

79
221



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFEECTO DE LA DESNUTRICION PROTEINICA
SOBRE EL NUCLEO SUPRAQUIASMATICO:
UN ESTUDIO MORFOMETRICO COMPARATIVO
EN RATAS CEPA SPRAGUE-DAWLEY.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A ;

AGUSTIN JUAN GALVAN ROSAS

ASESORES: DR. LEON F. CINTRA MCGLONE
MVZ. EDUARDO TENA BETANCOURT

MEXICO, D. F.

AGOSTO DE 1988





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	
.....	1
INTRODUCCION	
Antecedentes y Localización	2
Estructura	3
Citoarquitectura	5
Organización del NSQ	7
Proyecciones Aferentes	8
Proyecciones Eferentes	11
 ASPECTOS FUNCIONALES:	
Actividad metabólica	12
Desarrollo ontogenético de los ritmos circádicos y Actividad eléctrica	14
Aspectos sobre la Reproducción	17
Aspectos Bioquímicos y Farmacológicos	20
Papel del NSQ en la regulación del ciclo sueño y vigilia	23
 DESARROLLO NEURONAL Y DESNUTRICION	25

MATERIAL Y METODOS

I. Manejo de animales y dietas 38
II. Procedimiento histológico 40
III. Procedimiento morfométrico 41

RESULTADOS

..... 43

DISCUSION

..... 51

LITERATURA CITADA

..... 61

RESUMEN

GALVAN ROSAS, AGUSTIN JUAN. Efecto de la desnutrición proteínica sobre el núcleo supraquiasmático: Un estudio morfométrico comparativo en ratas cepa Sprague-Dawley. (Bajo la dirección de León Cintra Mc Glone y Eduardo Tena Betancourt).

En la mayoría de los mamíferos muchas de las variables fisiológicas exhiben ritmos circádicos (aproximadamente de 24 horas), que revelan la adaptación que han tenido los organismos a su medio ambiente, al dirigir procesos fisiológicos como la secreción de hormonas, temperatura corporal, etcetera. Estos ritmos son controlados por un sistema marcapaso que puede estar formado por uno, dos o varios osciladores, de los cuales el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo en el sistema nervioso central (SNC), quizá sea el más importante. Por otra parte, se sabe que la desnutrición instalada en los organismos en la etapa de mayor vulnerabilidad del crecimiento del SNC, puede ocasionar daños neuronales a largo plazo, por lo que el objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos que produce la desnutrición pre y posnatal sobre las células del NSQ en ratas de 30, 90 y 220 días. Para lo cual se alimentaron ratas con dietas hipoproteínicas de 6% y 8% de caseína, que se compararon con animales alimentados con una dieta normal de 25% de proteína. Las dietas se administraron 4 semanas antes del apareamiento a las madres y luego durante la gestación, la lactancia y hasta los 30, 90 y 220 días de edad, al término de las cuales se sacrificaron, y sus cerebros fueron procesados con la técnica de Nissl. Se localizó al NSQ, se tipificaron sus células como multipolares, fusiformes y ovoides; se le dividió en 4 cuadrantes y en cada uno se seleccionaron 9 células de cada tipo, en las que fue medido el tamaño del soma por su eje mayor y menor. Los resultados mostraron en general, reducciones significativas en el tamaño celular de los sujetos desnutridos y aumentos significativos por la edad. Se concluyó que la desnutrición produce un efecto selectivo en la población celular del NSQ a largo plazo, lo que pudiera explicar parcialmente las alteraciones funcionales que se han reportado en algunos ritmos circádicos de los organismos desnutridos.

INTRODUCCION

ANTECEDENTES

El conocimiento que se tiene acerca de la existencia del Núcleo Supraquiasmático (NSQ) data de diversos estudios llevados a cabo al final del siglo pasado (1887) por Lenhossek, (citado por Mess, 1986), y a principios de este por Friedman (1912) quienes lo identificaron como la substancia grisea o núcleo gamma t, en la porción basal del hipotálamo en el cerebro de los mamíferos (Fig. 1).

En estudios subsecuentes, Spiegel y Zweig (1917) describieron la situación del NSQ con más detalle y le asignaron el nombre con el que se le conoce actualmente. En los años veinte fue identificado como el núcleo accesorio supraóptico por Foix y Nicolesco (1925) y como el núcleo ovoideo por Gurdjian (1927). En 1932, Krieg lo describió como una estructura bien delimitada en el cerebro de la rata. En la actualidad su estudio ha adquirido mayor especificidad, en cuanto a su estructura y a sus relaciones funcionales (Suburu y Pellegrino de Iraldi, 1969, Güldner, 1976 y van den Pol, 1980).

LOCALIZACION

El NSQ está situado en la porción anterior y ventral del hipotálamo, y guarda relación con otros grupos nucleares cercanos a él. A su vez, el hipotálamo es la parte ventral del

diencéfalo, estructura que deriva de la vesícula embrionaria de origen ectodérmico conocida como el prosencéfalo. Se encuentra limitado por otras estructuras hipotalámicas, como son: el área preóptica en su límite anterior; las áreas hipotalámicas anterior y lateral lo limitan lateralmente; el tercer ventrículo en su porción medial; el área preóptica medial y el núcleo hipotalámico periventricular en su parte dorsal y en su límite ventral se localiza el quiasma óptico (Afifi y Bergman, 1980).

Christ en 1969, lo describió como un núcleo ovoide cuya población celular es homogénea formada de neuronas pequeñas redondas o fusiformes las que se distribuyen densamente. Sin embargo, en los años recientes el estudio más completo ha sido el de Bleier y Byne (1985), quienes lo definieron como una estructura formada por una población de células pequeñas, agrupadas densamente y situadas en una depresión superficial sobre la porción dorsal del quiasma óptico junto a la línea media (Fig. 2). Además la población neuronal del NSQ muestra variaciones regionales, reconocibles debido a la población neuronal heterogénea que lo constituye.

ESTRUCTURA

En las especies, estudiadas el NSQ presenta la misma disposición, bilateral al tercer ventrículo y sobre el quiasma óptico (Shimizu y cols., 1984). Sin embargo, su forma varía en las distintas especies, así en los roedores es ovoide

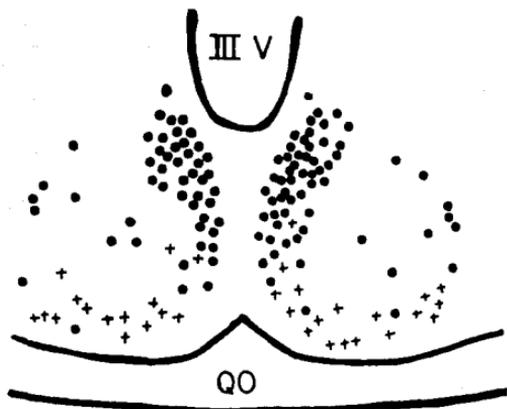


Fig. 2. Esquema de un corte frontal del NSD que ilustra la organización celular reactiva a la vasopresina (●) y al FIV (+). Obsérvese que las células reactivas al péptido vasopresina están concentradas en mayor proporción hacia la parte dorsomedial, en tanto que las células reactivas al péptido intestinal vasoactivo están más concentradas en la porción ventrolateral. Abreviaturas: tercer ventrículo (III V), quiasma óptico (QO).

(Gurdjian, 1927, Lydic y cols., 1982); alargada e irregular en las aves (Shimizu y cols., 1984), irregular en algunos mamíferos como el gato y los primates (Lydic y Moore-Ede, 1980) y difusa e irregular en los humanos (Lydic y cols., 1980).

