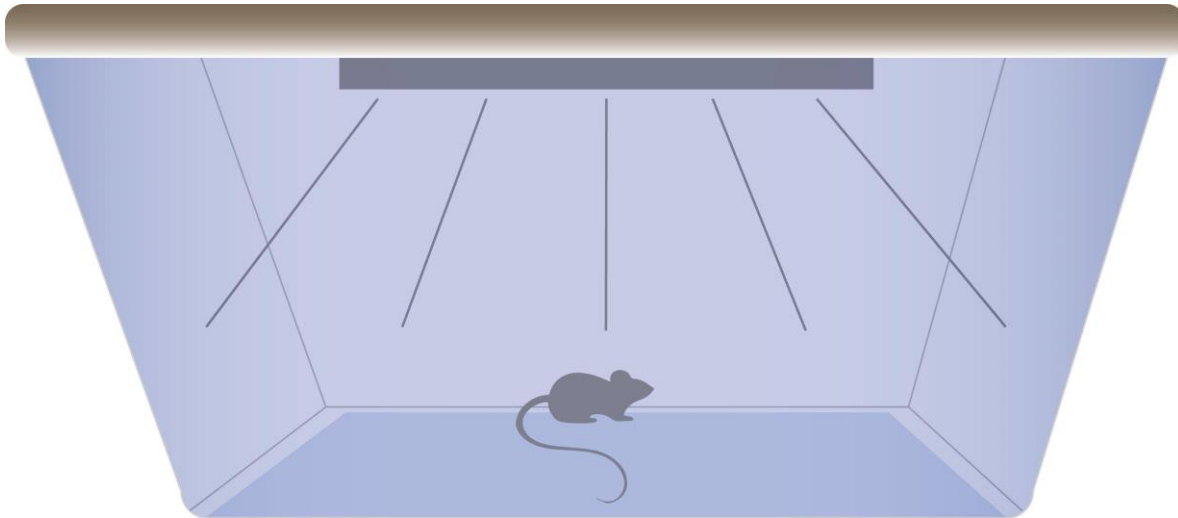


**Figura 5.1. Ratones de la cepa c58/j.**

### 5.2. Obtención de registros de actividad locomotriz

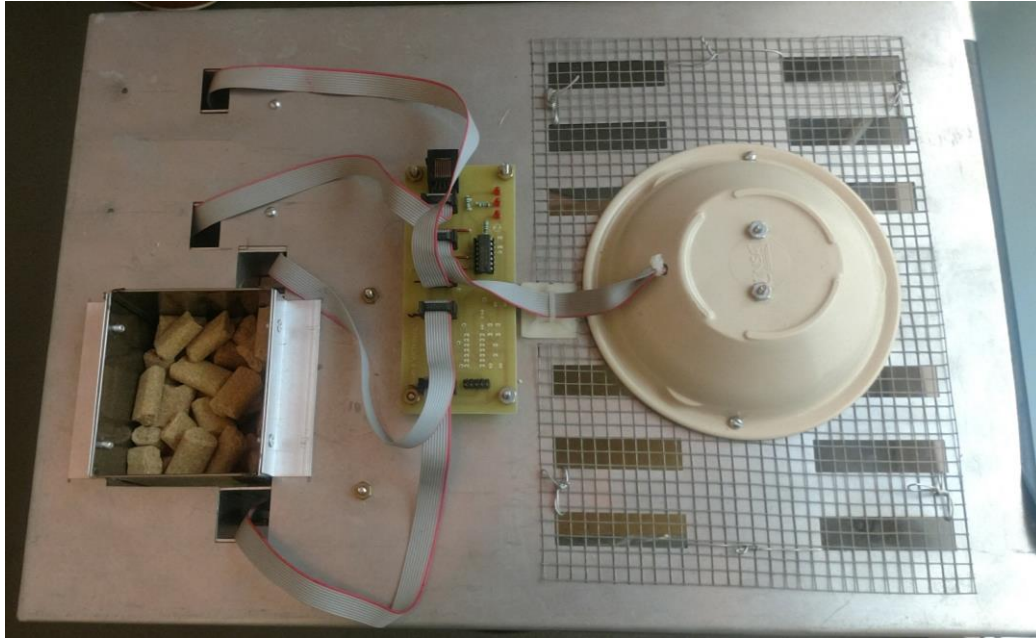
Los datos de la actividad locomotriz fueron adquiridos con el sistema de registro OA\_SPAD ubicado en la Torre de Investigación del Instituto Nacional de Pediatría.

Dicha actividad fue registrada mediante un sensor infrarrojo pasivo (PIR por sus siglas en inglés), el cual detecta cambios en la posición del cuerpo de los roedores (fuente de infrarrojo) dentro de su área de detección (**Figura 5.2**).



**Figura 5.2. Esquema de localización del sensor para el registro de actividad locomotriz.**

Cada ratón fue registrado en una caja independiente la cual contaba con su sensor respectivo (**Figuras 5.3 y 5.4**).



**Figura 5.3. Caja de registro vista desde arriba. El sensor se encuentra del lado derecho.**



**Figura 5.4. Tapa de la caja de registro vista desde abajo. El sensor se encuentra en la parte de arriba.**

El equipo está configurado para adquirir los eventos correspondientes al número de períodos de 250 ms en que el sensor PIR detecta un cambio de posición del ratón (se requiere un desplazamiento de al menos seis centímetros cuadrados del cuerpo del roedor para que el sensor se active).

El número de eventos fue agrupado en períodos de un minuto para ser almacenados en un archivo de texto para su posterior visualización y análisis.

La señal de los sensores fue digitalizada y adquirida mediante la interfaz electrónica del sistema, esos datos fueron transmitidos a una computadora para su almacenamiento y visualización mediante Matlab.

### **5.3. Análisis de los registros de actividad locomotriz**

Los registros se analizaron usando algoritmos desarrollados en el programa Matlab. Se realizó un estudio del periodo por distintos métodos: periodograma, cosinor y análisis espectral singular, para identificar la dinámica de la actividad locomotriz y compararla en las dos condiciones entre ambas cepas.

Una parte importante en el desarrollo de este trabajo fue el uso de un algoritmo para el estudio de los ritmos circadianos basado en análisis espectral singular como una mejor aproximación al periodo de los mismos, para el cual se utilizó un valor de ventana "L" de 24 horas para todas las condiciones.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Análisis del ritmo circadiano de actividad locomotriz

Se analizaron las series de tiempo obtenidas a partir de las diferentes condiciones de luz-oscuridad primero en 12:12 (condición 1) y posteriormente en oscuridad constante (condición 2) y se construyeron gráficas de actividad locomotriz (eje de las ordenadas) contra tiempo, en este caso en días (eje de las abscisas) (**Figura 6.1**).

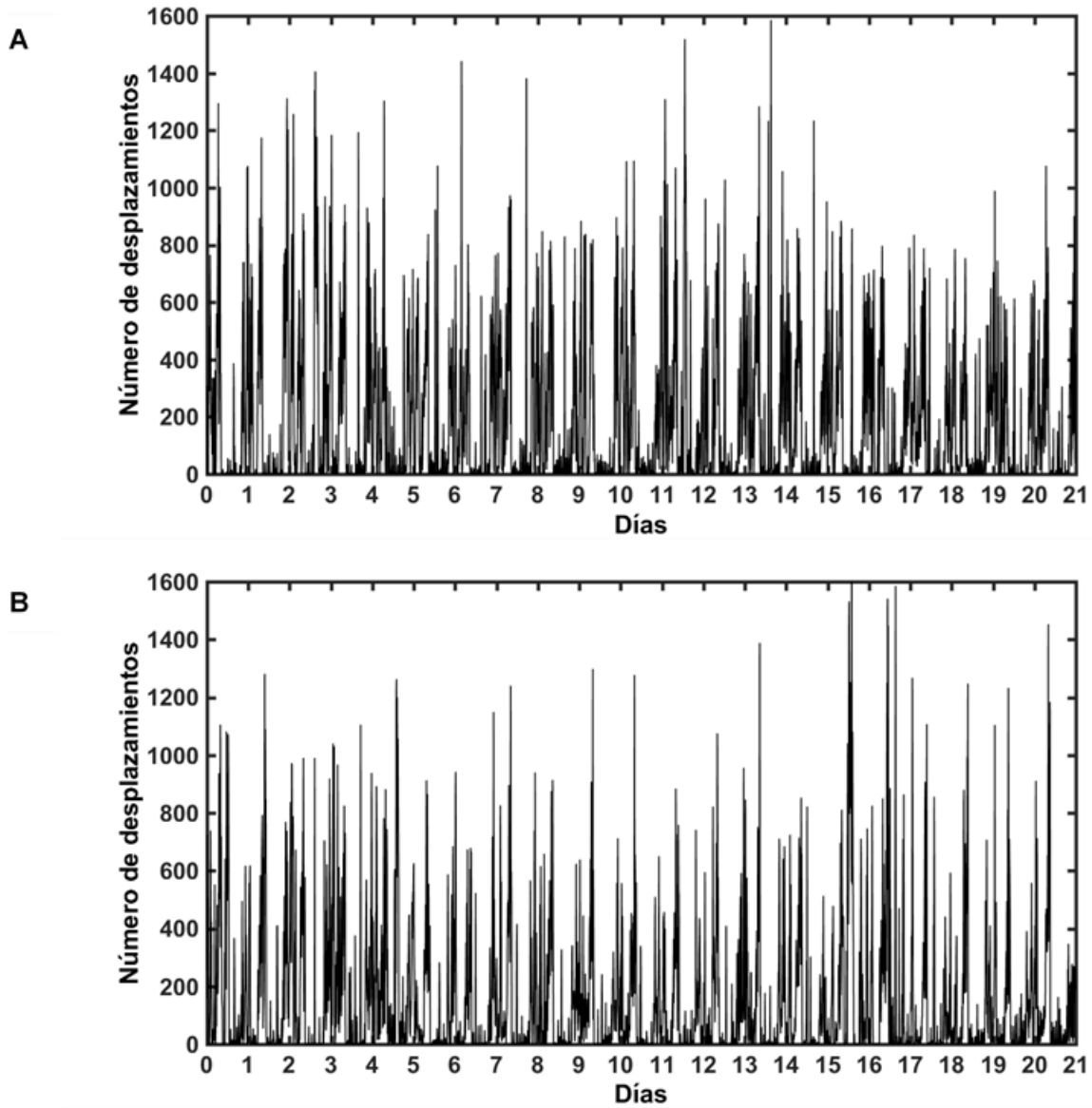


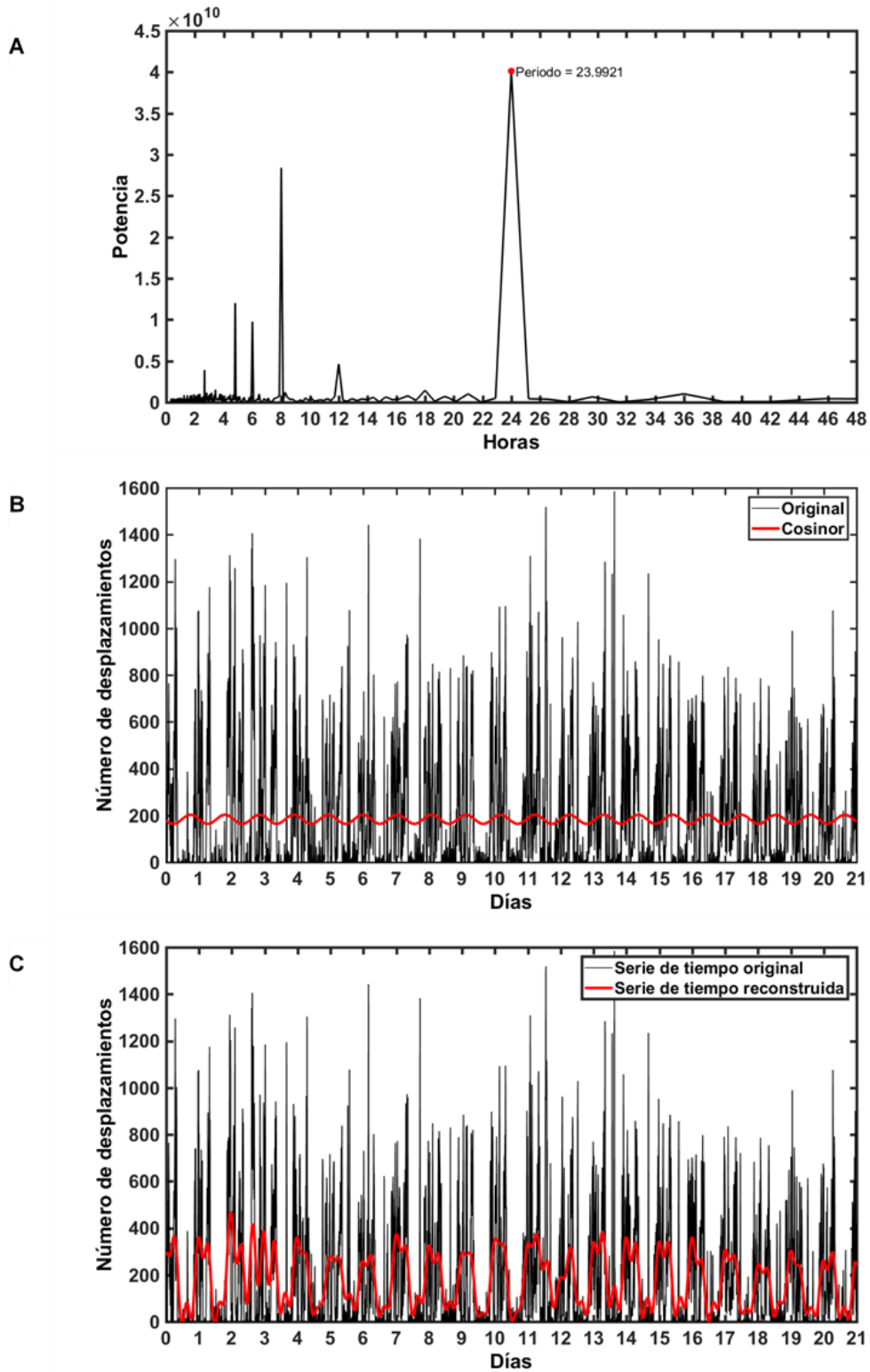
Figura 6.1. Actividad locomotriz de un ratón control durante 21 días. A) Ciclo 12:12.  
B) Oscuridad constante.