Los estudios en animales seniles reportan variaciones morfológicas por la edad en sus estructuras cerebrales. Swaab y cols., (1985) encontraron una disminución del número total de las células gliales y de un solo tipo de las neuronas en el NSQ en los cerebros de humanos adultos y de individuos con deficiencia senil (enfermedad de Alzheimer). De la misma forma, Roozendaal y cols., (1987) encontraron un volumen mayor del NSQ durante la etapa de vejez debido a un aumento en el área máxima de corte transversal, en tanto que la longitud del axis rostrocaudal del NSQ no tuvo cambio alguno. Por lo que, el núcleo presenta un aspecto más esférico durante la edad adulta. Los mismos autores han reportado que el diámetro de ciertos tipos celulares aumenta proporcionalmente con la edad, en tanto que la capacidad de tinción de algunas de sus células disminuye, y proponen una correlación con la disminución del contenido del péptido producido por las células del NSQ, cuyo metabolismo deficiente por la edad, conduce a la muerte celular.

La alteración o la carencia de ciertas estructuras con funciones endócrinas provoca un retraso en el desarrollo del NSQ (Noguchi y cols., 1986). También se han encontrado diferencias anatómicas en la forma y tamaño del NSQ en roedores, atribuibles al sexo, así en el macho es de mayor

tamaño en comparación con el de la hembra (Robinson y cols., 1986).

CITOARQUITECTURA

El desarrollo de diversas técnicas histológicas y ultraestructurales ha contribuido al conocimiento más detallado de la citoarquitectura del NSQ. Suburu y Pellegrino de Iraldi en 1969, describieron el empaquetamiento celular denso en el NSQ, y un tamaño del perikaria entre 5-15 μm . Asimismo, los estudios cuantitativos de la población neuronal total del NSQ, han estimado que cada núcleo contiene aproximadamente entre 8,000 a 12,000 neuronas (Güldner 1976). En estos estudios se ha observado una mayor densidad celular en la porción ventromedial del núcleo, así como también, una disminución gradual en la densidad celular en sus porciones dorsal, lateral y caudal, lo cual denota la existencia de límites regionales del NSQ (van den Pol, 1980). El análisis ultraestructural ha revelado células grandes con un citoplasma abundante y complejo, y células pequeñas cuyos organelos citoplásmicos son escasos y pobres.

En material teñido con Golgi se ha observado que las neuronas del NSQ tienen escasas dendritas y que cada una de ellas se ramifica una o dos veces (Kricq, 1932 y Szentágothai y cols., 1960). De acuerdo al patrón de arborización dendrítica, van den Pol en 1980 clasificó diversos tipos celulares como monopolares, bipolares simples o rizados y multipolares

radiales, o espinosas. Las dendritas de las células que se encuentran en la porción ventral del NSQ, tienden a orientarse en una dirección paralela al quiasma óptico, en tanto que las que se localizan más dorsalmente, distribuyen sus dendritas paralelas al tercer ventrículo (Szentágothai y cols., 1968, Rilev y Moore, 1977). Los estudios efectuados con las técnicas argentícas, mostraron que los axones de las células del NSQ emergen de la porción dorsocaudal del mismo, orientándose hacia la región periventricular del hipotálamo, y en dirección caudal a lo largo del tercer ventrículo (Krieg, 1932 y Szentágothai y cols., 1968). La mayor parte de los axones que constituyen al núcleo son cortos y amielínicos, con diámetros de 0.15 μ m, cuyas sinapsis se establecen con dendritas o con el soma de células de circuitos locales (van den Pol, 1980).

Debido a la naturaleza neuromoduladora del NSQ se han encontrado distintos tipos de sinapsis con vesículas de diversos tamaños que contienen a los neurotransmisores (Güldner, 1974, 1976, Suburu y Pellegrino de Iraldi, 1969). Los tipos sinápticos que se encuentran son asimétricos, axo-dendríticos (Gray I,) los simétricos (Gray II) y los dendrodendríticos. Además se localizan algunas cadenas de neuronas que poseen aposiciones somatosomáticas en la porción dorsomedial del núcleo (Güldner y Wolff 1974, van den Pol, 1980).

De acuerdo a la relación entre la estructura y la función sináptica, se ha estimado que un tercio de la cantidad total de sinapsis en el núcleo posee una actividad excitatoria, y dos

tercios presentan una actividad inhibitoria (Güldner, 1976). Según estudios realizados por LeBlond y cols., (1982), el desarrollo de la sinapsis en el NSQ de la rata es similar en ambos sexos, sin embargo su número es mas elevado en los machos que en las hembras desde el nacimiento hasta la edad adulta.

ORGANIZACION DEL NSQ

El empleo de técnicas inmunocitoquímicas ha contribuido a la caracterización de dos subdivisiones principales en el NSQ, de acuerdo a la reactividad que presentan sus células con ciertos péptidos. Vandesande y cols. (1974, 1975) determinaron la presencia de vasopresina (VP) en cierto número de células del núcleo, y mas tarde Van Leuwen y cols. (1978) demostraron que estaba contenida en el interior de sus gránulos, en un 17% de la cantidad total de las células del NSQ de la rata, y el 31% en el humano (Sofroniew y Weindl, 1981).

Fuxe y cols., (1970), han demostrado la presencia del péptido intestinal vasoactivo (PIV) en la zona central y en la periferia del NSQ de los roedores. Se cree que cada péptido es producido por los diversos tipos de células que forman al NSQ y que la cantidad total de células con reactividad a la VP y al PIV constituyen poco menos del 50% de la población total del núcleo (Sofroniew y Weindl, 1980, van den Pol, 1980).

De esta forma, se ha observado que las células reactivas a la VP están concentradas en la región dorsomedial del núcleo en su porción rostral, en tanto que las células reactivas al

PIV se localizan en la porción ventral y lateral (van den Pol, 1980 y Moore, 1983). Por consiguiente, de acuerdo a lo anterior, son reconocidas dos subdivisiones principales en el NSQ de la rata: una porción dorsomedial, reactiva a la VP y otra porción ventrolateral, reactiva al PIV (Fig.2) (Sofroniew y Weindl, 1980). Además, la porción dorsomedial no recibe aferencias visuales, y sus eferencias se distribuyen a sitios muy circunscritos, en tanto que la porción ventrolateral está formada por una población neuronal distinta, y recibe proyecciones visuales aferentes directas e indirectas; ésta porción proporciona las proyecciones eferentes principales del núcleo que se orientan hacia otras estructuras hipotalámicas, como se observa en las figuras 3 y 4 (Moore, 1983).