Del análisis mediante periodograma, cosinor y análisis espectral singular se obtuvieron gráficas del periodo y de la actividad locomotriz con sus respectivas aproximaciones y reconstrucciones de la señal original, para cada ratón en la condición 1 (**Figura 6.2**).

La gráfica de periodograma incluye potencia y tiempo en horas, mientras que las de cosinor y análisis espectral singular, número de desplazamientos y tiempo en días.

En dichos análisis se observan: A) El periodo de actividad locomotriz, siendo el pico más alto en la gráfica, en este caso cercano a 24 horas, B) La mejor aproximación cosenoidal a las fluctuaciones en la serie de tiempo y C) La reconstrucción y aproximación adaptativa de las oscilaciones en la serie de tiempo durante 21 días.





**Figura 6.2. Diferentes métodos para el análisis del ritmo circadiano de actividad locomotriz de un ratón control en ciclo 12:12. A) Periodograma. B) Cosinor. C) Análisis Espectral Singular.**

Al observar las gráficas de la **Figura 6.2** es evidente que el método que mejor se ajusta a la descripción del ciclo circadiano es el análisis espectral singular, ya que el periodograma sólo nos despliega el dato del periodo pero no las fluctuaciones en el ciclo de actividad locomotriz, con cosinor se pueden observar las oscilaciones, sin embargo, al ser un método que se ajusta a una señal cosenoidal, no muestra las diferencias diarias de dichas fluctuaciones. Finalmente, con SSA se observan las oscilaciones diarias que presenta el ciclo de actividad locomotriz, debido a esto, en lo que resta del trabajo, únicamente se utilizó análisis espectral singular.

Del análisis con SSA se obtuvieron gráficas para cada ratón, controles y autistas, en ambas condiciones, estas gráficas incluyen tiempo, número de desplazamientos y la reconstrucción de la serie de tiempo original (**Figuras 6.3 y 6.4**).

Las series de tiempo reconstruidas se graficaron para comparar ambas señales en cada condición para las dos cepas de ratones, se observa que la cepa c58/j tiene un mayor número de desplazamientos, mientras que en la cepa c57/Bl6 se distinguen dos componentes en cada oscilación circadiana, que corresponden al “morning” y “evening” descritos anteriormente. (**Figura 6.5**).

Ciclo 12:12

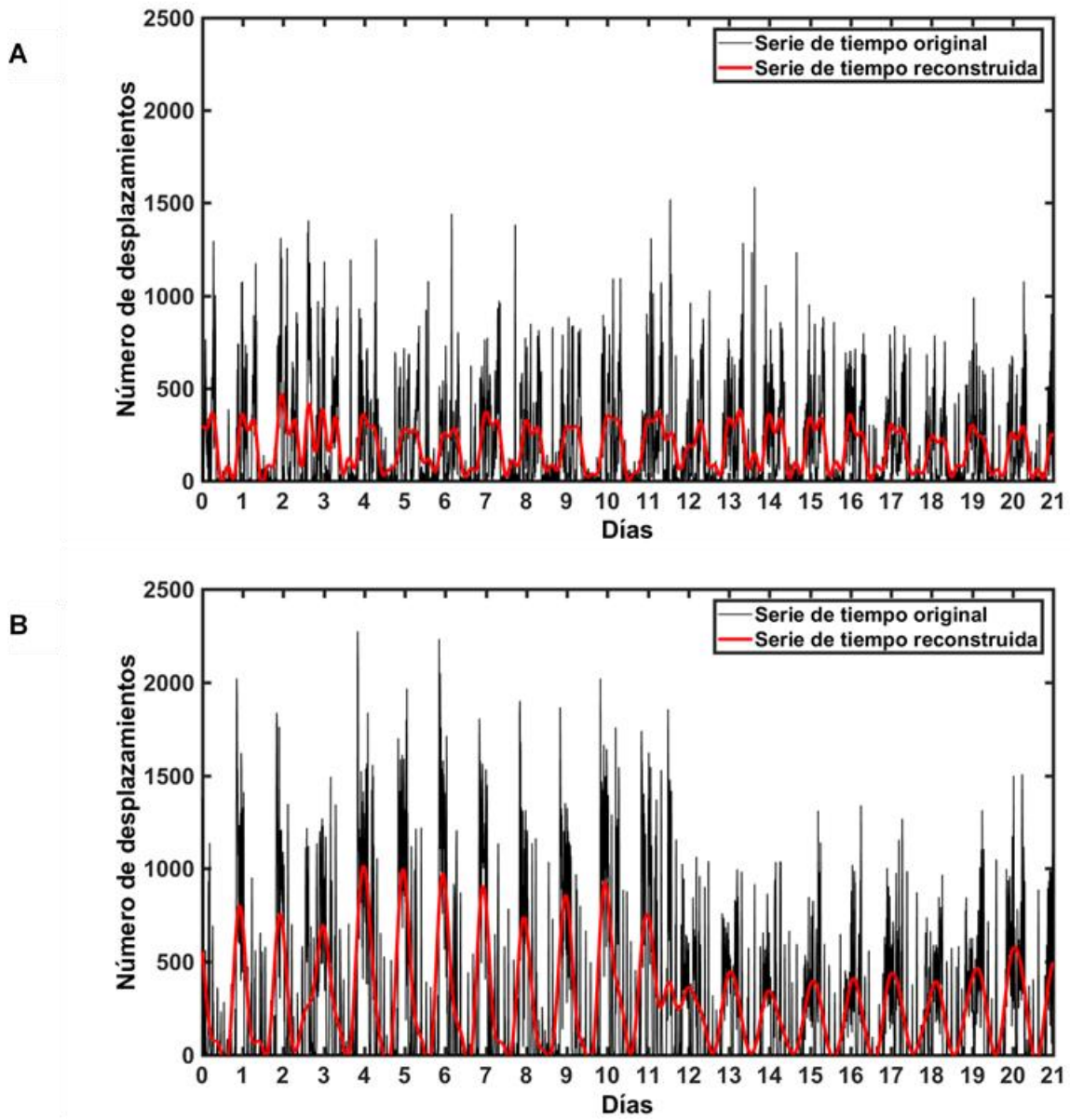


Figura 6.3. Análisis del ritmo circadiano de actividad locomotriz mediante SSA.

A) Cepa control. B) Cepa autista.

### Oscuridad Constante

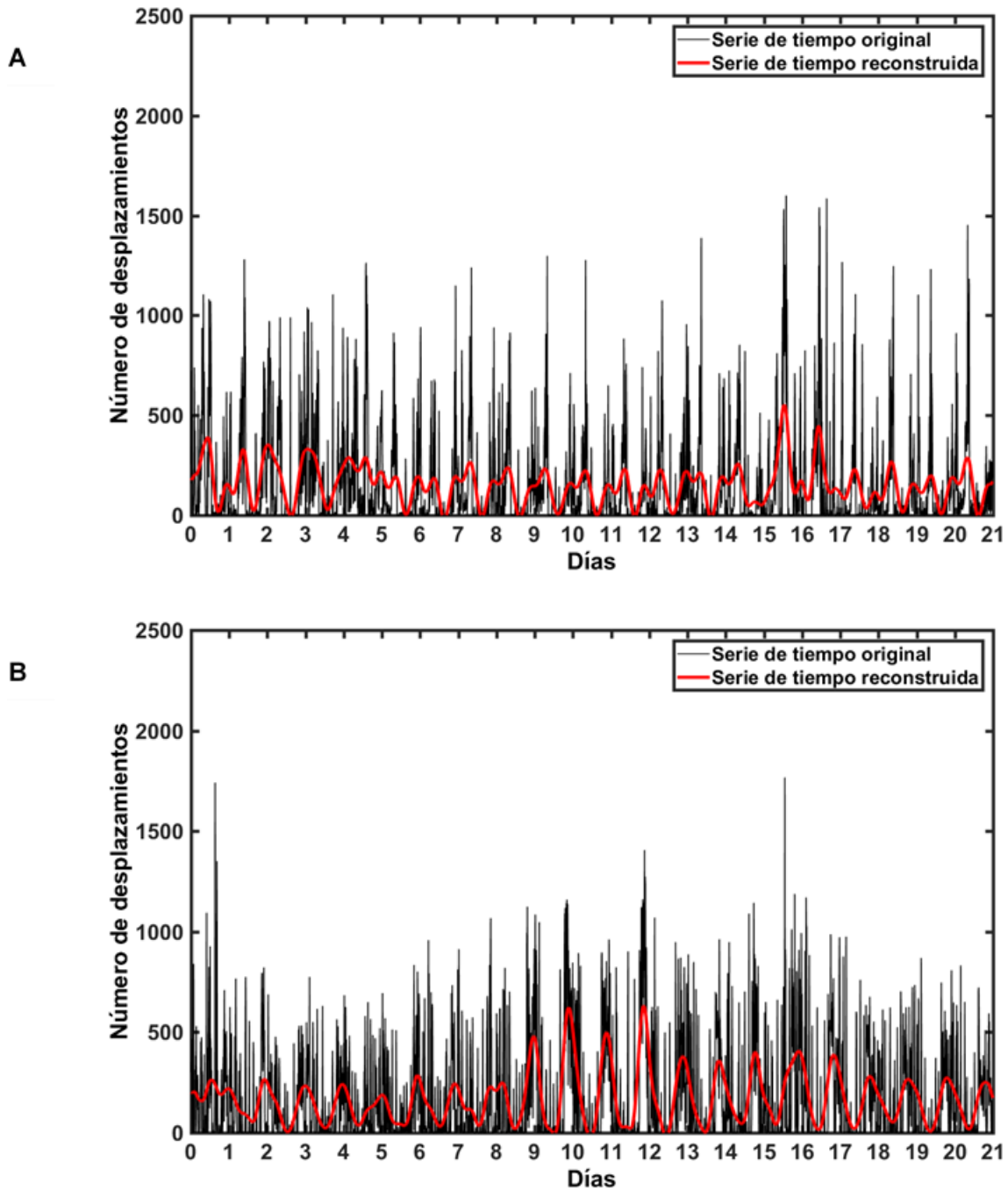


Figura 6.4. Análisis del ritmo circadiano de actividad locomotriz mediante SSA.  
A) Cepa control. B) Cepa autista.