PROYECCIONES AFERENTES

Numerosos estudios han demostrado que el ciclo de luz y oscuridad, es el principal sincronizador de las diversas funciones que exhiben ritmos circadianos y se cree están regulados en parte por el NSQ. También se ha intentado determinar el mecanismo por el cual llegan los estímulos luminosos al núcleo, y se han descrito en los roedores tres proyecciones aferentes al NSQ. La primera y la más importante, se origina en la retina y recorre los nervios ópticos hacia el quiasma óptico para llegar al NSQ, se le conoce como la vía retinohipotalámica (RHT), la cual según estudios experimentales es esencial para la sincronización de los ritmos circadianos

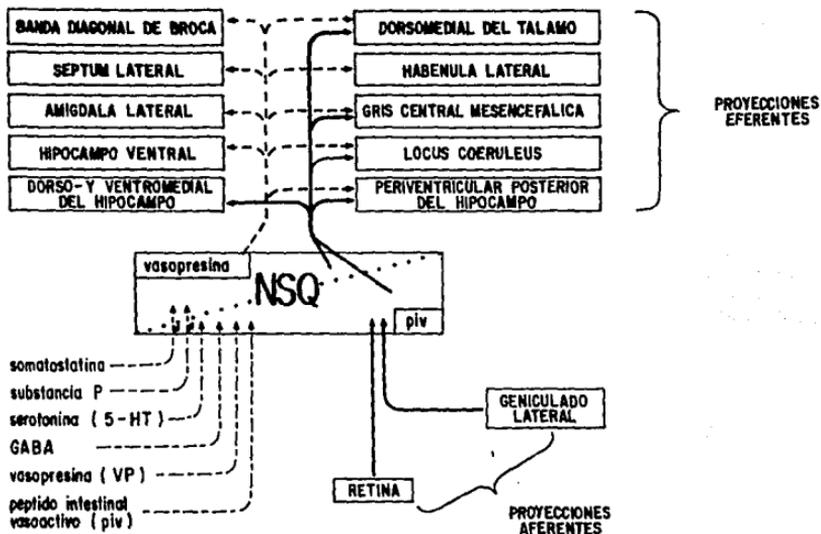


Fig. 3. Proyecciones aferentes (parte inferior derecha) y eferentes (parte superior) del NSQ, provenientes de sus dos subdivisiones principales. Las estructuras señaladas con líneas interrumpidas indican algunas vías eferentes reactivas con técnicas inmunocitoquímicas, y las líneas continuas señalan las encontradas por las técnicas neurohistológicas tradicionales. En la parte inferior, se indican a la izquierda algunos de los neurotransmisores encontrados en las células del NSQ.

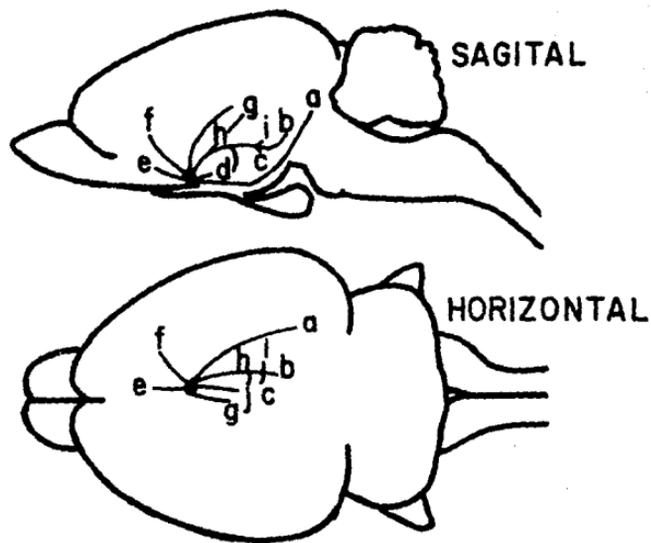


Fig. 4. Cerebro de la rata en corte sagital y horizontal que muestra las principales proyecciones eferentes del NSG hacia: núcleo geniculado lateral (a), área hipotalámica anterior (b), núcleo dorsomedial hipotalámico (c), área hipotalámica anterior (d), área preóptica medial (e), septum lateral (f), núcleo paraventricular del tálamo y del hipotálamo (g y h), zona incierta (i), núcleo ventromedial hipotalámico (j).

(Hendrickson y cols. 1972, Moore y Lenn, 1972, Moore, 1983).

La vía RHT esta dispuesta de manera bilateral y presenta la misma disposición en la mayoría de los mamíferos incluyendo a el humano (Ebbeson, 1970, Eichler y Moore, 1974, Hendrickson y cols., 1972, May y cols.,1985) y en las aves (Shimizu y cols., 1984), se ha observado que se proyecta hacia la porción ventrolateral del núcleo, es decir hacia su porción ventral y caudal, sitio en el que se llevan a cabo las sinapsis Gray I y Gray II (Güldner y Wolff, 1978 b, Mosko y Moore, 1977, Moore, 1983). Además se ha observado que las células del núcleo que hacen contacto con las fibras RHT son de un mayor tamaño y su forma es diferente (Güldner, 1976). Por autorradiografía se lograron determinar las fibras RHT en ratas neonatas entre los 2 y 4 días de edad (Stanfield y Cowan, 1976), y en las ratas de 7 días de edad se ha encontrado una zona abultada la cual representa las sinapsis con las células del núcleo (Mason y cols., 1977). Cualquier alteración en el desarrollo de las fibras RHT puede provocar muerte celular selectiva en la retina o fragilidad en las proyecciones axonales hacia el núcleo. Cavalcante y Rocha-Miranda (1978), encontraron que éstos cambios representan una disminución en el crecimiento y el arribo tardío de las fibras hacia el NSQ.

En los experimentos de lesión bilateral del NSQ, se ha observado que no induce el desarrollo de nuevas proyecciones hacia otras estructuras hipotalámicas, en tanto que las lesiones parciales originan una hiperinervación del tejido remanente del NSQ. Sin embargo, la vía RHT mantiene su

tendencia a inervar únicamente las porciones caudal y ventrolateral del núcleo (Mosko y Moore, 1977).

Por estudios autorradiográficos se ha identificado una proyección retinal indirecta desde la porción ventral del núcleo geniculado lateral (NGL), considerado como el núcleo terminal de las fibras retinales que se orientan hacia el NSQ (Ribak y Peters, 1975, Ueda y cols., 1986). De esta forma se ha demostrado que la lesión de esta vía, así como la de los otros tractos ópticos primarios y accesorios modifican la respuesta de la sincronización a la luz (Rusak, 1982); por lo tanto los estímulos de la luz y la obscuridad llegan al NSQ por otra vía diferente de la vía RHT.

En el NSQ, se observa una proyección proveniente de los núcleos del rafe que responde a los niveles elevados de serotonina (Saavedra y cols., 1974). Además, Foote y cols., (1978) han encontrado que el complejo del rafe, recibe una proyección retinal que proporciona proyecciones serotoninérgicas abundantes hacia el NSQ, y Azmitia y Segal, en 1978, demostraron una proyección a la porción ventral del NGL.

Así, los estudios neuroanatómicos y neuroquímicos han contribuido en gran medida a demostrar la presencia de una vía retinal directa (RHT) y otra indirecta (NGLv y de los núcleos del rafe) hacia el NSQ (Fig. 3). Hasta el momento, se desconoce la importancia funcional de las diversas proyecciones retinales en los fenómenos de sincronización de los ritmos circádicos en los mamíferos, generados por el NSQ.

PROYECCIONES EFERENTES

Tanto las proyecciones aferentes, como las eferentes, se han estudiado con métodos autoradiográficos e inmunocitoquímicos, ya que con las técnicas neurohistológicas tradicionales no es posible definir a los axones de las células del NSQ. Swanson y Cowan en 1975, encontraron que algunas de sus proyecciones eferentes se localizan ipsilaterales y en dirección medial desde la porción dorsocaudal del núcleo hacia el área periventricular; otra de ellas sigue la porción ventral del hipotálamo hacia el núcleo ventromedial, y otras se proyectan hacia los núcleos dorsomedial y arqueado, y a la lámina interna de la eminencia media. Por otra parte, Buijs (1978) observó una proyección hacia el área preóptica periventricular en la rata. En el ratón, Kucera y Favrod (1979) encontraron una proyección hacia el área mesencefálica gris central. Existen proyecciones eferentes menores hacia la banda diaqonal de Broca, núcleo interpeduncular, amígdala medial, porción ventral del hipocampo, diversas estructuras del tallo cerebral y el locus coeruleus que fueron estudiadas por Sofroniew y Weindl (1980, 1981). En 1982, Stephan y cols., demostraron algunas proyecciones hacia el septum lateral, amígdala anterior, habénula lateral y el núcleo dorsomedial del tálamo. En 1987, Watts y Swanson y Watts y cols., con técnicas de transporte anterógrado y retrógrado, reconfirmaron la mayor parte de las proyecciones eferentes del NSQ. Al mismo tiempo, Marani y cols. (1987) lograron observar *in vitro* conexiones

intrínsecas del NSQ y con otras estructuras hipotalámicas (Figs. 3 y 4).