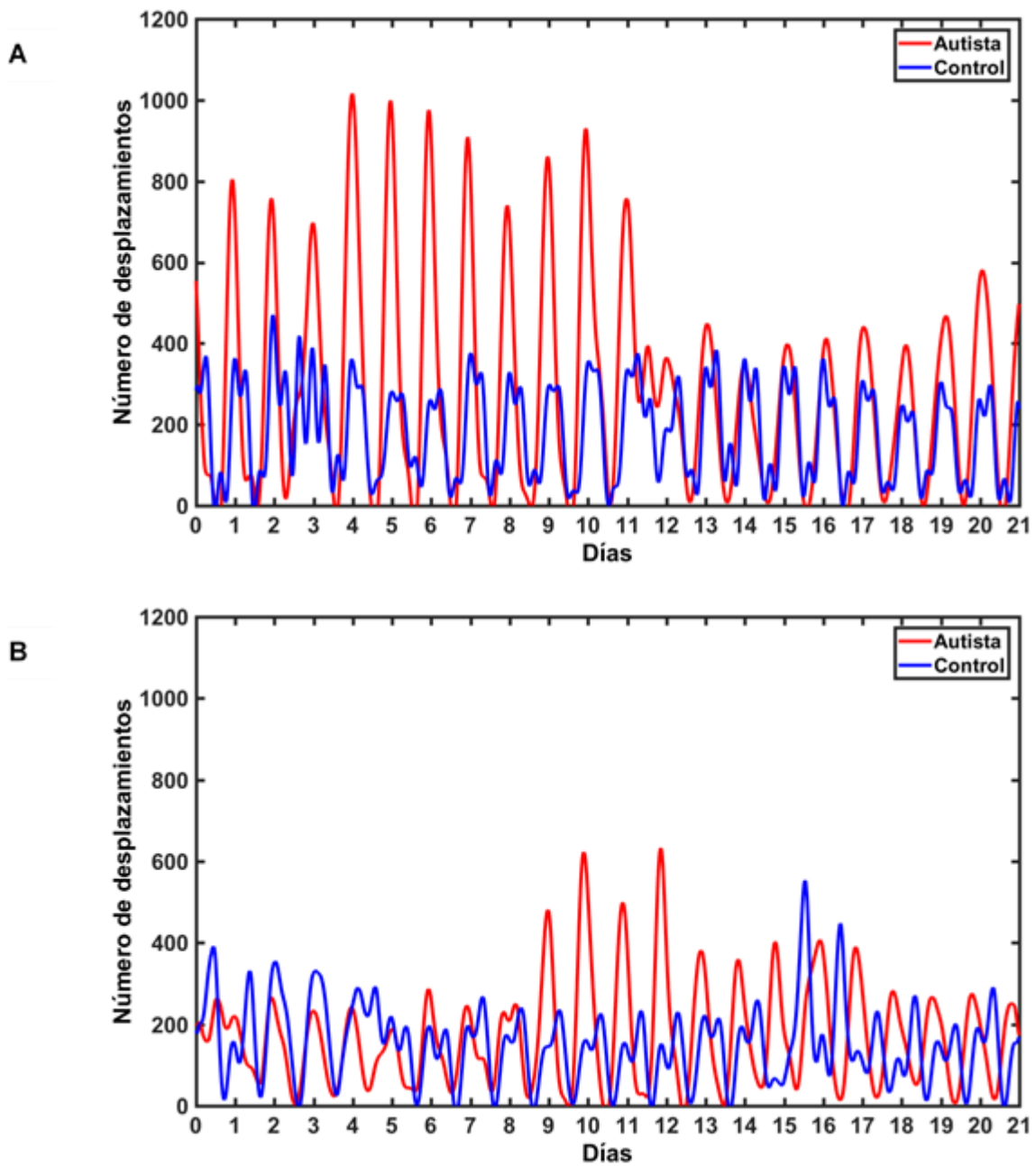


Figura 6.5. Gráficas de las series de tiempo reconstruidas mediante SSA.

A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad constante.

Además de las series de tiempo reconstruidas, durante el análisis espectral singular se pueden visualizar las componentes principales que están presentes en la dinámica de las series de tiempo de la actividad locomotriz en ratones.

Se obtuvieron las gráficas de las componentes principales que incluyen las tres primeras componentes durante las tres semanas de registro de actividad locomotriz para cada condición en ambas cepas (**Anexo 1**). La componente 1 (PC 1) es conocida como tendencia y es la parte no oscilante de la serie de tiempo, mientras que las componentes 2 y 3 (PC 2 y PC 3 respectivamente) son las fluctuaciones más importantes que aparecen en la actividad locomotriz de los ratones (**Figuras 6.6 y 6.7**).

Ciclo 12:12

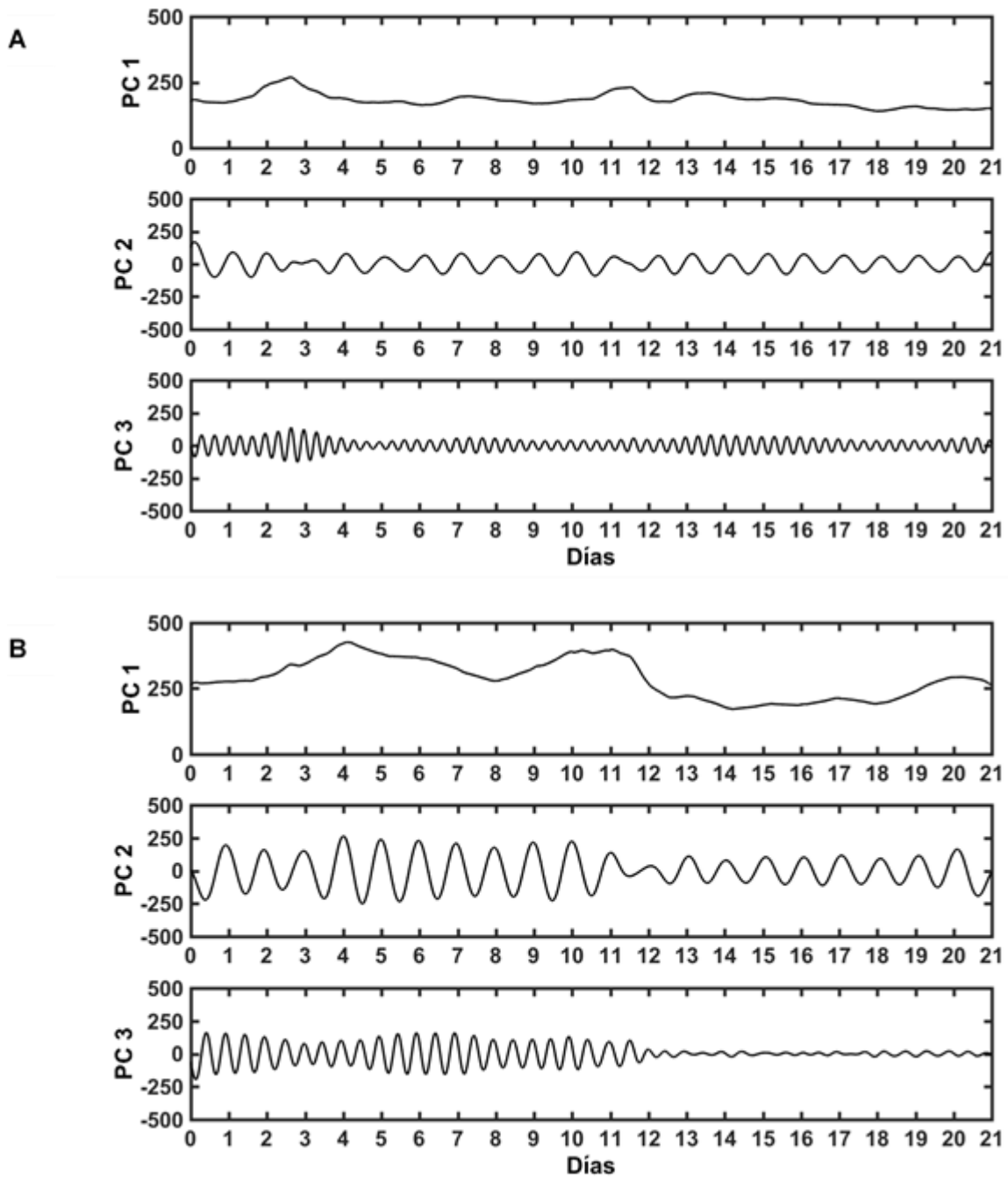


Figura 6.6. Componentes principales de la actividad locomotriz.

A) Cepa control B) Cepa autista.

### Oscuridad Constante

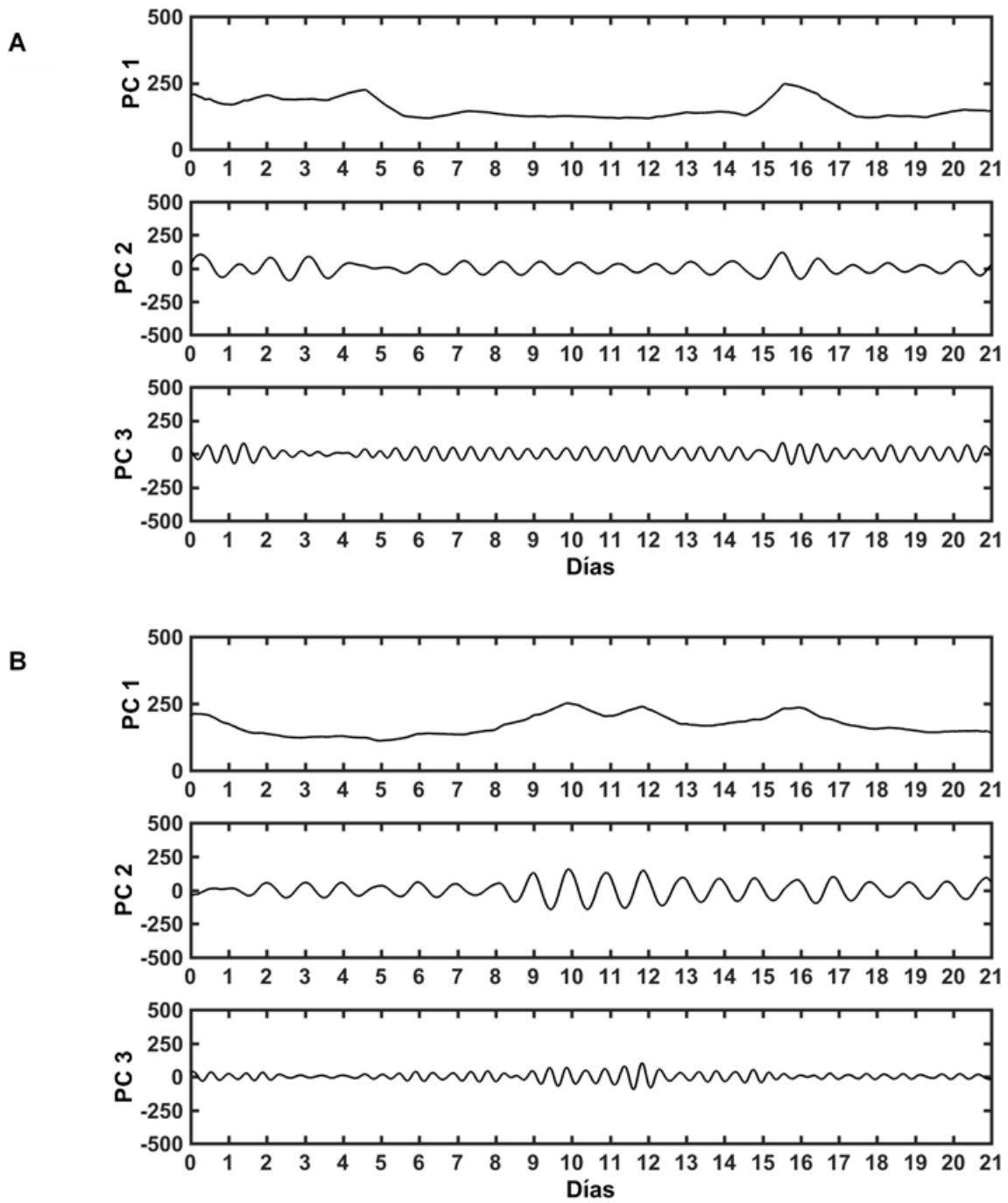
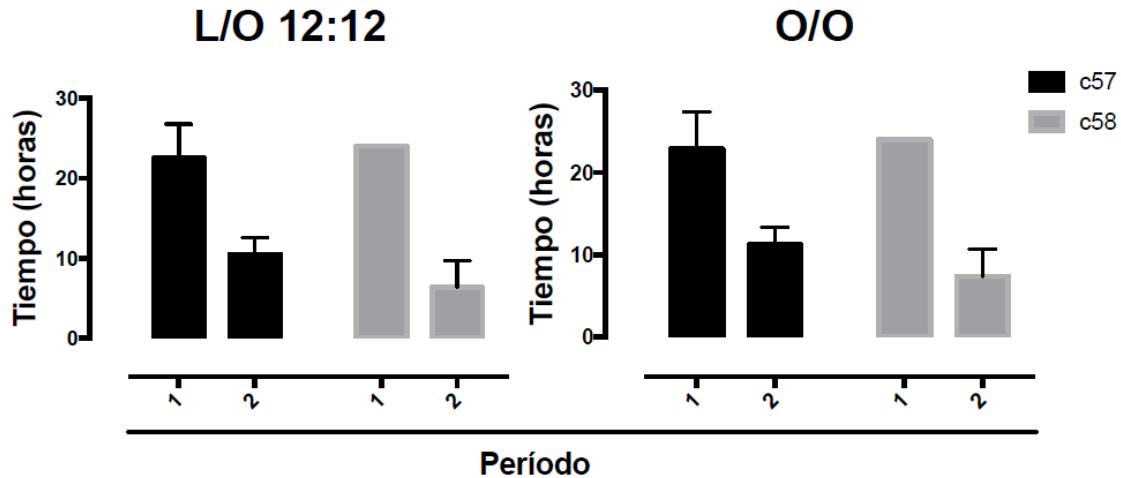


Figura 6.7. Componentes principales de la actividad locomotriz.

A) Cepa control B) Cepa autista.



Para analizar las componentes principales de la actividad locomotriz de los ratones en ambas cepas, se realizaron periodogramas a las dos primeras componentes oscilatorias (PC 2 y PC 3) y se obtuvo un promedio para ambas componentes en cada condición (Figura 6.7).



**Figura 6.7. Valores del periodo de las dos primeras componentes oscilatorias. La componente 1 en ambas condiciones y cepas es la cercana a 24 horas, mientras que la segunda componente en la cepa c57 tiene una duración de 12 horas aproximadamente en las dos condiciones y en la cepa c58 es menor de 10 horas para ambas condiciones.**

Como puede observarse, los ratones de la cepa c57/Bl6 tienen periodos de 24 y 12 horas en ambas condiciones (**Anexo 2**), lo cual se ajusta a lo reportado en esta cepa de un ciclo circadiano y otro ultradiano.

Mientras que en la cepa c58/j el periodo principal es similar al de la cepa control (24 horas, ritmo circadiano) pero difieren en el ciclo ultradiano, siendo más variable en esta cepa (va desde 2 horas hasta 8 horas) (**Anexo 3**).

## **7. CONCLUSIONES**

El análisis espectral singular es una herramienta adecuada para el estudio de los ritmos circadianos de actividad locomotriz, en la medida que permite observar variaciones diarias en la dinámica de las series de tiempo de dicha actividad.

Las pruebas realizadas hasta el momento indican que ambas cepas son sincronizables por luz; además, las variaciones en la amplitud del ritmo circadiano de actividad locomotriz de la cepa experimental la validan como un modelo de estudio del trastorno del espectro autista.

## 8. REFERENCIAS

1. Adamah-Biassi, E. B., Stepien, I., Hudson, R. L., & Dubocovich, M. L. (2013). Automated video analysis system reveals distinct diurnal behaviors in C57BL/6 and C3H/HeN mice. *Behavioural brain research*, *243*, 306-312.
2. Aguilar-Roblero, R., Guadarrama, P., Mercado, C., & Chávez, J. L. (2004). El núcleo supraquiasmático y la glándula pineal en la regulación de los ritmos circadianos en roedores. *Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular. Universidad Nacional Autónoma de México*.
3. Association, A. P. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-V)*. V edn, (American Psychiatric Publishing, 2013).
4. Berger, J. (2004). Regulation of circadian rhythms. *J. Appl. Biomed*, *2*, 131-140.
5. Bollinger, T., & Schibler, U. (2014). Circadian rhythms-from genes to physiology and disease. *Swiss Med Wkly*, *144*(w13984).
6. Cornelissen, G. (2014). Cosinor-based rhythmometry. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, *11*(1), 16.
7. Cuninkova, L., & Brown, S. A. (2008). Peripheral circadian oscillators. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1129*(1), 358-370.
8. Eckel-Mahan, K., & Sassone-Corsi, P. (2013). Metabolism and the circadian clock converge. *Physiological reviews*, *93*(1), 107-135.
9. Enright, J. T. (1965). The search for rhythmicity in biological time-series. *Journal of theoretical Biology*, *8*(3), 426-468.
10. Fossion, R., Rivera, A. L., Toledo-Roy, J. C., Ellis, J., & Angelova, M. (2017). Multiscale adaptive analysis of circadian rhythms and intradaily variability: Application to actigraphy time series in acute insomnia subjects. *PloS one*, *12*(7), e0181762.
11. Fuhr, L., Abreu, M., Pett, P., & Relógio, A. (2015). Circadian systems biology: When time matters. *Computational and structural biotechnology journal*, *13*, 417-426.
12. Götz, T. I., Lahmer, G., Strnad, V., Bert, C., Hensel, B., Tomé, A. M., & Lang, E. W. (2017). A tool to automatically analyze electromagnetic tracking data from high dose rate brachytherapy of breast cancer patients. *PloS one*, *12*(9), e0183608.

13. Hassani, H. (2007). Singular spectrum analysis: methodology and comparison.
14. Inagaki, N., Honma, S., Ono, D., Tanahashi, Y., & Honma, K. I. (2007). Separate oscillating cell groups in mouse suprachiasmatic nucleus couple photoperiodically to the onset and end of daily activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(18), 7664-7669.
15. Jagota, A., Horacio, O., & Schwartz, W. J. (2000). Morning and evening circadian oscillations in the suprachiasmatic nucleus in vitro. *Nature neuroscience*, *3*(4), 372.
16. Johnson, K. P., & Malow, B. A. (2008). Sleep in children with autism spectrum disorders. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, *8*(2), 155-161.
17. Kanner, L. (1968). Autistic disturbances of affective contact. *Acta paedopsychiatrica*, *35*(4), 100-136.
18. Kohsaka, A., & Bass, J. (2007). A sense of time: how molecular clocks organize metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *18*(1), 4-11.
19. Kohsaka, A., Laposky, A. D., Ramsey, K. M., Estrada, C., Joshu, C., Kobayashi, Y., & Bass, J. (2007). High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell metabolism*, *6*(5), 414-421.
20. Lowrey, P. L., & Takahashi, J. S. (2011). Genetics of circadian rhythms in Mammalian model organisms. In *Advances in genetics* (Vol. 74, pp. 175-230). Academic Press.
21. Meijer, J. H., & Schwartz, W. J. (2003). In search of the pathways for light-induced pacemaker resetting in the suprachiasmatic nucleus. *Journal of Biological Rhythms*, *18*(3), 235-249.
22. Minors, D. S., & Waterhouse, J. M. (1988). Mathematical and statistical analysis of circadian rhythms. *Psychoneuroendocrinology*, *13*(6), 443-464.
23. Moy, S. S., Nadler, J. J., Young, N. B., Nonneman, R. J., Grossman, A. W., Murphy, D. L., & Lauder, J. M. (2009). Social approach in genetically engineered mouse lines relevant to autism. *Genes, Brain and Behavior*, *8*(2), 129-142.
24. Muehlmann, A. M., Edington, G., Mihalik, A. C., Buchwald, Z., Koppuzha, D., Korah, M., & Lewis, M. H. (2012). Further characterization of repetitive

- behavior in C58 mice: developmental trajectory and effects of environmental enrichment. *Behavioural brain research*, **235**(2), 143-149.
25. Raff, H., Levitzky, M. G., Muñoz, B. R., & Rebatet, G. A. (2013). *Fisiología médica [recurso electrónico]: Un enfoque por aparatos y sistemas*. McGraw-Hill Interamericana Editores, SA de CV.
  26. Richdale, A. L., & Schreck, K. A. (2009). Sleep problems in autism spectrum disorders: prevalence, nature, & possible biopsychosocial aetiologies. *Sleep medicine reviews*, **13**(6), 403-411.
  27. Roenneberg, T., Kantermann, T., Juda, M., Vetter, C., & Allebrandt, K. V. (2013). Light and the human circadian clock. In *Circadian clocks* (pp. 311-331). Springer, Berlin, Heidelberg.
  28. Stewart, L. S., Persinger, M. A., Cortez, M. A., & Snead, O. C. (2007). Chronobiometry of behavioral activity in the Ts65Dn model of Down syndrome. *Behavior genetics*, **37**(2), 388-398.
  29. Touitou, Y., & Haus, E. (1994). Aging of the Human Endocrine and Neuroendocrine Time Structure a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **719**(1), 378-397.
  30. Tresguerres, J. A. F., Aguilar Benítez de Lugo, E., Cachofeiro Ramos, V., Cardinali, D. P., Gil-Loyzaga, P., Lahera Juliá, V., & Tamargo Menéndez, J. (2010). *Fisiología humana*. McGraw-Hill Interamericana.
  31. Welch, P. (1967). The use of fast Fourier transform for the estimation of power spectra: a method based on time averaging over short, modified periodograms. *IEEE Transactions on audio and electroacoustics*, **15**(2), 70-73.

## **9. ANEXO**

**Anexo 1.**

**Gráficas de las componentes principales de la actividad locomotriz.**

**Cepa control.**

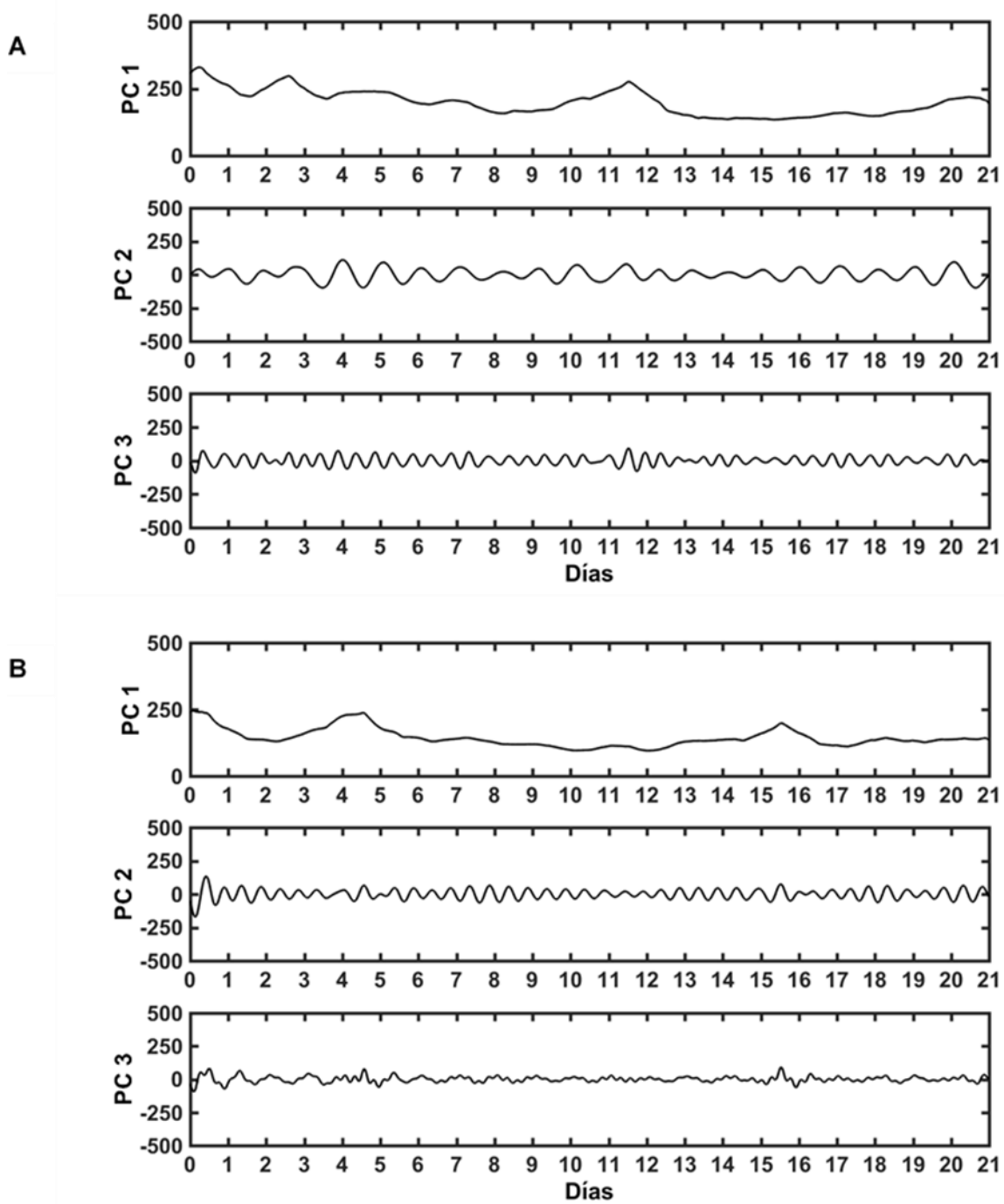


Figura 9.1. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón control.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.