ASPECTOS FUNCIONALES

Para el estudio funcional del NSQ, se han utilizado numerosas técnicas, desde la completa extirpación del mismo, hasta la alteración en la amplitud de algunas actividades corporales que exhiben ritmicidad circádica, entre las cuales se encuentran: la conducta alimenticia (van den Pol, 1977), la ingestión de agua (Stephan y Zucker, 1972); la actividad locomotriz (Raisman y Brown-Grandt, 1977), la regulación del ciclo de sueño y vigilia (Ibuka y Kawamura, 1975), la actividad corticoide adrenal plasmática (Krieger y cols., 1977), la función de la n-acetiltransferasa pineal (Raisman y Brown-Grandt, 1977) y la ciclicidad diurna de la temperatura corporal (Krieger y cols., 1977). Todos estos estudios destacan la importancia del NSQ en la regulación de los ritmos circadianos de las actividades hormonales y conductuales.

ACTIVIDAD METABOLICA

Se ha demostrado que la actividad funcional regional del cerebro está acoplada a la utilización de energía en las distintas regiones cerebrales (Inqvar y Lassen, 1975), de modo que el cerebro depende del continuo suministro de glucosa para

obtener energía (Sokoloff, 1976), y por lo tanto, la utilización o el consumo de la glucosa por las neuronas se ha interpretado como un marcador de la actividad funcional del NSQ (Schwartz y Gainer, 1977).

El empleo de la desoxiglucosa (dG) marcada con carbono 14 junto con el método de autoradiografía en el estudio del NSQ, han permitido saber que el consumo de glucosa por las células del núcleo está en función tanto de la hora del día como de las condiciones de iluminación prevalecientes en el medio ambiente, aumentado durante la exposición a la luz, en tanto que disminuye durante la fase de obscuridad. Así, de acuerdo con lo anterior las células del NSQ son metabólicamente activas durante la fase de luz e inactivas durante la fase de obscuridad.

Por otra parte, se ha demostrado que estos ritmos son independientes de los estímulos luminosos externos, por lo que se les define como endógenos, y están presentes tanto en las especies diurnas como los primates, en las nocturnas como los roedores, y en las crepusculares como los felinos (Schwartz y cols. 1980, 1983). Sin embargo, se desconoce la cantidad de glucosa que se utiliza en los procesos activos de las células del núcleo que la requieren, durante la liberación de neurotransmisores, en el consumo y bombeo de iones, en el transporte intracelular y en la síntesis de macromoléculas, entre otras.

DESARROLLO ONTOGENETICO DE LOS RITMOS CIRCADICOS

Por estudios llevados a cabo en numerosas especies de mamíferos se ha demostrado que el reloj circadiano inicia su funcionamiento durante el periodo perinatal (Takahashi y cols., 1982, Viswanathan y Chandrashekarán, 1984). El método autoradiográfico de dG estableció en ratas, que el NSQ inicia su actividad oscilatoria durante la vida fetal tardía (Reppert y Schwartz, 1983, 1984). De igual forma, el ritmo prenatal de la utilización de la glucosa (metabolismo energético) está caracterizado por un periodo de actividad aumentada durante el día y disminuida durante la noche. Por estudios en el sistema circadiano materno, se sabe que éste coordina la sincronización (fase) del NSQ fetal a las condiciones de iluminación existentes. Esta se continúa durante el periodo posnatal hasta que las crías son capaces de responder a los estímulos luminosos de una manera directa a través de su propia vía RHT (Reppert, 1985, Duncan y cols., 1986); de tal forma, que el NSQ materno es un componente necesario para el mecanismo de coordinación entre las crías y la madre durante el periodo pre y posnatal (Reppert y Schwartz, 1986).

ACTIVIDAD ELECTRICA

Los estudios electrofisiológicos han contribuido al conocimiento de la generación de los ritmos circádicos en el NSQ. Nishino y cols. (1976) registraron los potenciales de

acción de las neuronas del NSQ en ratas, estimando que su frecuencia de descarga oscila entre 1 a más de 10 veces/segundo, con un promedio de 4 a 8 veces/segundo, encontrándose variaciones de una célula a otra en el mismo animal. La frecuencia de descarga mostró periodos oscilatorios de corta duración que se presentan cada 3-5 min, sin embargo en otras ocasiones una misma neurona presenta una frecuencia de descarga baja y uniforme. Por otra parte, la estimulación repetitiva del nervio óptico o el estímulo de un haz luminoso sobre los ojos se observó que incrementa la actividad de casi la mitad de las neuronas examinadas, en tanto que, un porcentaje menor (23%) mostró una clara inhibición debida al mismo estímulo. De igual forma, se ha observado que la estimulación del núcleo inhibe fuertemente la actividad eléctrica de los nervios simpáticos cervicales, causando una disminución de la liberación de norepinefrina de las fibras nerviosas que inervan a la glándula pineal, así las neuronas de este núcleo contribuyen a la supresión de la producción enzimática pineal producida durante la fase de luz.

El NSQ, contiene neurotransmisores como la serotonina, noradrenalina, dopamina y glutamato, entre otros (Fuxe y Hökfelt, 1969,). Se ha intentado determinar los efectos de algunos de estos neurotransmisores sobre la actividad neuronal mediante su aplicación iontoforética. Nishino y Koizumi (1975 y 1977), demostraron que la acetilcolina (ACh) y el glutamato aumentan la frecuencia de descarga de un gran número de células en el NSQ (75-80%), la norepinefrina (NE) y la dopamina (DA)

inhiben la frecuencia de descarga de un 50-55% de las células registradas y aumentan la actividad de otras en un 20-25%. La serotonina mostró una acción inhibitoria y mucho más duradera, inhibiendo al 70% de las células y aumentando la actividad en un 15% de las células probadas. Por consiguiente, para una neurona del NSQ determinada, la respuesta más común fue la excitación por Ach y glutamato, en tanto que la inhibición estuvo dada por las otras tres aminas biogénicas. Las neuronas que fueron excitadas por una monoamina, lo fueron por las otras, y por la Ach y el glutamato.

Gross y Mason (1978), estudiando los efectos de los estímulos luminosos sobre las células del NSQ, encontraron respuestas con umbrales elevados y latencias largas. Shibata y cols. (1982), demostraron que la actividad neuronal unitaria de las células del núcleo se altera dependiendo de la fase del ciclo de luz y oscuridad existente. De esta forma, aumenta la frecuencia de descarga unitaria en las células del NSQ durante la fase de luz, en tanto que disminuye en condiciones de oscuridad. Más tarde, Shibata y cols. (1983a y 1984) al llevar a cabo un estudio sobre el desarrollo del ritmo circadiano de la actividad neuronal en el NSQ, demostraron que la frecuencia de sus células, en ratas entre 11 y 14 días de edad, fue menor en el transcurso del día, en tanto que a las edades entre 14 y 21 días se mostró elevada en la fase diurna y disminuida durante la fase nocturna. De esta forma, sugirieron que el ritmo circadiano de la actividad neuronal se establece entre los 11 y 14 días de edad, correspondiendo casi al momento

en el que se inician otros ritmos circadianos hormonales y conductuales.

Rusak y Zucker (1979) y Rusak y Gross (1982) mostraron que la estimulación eléctrica del NSQ altera la fase de los ritmos circadianos en roedores, y que el NSQ es capaz de sostener un ritmo de actividad eléctrica constante cuando se aísla del resto del cerebro (Inouye y Kawamura, 1979 y 1982). Además, se ha observado que la restricción alimenticia no altera el ritmo de la actividad neuronal del núcleo, tanto bajo condiciones normales de un ciclo de luz y oscuridad, como bajo condiciones de iluminación constante, sugiriendo que la memoria del momento de la alimentación producida por la restricción alimenticia es independiente de la actividad neuronal del núcleo (Shibata y cols., 1983b, Clarke y Coleman, 1986) y por lo tanto, la disponibilidad alimenticia no altera el marcapaso circadiano, ya que la actividad multiunitaria del NSQ no demostró interferencia con la ciclicidad alimenticia diurna (Inouye, 1982).

ASPECTOS SOBRE LA REPRODUCCION

Además de la regulación de una variedad de actividades biológicas diurnas, se ha mencionado que el NSQ es el responsable de la sincronización de los ciclos reproductivos estacionales en algunos vertebrados.

Se sabe que el cambio anual en la duración del día regula la condición reproductiva en muchos animales, y por

consiguiente el sistema circádico está involucrado en esta dimensión de tiempo fotoperiódico (Pickard y Turek, 1985).

Como ya fue mencionado, la intensidad de los estímulos luminosos (duración del día) llegan al sistema circadiano mediante una proyección retinal hacia el NSQ (Moore y Lenn, 1972, Pickard, 1982) la que se proyecta de manera multisináptica hacia el ganglio cervical superior, que va a regular la actividad circadiana de la n-acetiltransferasa pineal (NAT) que interviene en la síntesis de la hormona pineal denominada melatonina (Moore y Klein, 1974, Swanson y Cowan, 1975). De esta manera, se piensa que el control fotoperiódico de la reproducción de los mamíferos está mediado por la secreción de melatonina que actúa de manera central para alterar la función adenohipofisaria (Pickard y Turek, 1985).

El NSQ envía aferencias hacia el área hipofisiotrófica y hacia la eminencia media en las ratas, lo que sufre una influencia en la actividad reproductiva (Swanson y Cowan, 1975). Por otro lado, la estimulación eléctrica alrededor del núcleo inhibe de manera uniforme la secreción pulsátil de la hormona luteinizante (LH) en ratas ovariectomizadas, y por el contrario la activación del núcleo eleva los niveles sanguíneos de LH en ratas, pero de una manera ocasional, ocurre la supresión de la liberación episódica. Por consiguiente, el NSQ parece tener un papel integrador en el control del ciclo estral y de la ovulación en las ratas (Brown-Grandt y Raisman, 1977).

Estudios realizados en ovinos por Przekop y Domanski (1980) encontraron que el NSQ inhibe al área preóptica medial,

y suprime la liberación de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) durante el período reproductivo de anestro. Sin embargo, en los estudios sobre la secreción de gonadotropina en ovejas se ha demostrado que los componentes centrales del sistema endócrino que controlan el ciclo estral en éstas especies difiere de los encontrados en ratas. Cuando se provoca una lesión en la porción rostral del núcleo en ovejas, se observa que los ciclos estrales durante la estación reproductiva no se ven alterados, sin embargo ocasiona cambios en su curso estacional, es decir los ciclos estrales continúan aún dentro de la fase de anestro del ciclo reproductivo normal. En consecuencia, el NSQ en las ovejas está involucrado en el control de los ciclos estrales en el período reproductivo estacional, difiriendo del observado en las ratas, ya que el daño al núcleo altera la fase de liberación de LH, y por lo tanto bloquea la ovulación (Przekop y Domanski, 1980). De esta forma, el daño en el área del NSQ en ovejas no altera los ciclos estrales, ni la fase de liberación de la LH durante la estación reproductiva, sino que estimula la continuación de los ciclos estrales dentro de la etapa de anestro (no reproductiva).

Clattenburg y cols. (1972), observaron que existe una producción de material neurosecretor en ciertas células del núcleo después de la actividad copulatoria de la coneja, y que las células que responden al estímulo copulatorio se encuentran cerca de los capilares, además en su estado activo éstas células (neuronas magnocelulares con actividad del aparato de

Golgi y vesículas densas dentro del núcleo) parecen unidades neurosecretoras. Por otra parte, la ovariectomía en conejas ocasiona signos de incremento de la actividad de las neuronas del núcleo que podrían representar la síntesis de las hormonas GnRH (Madarász y cols., 1974).

Murakami y cols. en 1987, al realizar lesiones bilaterales completas del NSQ en ratas gestantes entre el día 13 y 14, provocaron la supresión del parto dependiente de la luz, de tal forma que parieron entre el día 21 y 23, independientemente de la hora del día. Sin embargo, se observó una fuerte tendencia a anticipar el momento del parto. Así, la lesión completa del NSQ, altera el momento del parto.

ASPECTOS BIOQUÍMICOS Y FARMACOLÓGICOS

Por las diversas actividades corporales en las cuales está involucrado el NSQ, por el papel que adquieren sus células como sitios de producción de sustancias activas y por la relación que establecen con otras estructuras por medio de sus axones y dendritas, el estudio de los neurotransmisores (NT) o neuromoduladores ha contribuido en gran medida al conocimiento del mecanismo de algunas actividades reguladas por el núcleo.

Por medio de diversas técnicas inmunocitoquímicas, se ha demostrado la presencia de algunos péptidos o neurotransmisores dentro de las células del núcleo, entre los cuales se encuentran: el péptido intestinal vasoactivo (PIV), la vasopresina (VP), la somatostatina (SS), la serotonina (5-HT),

el factor liberador de la corticotropina (FLC), el péptido pancreático aviar (PPA) y otros en menor proporción como la sustancia P, la neurotensina o encefalina, la bombesina, etc. (van den Pol y Tsujimoto, 1985). La distribución de los neuropéptidos (NP) o NT en el soma y en los axones de sus células es muy amplia y al mismo tiempo indica que existe cierta especificidad funcional dentro del núcleo. Algunas sustancias se encuentran situadas en el interior de los somas de sus células como el VIP y la VP, lo cual ha sugerido que pueden estar involucradas en ciertas funciones con las proyecciones eferentes o con las interneuronas; en tanto que otras la serotonina y el PPA se localizan dentro de los axones que se encuentran situados en las proyecciones aferentes al núcleo (Moore, 1983). Las sustancias encontradas en el soma, también se localizaron en los axones que cruzan la línea media y que inervan al núcleo contralateral, lo que proporciona un substrato anatómico para una intensa comunicación entre ambos núcleos.

La primera sustancia identificada en las fibras que inervan al núcleo fue la serotonina (5-HT), proveniente del núcleo rafe dorsal (Aghajanian y cols., 1969) y concentradas en la porción ventrolateral del núcleo (Fuxe, 1965, Steinhuch, 1981). De acuerdo a ciertos estudios enzimáticos se ha logrado establecer la presencia de otras sustancias bioactivas dentro del NSQ, como los receptores colinérgicos y la colina acetiltransferasa, lo que hace pensar que la acetilcolina (ACh) sea un neurotransmisor dentro de esta región (Seegal, 1978).