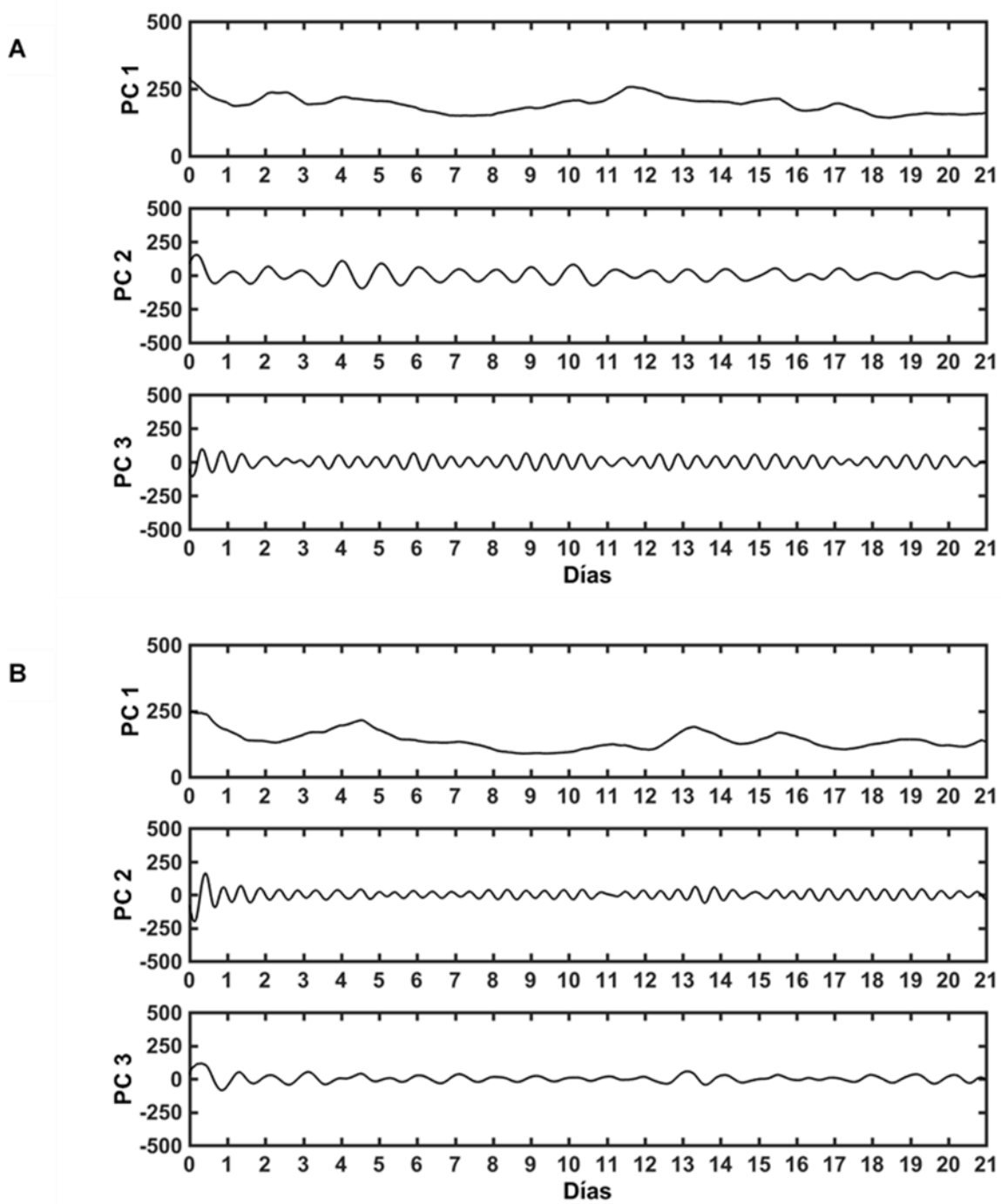


Figura 9.2. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón control.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.



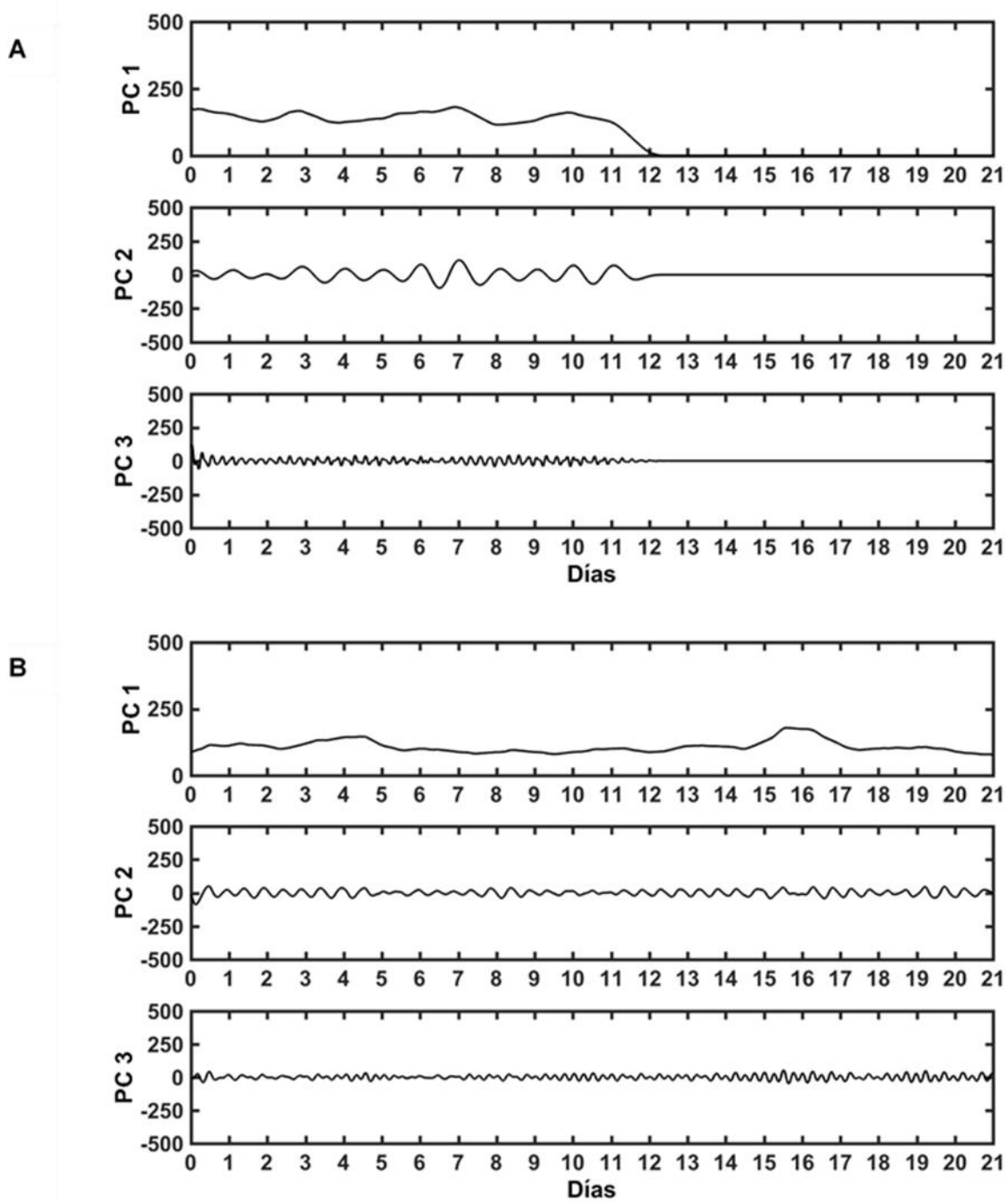
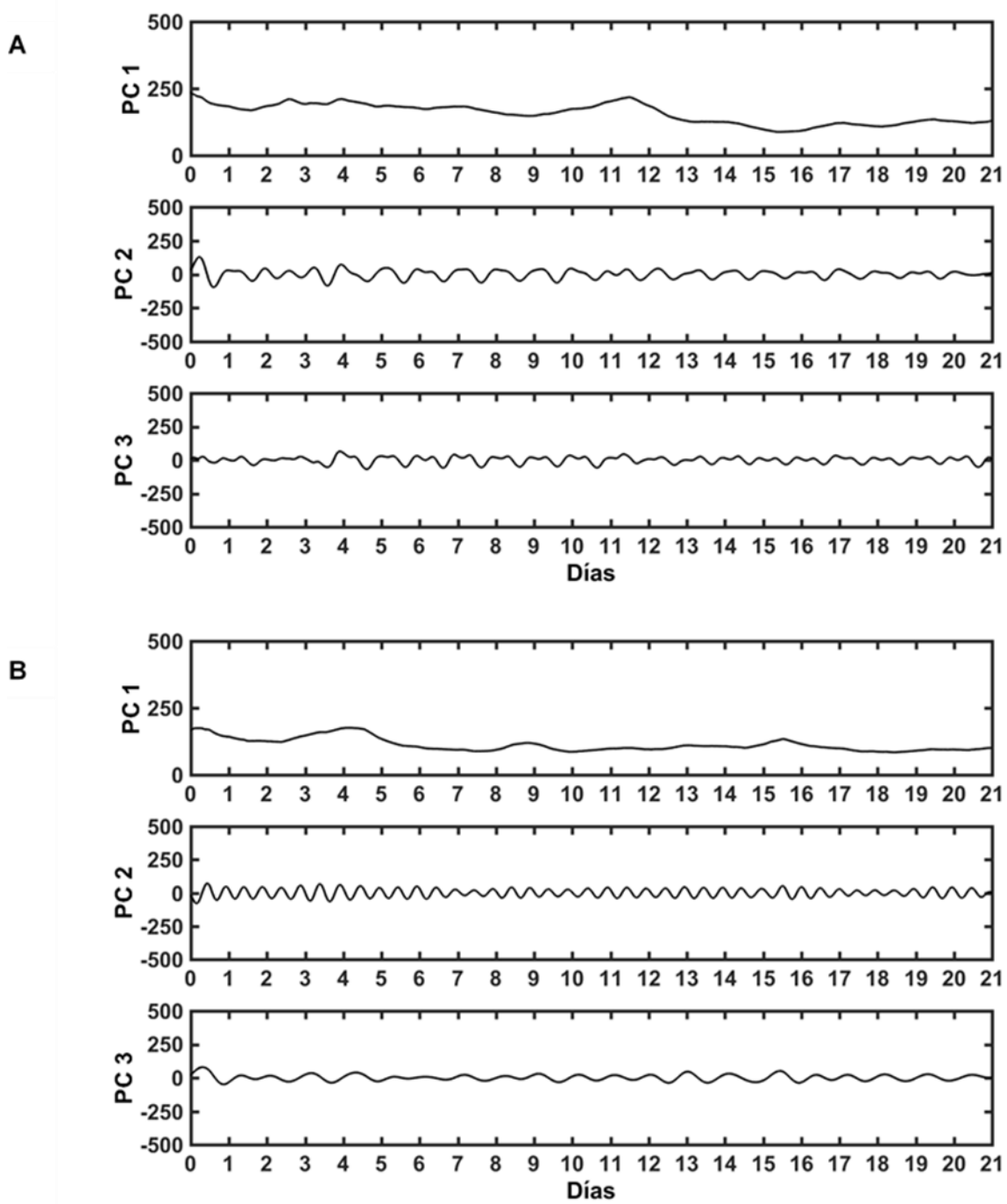


Figura 9.3. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón control.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.