En tanto que la presencia de la enzima glutamato descarboxilasa en el interior de los axones de las células situadas en la porción ventral del núcleo denota la presencia del neurotransmisor GABA (Pérez de la Mora y cols., 1981). Pocas fibras inmunoreactivas feniletanolamina, n-acetiltransferasa y dopamina hidroxilasa se localizaron en el núcleo, lo cual también indicó la presencia de la norepinefrina, epinefrina y dopamina en los axones de sus células (van den Pol y Tsujimoto, 1985). También son pocos los axones inmunoreactivos a la colecistoquinina, la prolactina, sustancia P, TRH, y la colina acetiltransferasa en el núcleo, y a la ACTH, LHRH, MSH y neurotensina (van den Pol y Tsujimoto, 1985). La demostración de la gran cantidad de neurotransmisores da una idea de la compleja organización axonal del núcleo.

Se ha demostrado que las aminas biogénicas inhiben la actividad del núcleo bajo condiciones in vivo o in vitro, así la Ach es inhibitoria en condiciones in vitro, pero excitatoria in vivo. Además, la aplicación iontoforética de la serotonina en el núcleo rafo dorsal (identificada como la mayor proyección serotoninérgica en el NSQ) actúa suprimiendo la frecuencia de descarga de las células del NSQ, lo que sugiere que la inhibición serotoninérgica de la actividad neuronal del núcleo podría estar involucrada en el mecanismo de modulación de la función del marcapaso circadiano en el núcleo (Gross, 1983).

Héry y cols., (1982), determinaron en sus estudios un aumento en el nivel de serotonina en las células del NSQ en ratas al inicio de la fase de oscuridad, y se observó una

disminución durante la fase de luz. De la misma forma, Manshardt y Wurtman (1968) y Asano (1971) encontraron una elevada concentración de norepinefrina durante la fase de luz en el NSQ de las ratas.

De acuerdo a los estudios de Zucker y cols. (1976), las lesiones en el núcleo rafe dorsal inducen degeneración de las células del NSQ, y en consecuencia disminuye la amplitud de los ritmos de actividad y reposo durante un período de 24 hrs. en la rata, incrementando la actividad durante la fase de luz sin interrumpir el ritmo. Estos mecanismos serotoninérgicos están relacionados con la regulación del sueño (Jouvet, 1972).

Hasta el momento se desconoce el papel preciso de los diversos neuropéptidos y/o neurotransmisores encontrados en el NSQ respecto a la transmisión de la información (estímulo), integración de la actividad neuronal y a la retransmisión de la información circádica del núcleo hacia otros centros neurales (Turek, 1985). Sin embargo, se cree que la Ach y la PPA pueden estar involucradas en la retransmisión de la información del ciclo de luz y oscuridad hacia el núcleo, (Earnest, 1983a,b, 1984), y que la Ach module la retransmisión del estímulo luminoso desde la retina hacia el núcleo, o bien en la integración de la información de la luz dentro del núcleo.

PAPEL DEL NSQ EN LA REGULACION DEL CICLO SUEÑO Y VIGILIA

En el transcurso de los últimos años, ha adquirido gran importancia el papel que desempeña el NSQ como regulador de

diversas actividades corporales que exhiben fluctuaciones rítmicas; entre éstas, el ciclo del sueño y la vigilia experimenta algunas alteraciones debidas a la lesión de los núcleos supraquiasmáticos.

Ibuka y Kawamura en 1975, y Eastman y cols. en 1984, observaron en ratas con lesión del NSQ una marcada alteración en la distribución de la cantidad total del sueño durante el período de 24 horas del día, además de la supresión de la diferencia en la cantidad total de sueño (sueño de ondas lentas SOL y sueño paradójico SP o también llamado sueño de movimientos oculares rápidos MOR) entre las horas de iluminación y de obscuridad, ocasiona por lo tanto, la eliminación completa del ritmo circádico del ciclo de sueño y vigilia.

Por otro lado, Yamaoka (1978) al llevar a cabo la lesión del NSQ en ratas hembras, éstas mostraron estro persistente e interrupción del ritmo de SOL, pero mantuvieron de una manera uniforme el ritmo circádico de SP. De esta forma, se sugirió que en el ritmo de SOL pueden participar el NSQ y el hipotalámico basal. Cuando los dos NSQ se lesionan, se ha observado una disminución de la amplitud del ritmo circadiano de las diversas fases del ciclo de sueño (Mouret y cols., 1978). En un estudio realizado por Jobler y cols. (1983) sobre la privación de sueño (24 horas) en animales con lesiones bilaterales del NSQ, cuyos ritmos circadianos de actividad y reposo fueron abatidos por las lesiones, se observó un aumento en la cantidad total de sueño, sugiriendo de esta forma que su

regulación se lleva a cabo por mecanismos diferentes, ya que el componente homeostático de la regulación del sueño es distinto morfológica y fisiológicamente del componente circadiano del sueño.

Asimismo, en ausencia de ritmos circadianos en el ciclo de sueño y vigilia, la duración del sueño está sujeta a una regulación homeostática a corto plazo reflejada probablemente por las variaciones en la intensidad del sueño (Mistberger y cols., 1987).

El NSD representa un mecanismo de control efectivo en los ritmos circadianos del ciclo de sueño y vigilia en la rata, cuya función es la de un reloj biológico. Sin embargo, únicamente interviene en la regulación de la distribución del sueño en el transcurso del día, y no tiene influencia específica sobre el sueño paradójico o la cantidad total de sueño observada.

DESARROLLO NEURONAL Y DESNUTRICION

El desarrollo adecuado de todos los organismos depende de la interacción constante de éste con su medio ambiente externo e interno. De la misma forma el desarrollo normal del Sistema Nervioso Central (SNC) depende tanto de factores intrínsecos regulados por un programa genético, como de factores ambientales extrínsecos. Entre estos, la desnutrición es uno de los factores ambientales más severos que afecta a una gran

cantidad de individuos en el mundo y cuyas causas son sumamente complejas.

Estudios en humanos, han puesto en evidencia que la privación de algunos nutrientes ocasiona numerosas alteraciones en la estructura y por consiguiente en la función cerebral, observándose en consecuencia ciertas deficiencias en la capacidad mental de los individuos.

Los estudios en animales de laboratorio han contribuido a la interpretación de diversos trastornos en el desarrollo intelectual en el humano, y con el propósito de simular las condiciones tan complejas de desnutrición a las cuales está sometida un gran porcentaje de la población humana, el uso de modelos experimentales de desnutrición en roedores ha permitido la determinación de ciertas alteraciones en el desarrollo cerebral en los mamíferos. Sin embargo, la secuencia y el momento en que se llevan a cabo las fases del desarrollo cerebral varía de una especie a otra, y aún más, entre las distintas estructuras cerebrales. Así, el extrapolar los efectos provocados por la desnutrición sobre el SNC, entre distintas especies, será únicamente válido, si la comparación se realiza en animales altriciales cuyas etapas de desarrollo sean equivalentes, como se observa en la figura 5 (Shea, 1987).

Durante el desarrollo cerebral en el humano, existe un periodo en el cual las células experimentan una fase de crecimiento rápido entre el final de la vida fetal y el periodo posnatal temprano (lactancia), en el cual el SNC es muy susceptible a diversas influencias ambientales nocivas, al cual

se ha denominado "período de rápido crecimiento cerebral, período crítico o período vulnerable" (Dobbing y cols., 1971).

El momento en que se presenta el período crítico varía de una especie a otra, mientras que en la rata se presenta en la etapa posnatal del desarrollo, en el humano se lleva a cabo pre y posnatalmente. Incluye, tanto la etapa de multiplicación neuronal que en la rata ocurre al final del período de gestación y en el humano durante el segundo trimestre de vida intrauterina, como la fase de la elaboración de conexiones neuronales, de multiplicación glial y de mielinización, que se presentan posnatalmente, en la rata entre los 25 y 30 días de edad, y en el humano, entre los 3 y 4 años de edad. Es así, como el número total de células nerviosas se completa antes o durante el período crítico, incluyendo los procesos de diferenciación y maduración neuronal (Dobbing, 1974).

De este modo, se postuló que el período crítico del desarrollo cerebral en el hombre ocurre entre el final del segundo trimestre de gestación y el segundo año de vida posnatal (Dobbing y Sands, 1973), en tanto que en la rata se lleva a cabo durante las tres primeras semanas de vida posnatal, etapa en la que cesa el período de la división celular (21 días de edad). Posteriormente, las crías se separan de su madre asumiendo una existencia independiente, en la que su cerebro contiene el número total de células nerviosas.

En cuanto a la maduración cerebral, se ha estimado que la rata recién nacida es comparable a un feto humano de 18 semanas

de edad (Dobbing, 1974), debido a que el proceso de proliferación neuronal ocurre en la rata en el último tercio de la vida fetal, y en el humano se completa antes de finalizar el segundo trimestre de la gestación (Benesová y Pavlik, 1984).

Por otro lado, el inicio de la función cerebral normal depende del desarrollo, ramificación e interrelación de las dendritas, espinas, axones y cuerpos celulares (Jacobson, 1978), destacando el papel de las sinapsis en la función cerebral, en la extensión de la conectividad sináptica, así como en la naturaleza de los mecanismos neurotransmisores (Jones, 1976).

Bloom en 1972, observó un aumento gradual en el número de contactos sinápticos durante las primeras tres semanas de vida posnatal en la rata, existiendo además, un período más acelerado en la segunda semana (7 a 14 días de edad). Sin embargo, como se mencionó anteriormente, el período de crecimiento neuronal rápido varía de una región cerebral a otra, y difiere con respecto a la cantidad de contactos sinápticos en cualquiera de las áreas de la corteza cerebral (Molliver y van der Loos, 1970).

Es evidente que la restricción nutricional impuesta durante la fase de "rápido crecimiento cerebral", puede afectar el establecimiento de las conexiones sinápticas, la multiplicación de las células gliales y la mielinización neuronal (Dobbing y Sands, 1973)

En 1918, Sugita llevó a cabo uno de los primeros intentos por demostrar de manera cuantitativa en el cerebro de ratas, la

importancia de los efectos que ocasiona la desnutrición en el desarrollo cerebral. Posteriormente, se llevaron a cabo estudios más específicos en algunos parámetros tales como el peso cerebral, el grosor de la corteza cerebral, el número total de células (cuantificado por el contenido de DNA cerebral total) y el nivel de colesterol (marcador de la formación de mielina), en los que se observaron cambios de variable intensidad dependiendo del grado de desnutrición instalada y del momento en el cual fue aplicada.

En el curso de las dos décadas anteriores, los estudios sobre los efectos ocasionados por la desnutrición han involucrado el uso de diversos modelos experimentales que simulan lo que acontece en la condición humana, entre los cuales están: la carencia o el aporte insuficiente de alimento (Dyson y Jones, 1976, Bedi, 1987), la carencia o disminución de cierto componente esencial en la dieta (Morgane y cols., 1978, Resnick y cols., 1982, Cintra y Díaz-Cintra, 1985), el aumento en el número de la camada (Dobbing y cols., 1971, Fish y Winick, 1969, Hernández y cols., 1985), la separación de las crías de la madre durante cierto tiempo (Sugita, 1918, Leuba y Rabinowicz, 1979a,b, Salas y cols., 1974), la liqadura de pezones en hembras lactantes (Lynch, 1976), y el implante de dispositivos especiales, como cánulas (Tonkiss y cols., 1987), en los cuales se han observado alteraciones estructurales, funcionales, bioquímicas y conductuales por efecto de los mismos en los animales experimentales.

Según Dobbing (1973), inclusive ligeras restricciones

nutricionales durante el período vulnerable del desarrollo cerebral, pudiesen inducir deficiencias permanentes en las funciones cerebrales. De esta forma se ha planteado la idea que la desnutrición impuesta después del período vulnerable, altera en menor grado el desarrollo morfofuncional cerebral, y en consecuencia, las funciones mentales. Esto indica, que una vez que concluye la fase en la cual ocurre el período vulnerable del desarrollo cerebral, los riesgos de daño por desnutrición disminuyen.

Diversos estudios han demostrado que ocurre disminución del peso corporal en ratas sujetas a desnutrición por disminución de la cantidad de alimento, provocando un retardo en el desarrollo fisiológico de las crías, y un mayor porcentaje de mortalidad. Fernández y cols., (1985a,b) y Simek y cols. (1986) determinaron que ocurre una disminución del peso en algunos órganos internos como el cerebro, hígado, riñones, y tejido glandular como la hipófisis, las suprarrenales, los ovarios, los testículos y las vesículas seminales, y un retraso en el crecimiento corporal. Alvear y cols., (1986), observaron un retraso en la maduración ósea de niños mayores de 4 años de edad que sufrieron desnutrición calórica y proteínica. También se ha observado la disminución del contenido de proteínas, del ADN Y ARN, así como en el peso cerebral (Wurtman, 1982), del cerebelo y del tallo cerebral de niños que fallecieron a causa del marasmo severo (Winick y cols., 1970).

La desnutrición aplicada a partir del nacimiento en la rata, reduce el incremento normal del contenido de RNA cerebral

total, así como el número de células cerebrales. Esto persiste, aún si se aplica la rehabilitación nutricional después del período de división celular. Por el contrario, la desnutrición posterior al destete, en la rata, ocasiona la reducción en la proporción de DNA/proteína reversible por rehabilitación nutricional (Winick y cols., 1970).

Como se mencionó, Fish y Winick (1969) establecieron que los efectos de la desnutrición sobre el crecimiento celular, dependen del patrón de desarrollo en el momento en el que ocurre la desnutrición. Es así, como la desnutrición pre y posnatal en la rata, altera el número de células totales en el cerebro (Zamenhof y cols., 1971).

Por lo anterior, es importante establecer el momento en el cual es llevada a cabo la restricción nutricional; ya que, si sucede prenatalmente, se alterará la fase de proliferación neuronal en la corteza cerebral de la rata, y si sucede posnatalmente, altera la proliferación glial (Bass y cols., 1970, Siassi y cols., 1973), y en consecuencia, se observa una reducción en el grosor de la corteza cerebral (Clark y cols., 1973) y una definición muy pobre de los estratos corticales (Bass y cols., 1970). Además, se ha demostrado en ratones, que la desnutrición posnatal disminuye la densidad neuronal debido al retardo en la maduración de las capas corticales (Leuba y Rabinowicz, 1979a). Los estudios anatómicos han descrito una disminución en el número y extensión de las dendritas y de los procesos gliales, debido a la desnutrición posnatal (Bass y cols., 1970, Salaz y cols., 1974), dando origen a cambios

profundos en los procesos de maduración neuronal de la neocorteza en la rata con secuelas permanentes posibles (Cordero y cols., 1985). Sin embargo, se ha observado que el aumento y maduración de las ramificaciones dendríticas y de espinas, es menor en la desnutrición posnatal que en la prenatal (Leuha y Rabinovitz, 1979a,b).