**Figura 9.4. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón control.  
A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.**

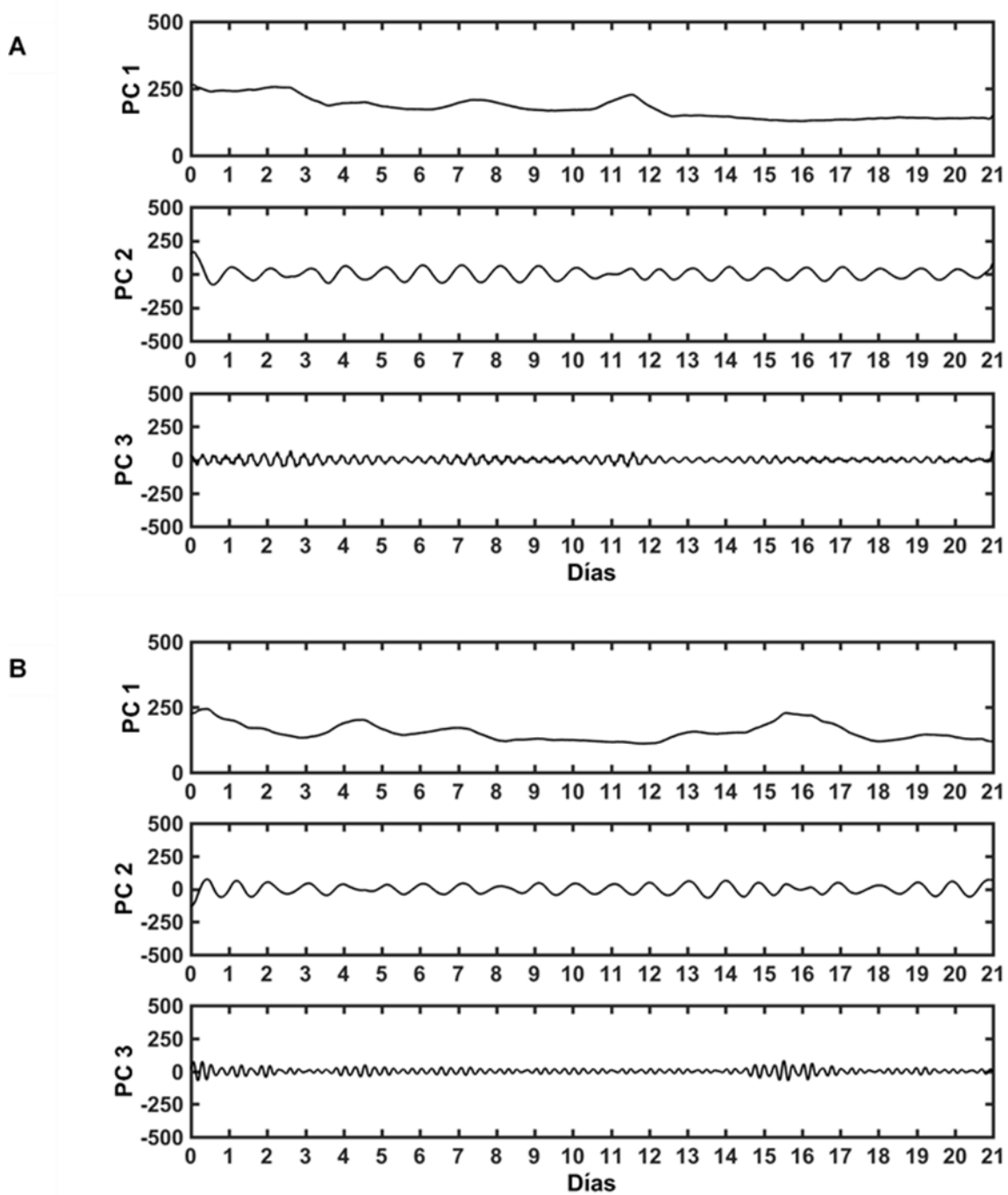


Figura 9.5. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón control.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.

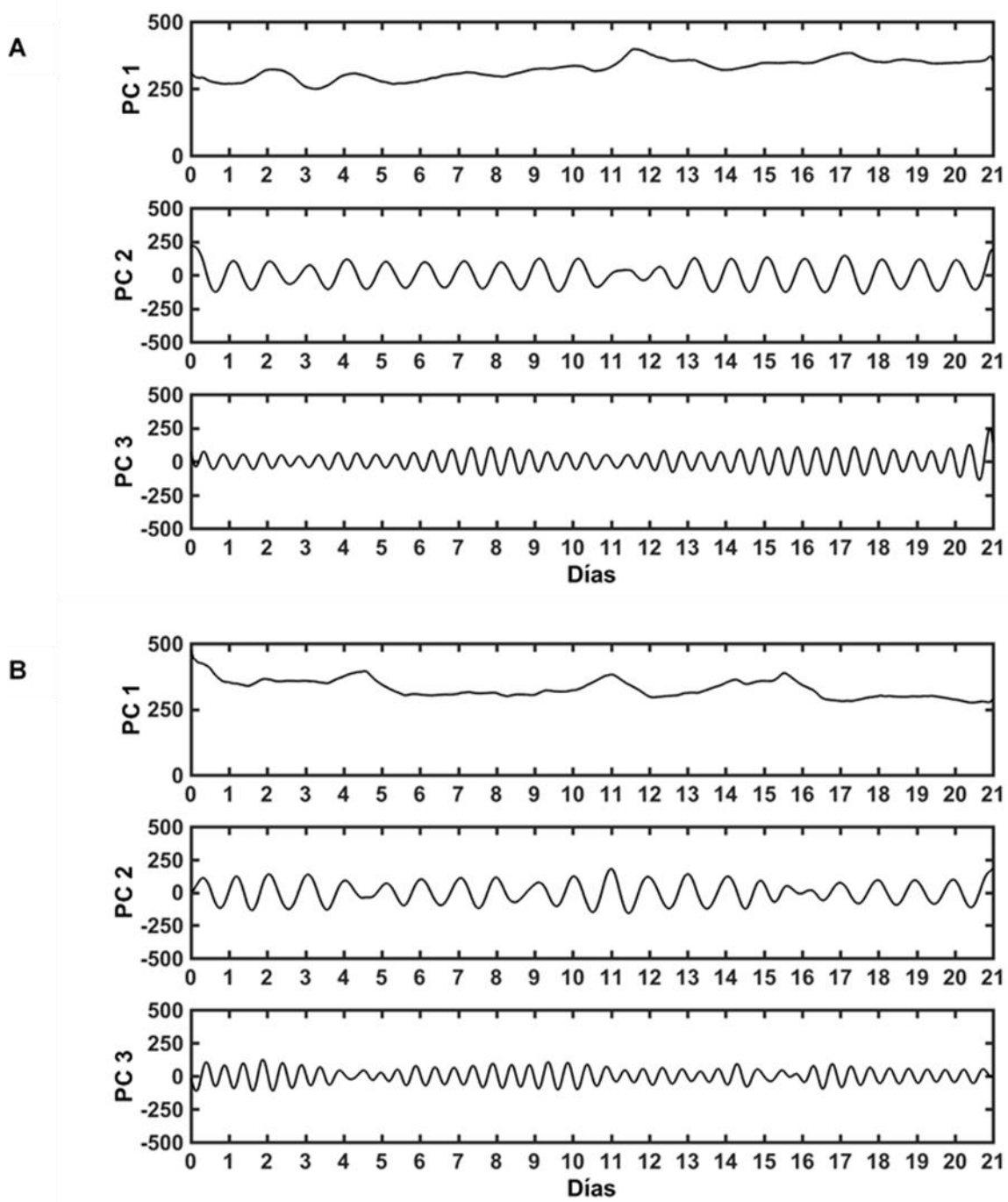


Figura 9.6. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón control.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.

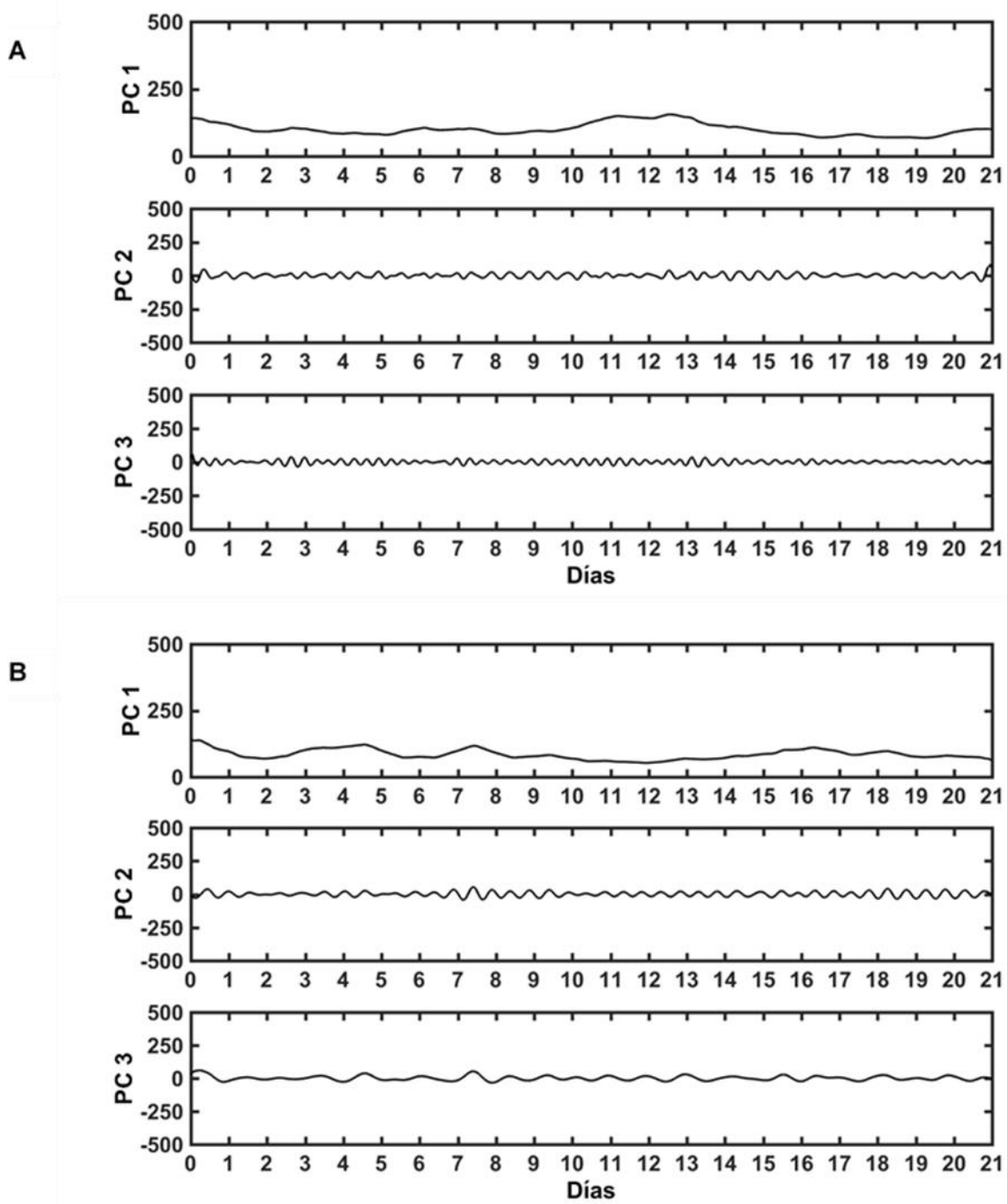


Figura 9.7. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón control.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.

**Anexo 2.**

**Gráficas de las componentes principales de la actividad locomotriz.**

**Cepa autista.**

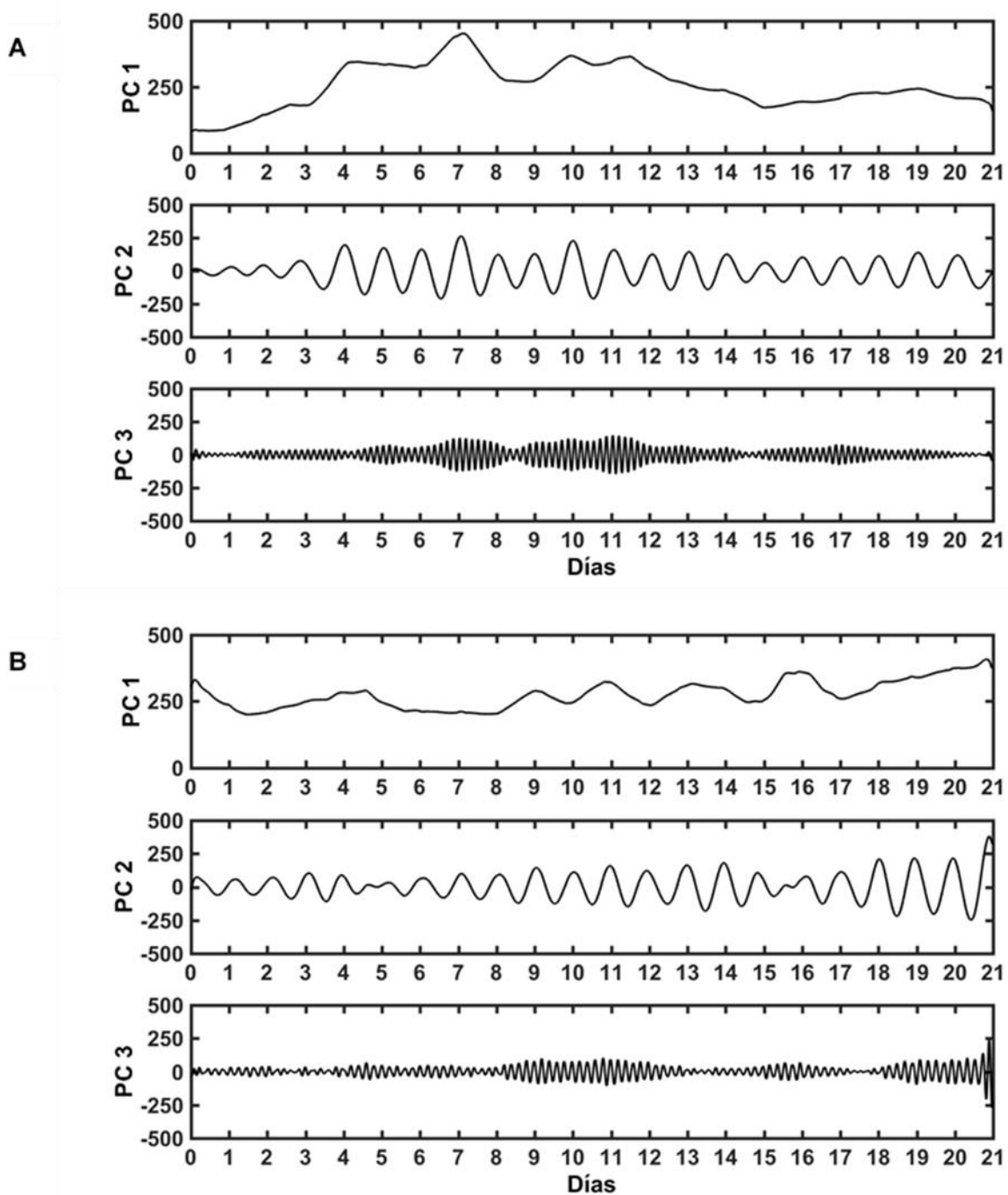


Figura 9.8. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón autista.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.

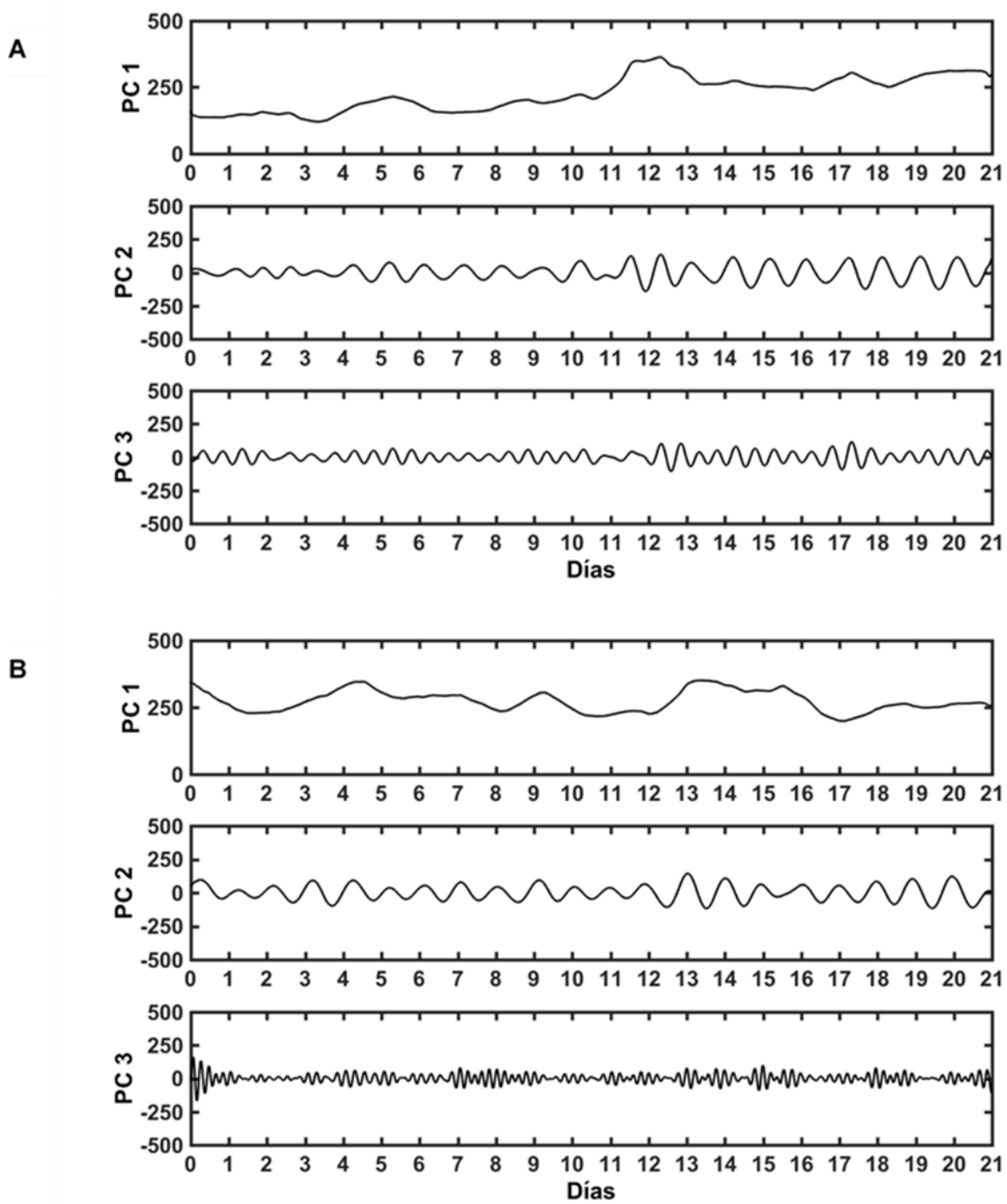


Figura 9.9. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón autista.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.



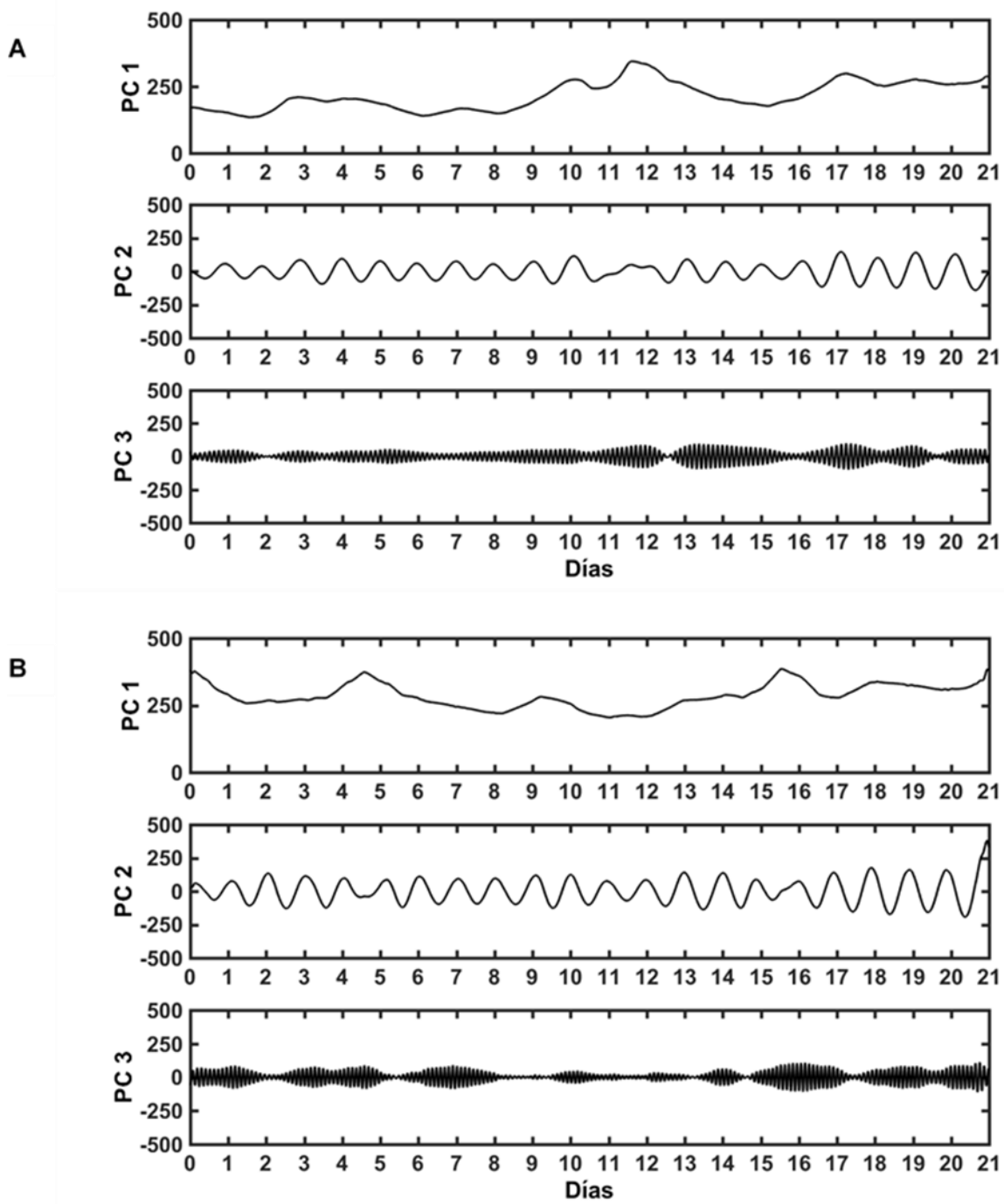
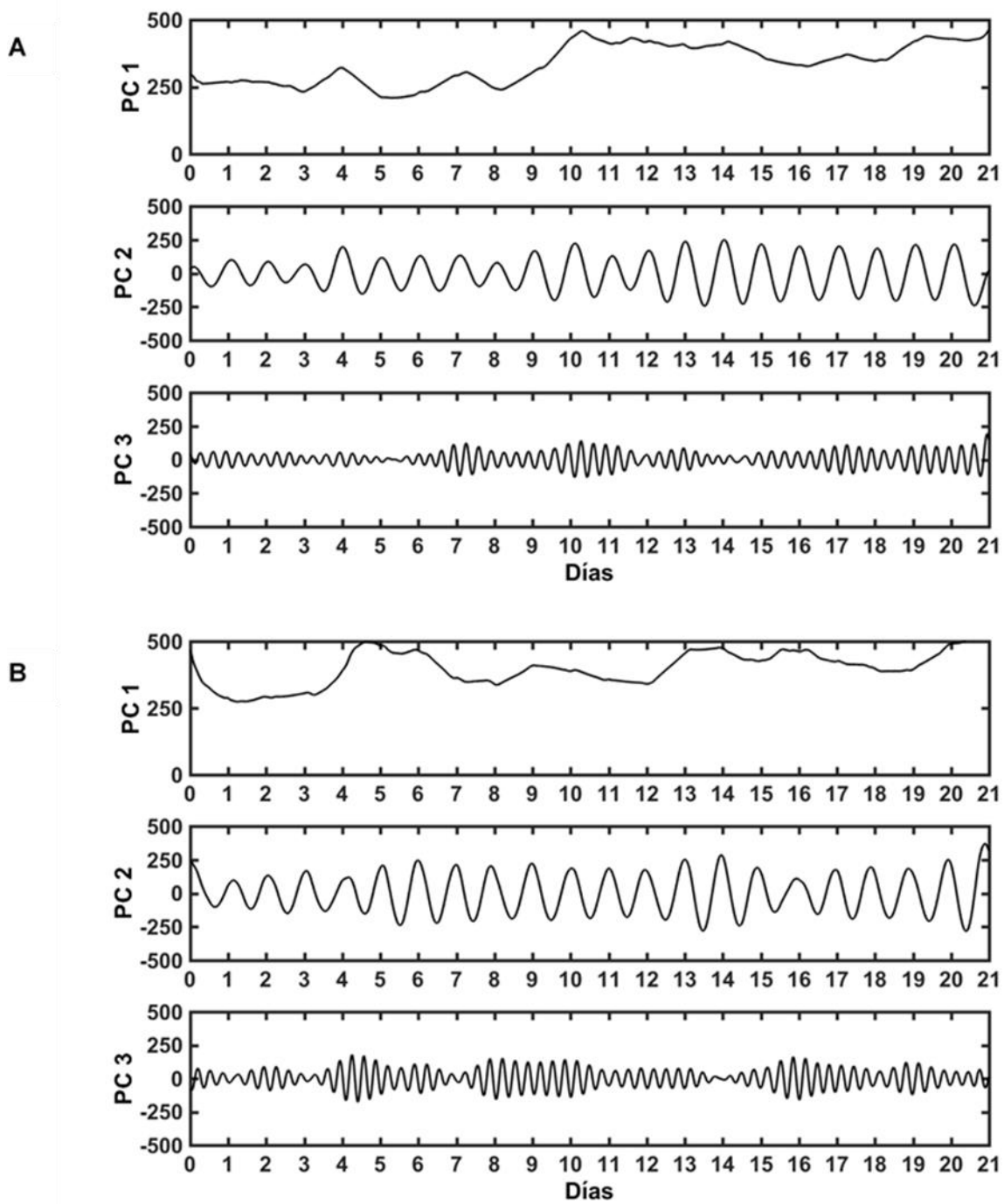


Figura 9.10. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón autista.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.



**Figura 9.11. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón autista.  
A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.**

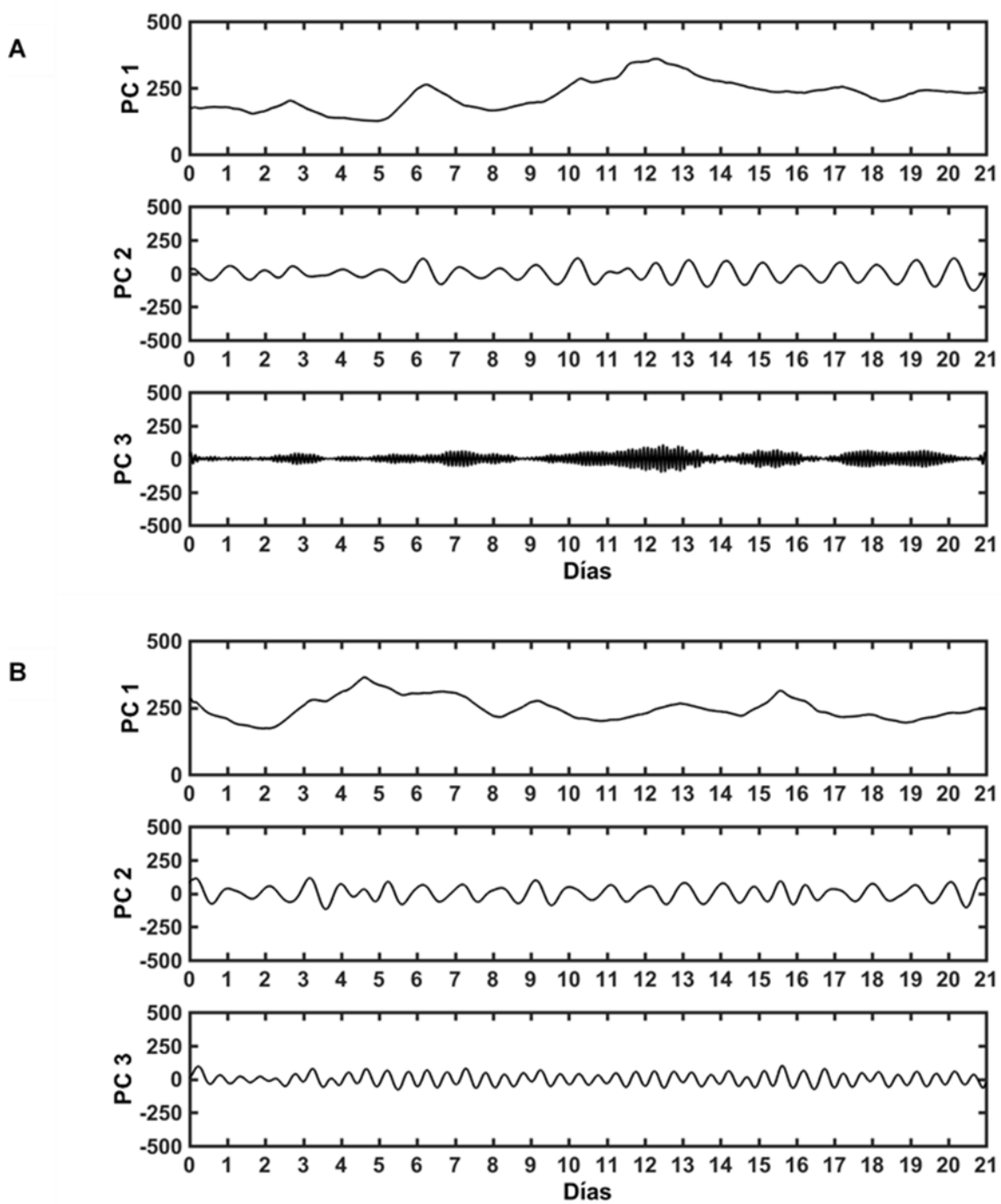
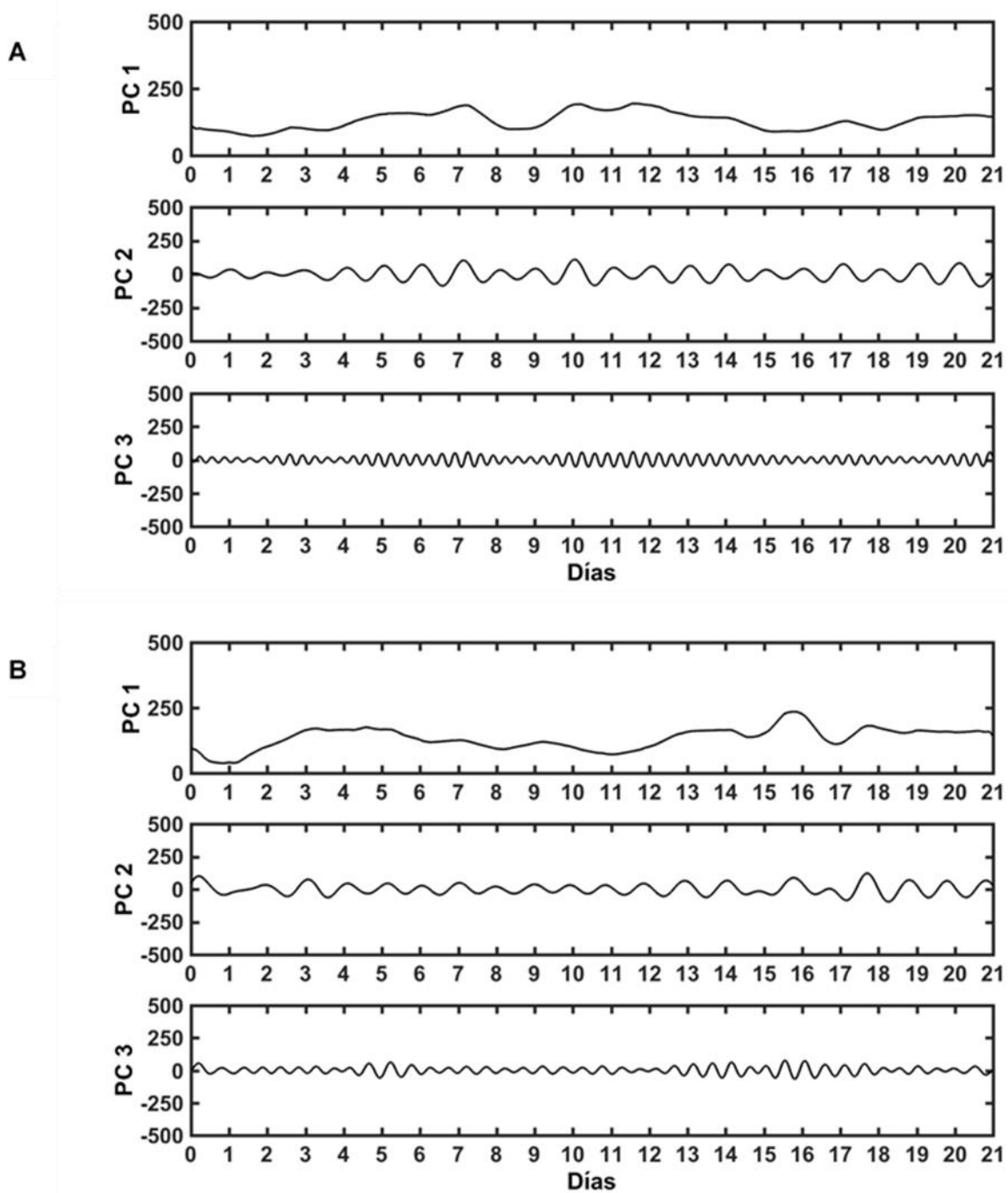


Figura 9.12. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón autista.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.



**Figura 9.13. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón autista.**  
**A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.**

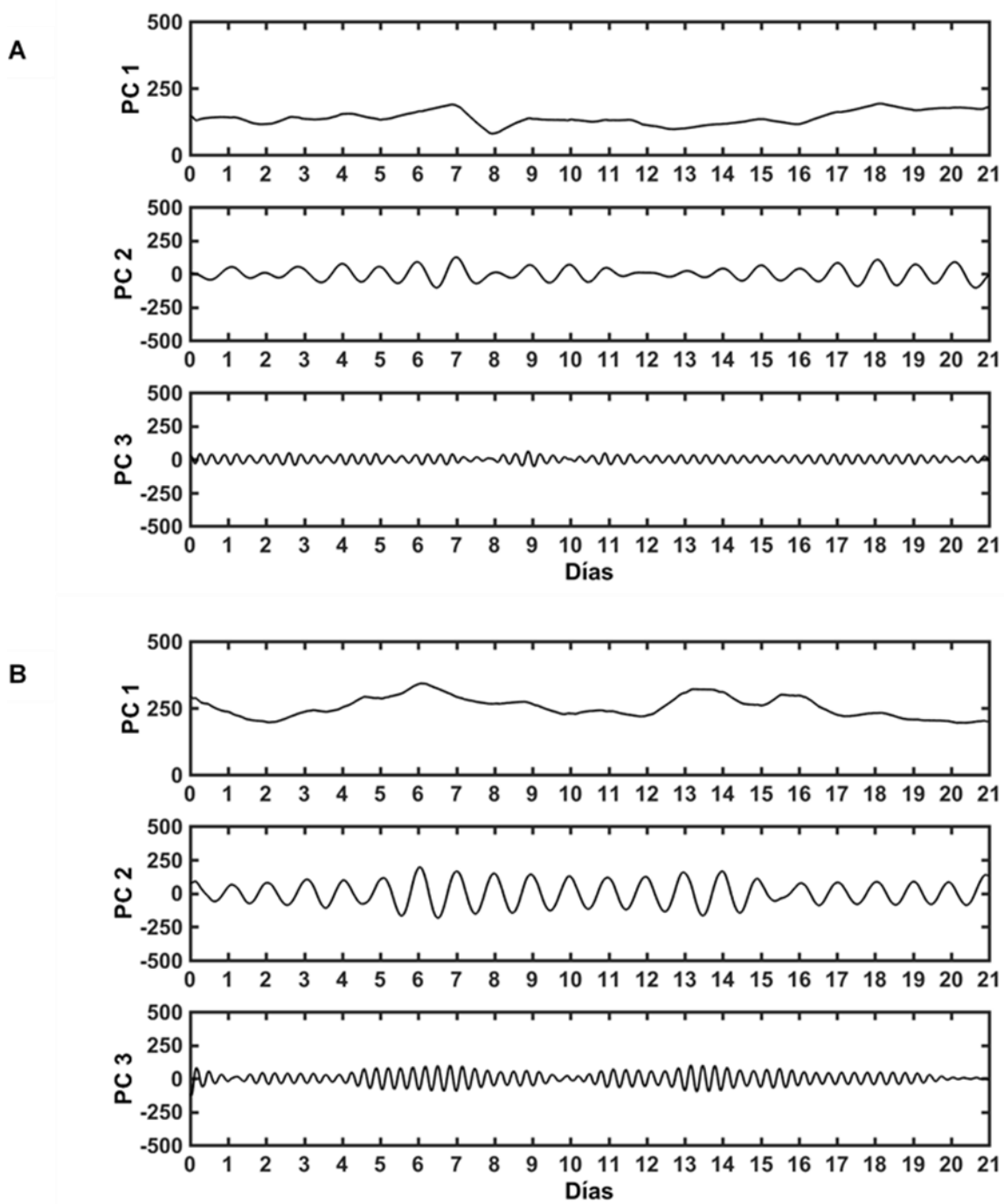


Figura 9.14. Componentes principales de la actividad locomotriz de un ratón autista.  
 A) Ciclo 12:12. B) Oscuridad Constante.

**Anexo 3.**

**Tabla de los periodos de las dos primeras componentes principales oscilatorias en la cepa c57/BI6.**

	Ciclo 12:12		Oscuridad Constante	
	Periodo 1 (Horas)	Periodo 2 (Horas)	Periodo 1 (Horas)	Periodo 2 (Horas)
Control 1	24	12	24	12
Control 2	24	12	24	12
Control 3	24	12	24	12
Control 4	24	12	24	12
Control 5	24	12	24	12
Control 6	24	12	24	12
Control 7	24	12	27	12
Control 8	12	8	12	6

**Anexo 4.**

**Tabla de los periodos de las dos primeras componentes principales oscilatorias en la cepa c58/j.**

	Ciclo 12:12		Oscuridad Constante	
	Periodo 1 (Horas)	Periodo 2 (Horas)	Periodo 1 (Horas)	Periodo 2 (Horas)
Autista 1	24	4	24	5
Autista 2	24	6	24	5
Autista 3	24	3	24	3
Autista 4	24	12	24	8
Autista 5	24	8	24	8
Autista 6	24	8	24	6
Autista 7	24	2	24	12
Autista 8	24	8	24	12