Por otra parte, los estudios en cerebelo han demostrado que la desnutrición afecta a las células cuya diferenciación y migración ocurren durante el período crítico originando la reducción en el número de células de la capa granular germinal externa e interna (Barnes y Altman, 1973) lo cual está correlacionado con el retraso en el desarrollo enzimático observado en ratas pre y posnatalmente desnutridas (Sima y Persson, 1975). Otros estudios, han demostrado la reducción en la proporción de células granulares, en cesta y células gliales en relación a las de Purkinje (Clos y cols., 1977). Recientemente, se ha observado el retraso en el proceso de foliación cerebelar en los fetos de ratas desnutridas (Conradi y Muntzinn, 1985). Por otro lado, el proceso de la mielinización neuronal también se encuentra retardado por efecto de la desnutrición (Kriegman y cols., 1976).

Los estudios bioquímicos del efecto de la desnutrición sobre la concentración de algunos neurotransmisores en las áreas cerebrales, no han mostrado resultados consistentes. Por un lado, Shoemaker (1971) determinó que los niveles cerebrales de noradrenalina (NA) y dopamina se encuentran disminuidos. De la misma forma, Ramanamurthy, (1977) obtuvo

niveles disminuidos de las aminas biogénicas (serotonina, dopamina y noradrenalina) en distintas áreas del cerebro. Por el contrario, Sobotka y cols. (1974), obtuvieron una elevada concentración de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA), en el tallo cerebral, de ratas desnutridas posnatalmente, sin embargo encontraron una disminución en la actividad de la acetilcolinesterasa, la cual actúa sobre las sinapsis del sistema colinérgico. Lo cual probablemente puede explicar el estado de intensa emocionalidad observado en ratas desnutridas. Asimismo, Morgane y cols. (1978), tratando de imitar las complejas condiciones de la desnutrición en los humanos, estudiaron el efecto de una dieta baja en proteína (8% de caseína), impuesta pre y posnatalmente en la rata, sobre los niveles de 5-HT, 5-HIAA y NA en diversas áreas cerebrales, desde el nacimiento hasta los 300 días de edad y obtuvieron niveles elevados de esta sustancia en los sujetos desnutridos. En los estudios electrofisiológicos realizados por Belmar y Lara (1985), se obtuvo una amplitud menor en los potenciales evocados, junto con un elevado nivel de noradrenalina.

Puesto que las distintas formas de desnutrición parecen afectar de manera diferente los niveles de neurotransmisores cerebrales, pudiesen estar involucrados múltiples factores que modulan la transmisión sináptica (Belmar y Lara, 1985). Por consiguiente, se ha postulado que el desarrollo de los neurotransmisores varía en las diversas áreas cerebrales, y por lo tanto, junto con los cambios estructurales, bioquímicos

y electrofisiológicos, ocurren cambios funcionales en las estructuras del SNC, ocasionados por la desnutrición (Morqane y cols., 1978).

Recientemente, se ha suscitado un gran interés por el estudio de la interacción entre la desnutrición y los cambios ambientales, y sus efectos sobre la conducta. Al respecto, Barnes (1976) mencionó que en los países en vías de desarrollo, donde la desnutrición se presenta acompañada de la pobreza, se observa una disminución en el desarrollo intelectual de los individuos. Sin embargo, el problema de la desnutrición no se presenta en una forma aislada, sino junto con otros factores, tales como la privación de la estimulación social, sensorial y ambiental, observada generalmente en niños.

Los estudios conductuales en animales desnutridos han demostrado una mayor respuesta a los estímulos aversivos, lo que indica que la desnutrición severa experimentada en las etapas tempranas de vida puede ocasionar alteraciones conductuales profundas de mayor duración, pudiendo llegar a ser permanentes (Levitsky y Barnes, 1972). Por otro lado, se ha observado que los efectos conductuales causados por la desnutrición temprana se ven acrecentados por el aislamiento ambiental. De este modo, se han estudiado los aspectos de estimulación sensorial temprana, con el propósito de atenuar los efectos a largo plazo ocasionados por la desnutrición. La existencia de una interacción adecuada entre la nutrición temprana y los estímulos sensoriales durante el desarrollo, favorecen el establecimiento de los circuitos neuronales

necesarios para la expresión conductual normal de los individuos.

Ha sido mencionado, que el retraso en la maduración de los sistemas sensoriales y en la mielinización de la rata por efecto de la desnutrición, origina cambios de la percepción durante la fase temprana del desarrollo. Por lo tanto, fisiológicamente se encuentra menos capacitada para integrar la información proveniente del ambiente circundante. Este retraso se observa en los mecanismos de adquisición de los patrones locomotores en los animales desnutridos, de la conducta exploratoria y se observa en consecuencia, la una reducción de la exposición del individuo a los estímulos ambientales (Levitsky y Barnes, 1972). En estudios conductuales en crías de hembras desnutridas, sometidas a pruebas del tipo campo abierto, se demostró que desempeñan una mayor actividad en un ambiente que les resulta familiar, que los controles (Smart, 1974).

Forbes y cols. (1977), efectuando electrocorticogramas en ratas sometidas pre y posnatalmente a una dieta hipoproteínica con el propósito de analizar los diversos estados de vigilancia (VIG, SOL y MOR) durante un periodo de 24 horas, detectaron cambios en la distribución de las fases de sueño, en especial la fase de sueño MOR, y además, durante la fase de obscuridad el aumento de la duración del sueño MOR. Salas y cols. (1983), observaron que los ciclos de sueño se ven interrumpidos constantemente y que la fase de vigilia aumenta.

En cuanto a la actividad eléctrica, se ha demostrado en

el electrocorticograma (ECG) de ratas desnutridas, un retraso en la adquisición del patrón de actividad eléctrica del adulto (Salas y Cintra, 1975), así como una proporción mayor del SOL durante las diversas fases del desarrollo (Salas y cols., 1983).

Muchos de los sustratos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de la actividad del sueño están documentados en animales normales. Los estudios neuroanatómicos en ratas, han demostrado que entre los efectos ocasionados por la desnutrición hipoproteínica en las estructuras cerebrales involucradas en el control de las fases del ciclo de sueño y vigilia, tales como el núcleo rafe dorsal, el locus coeruleus y la corteza cerebral, se presentan diferentes patrones de adaptación en sus tipos celulares (Cintra y Díaz-Cintra, 1985, Díaz-Cintra y cols., 1981, 1984).

Con el objeto de entender los efectos que ocasiona la desnutrición hipoproteínica durante el desarrollo cerebral de la rata, se ha estudiado el ciclo de sueño y vigilia durante distintas etapas de la vida del animal como un índice de la integridad funcional de las diversas estructuras relacionadas con el proceso homeostático, y de tal modo, se ha despertado un gran interés por el estudio de la ritmicidad circádica en diversas funciones corporales.

Al NSD del hipotálamo se le atribuye la regulación de un gran número de funciones corporales que exhiben ritmicidad circádica, entre estas las fases del ciclo de sueño y vigilia. Existen algunos estudios anatómicos del NSD en animales desnutridos, en función de sustrato, para relacionarlos con un

estudio morfométrico comparativo en animales desnutridos.

De esta forma, si la desnutrición pre y posnatal en la rata, ocasiona ciertas alteraciones en la ritmicidad circádica de algunas de las fases del ciclo de sueño y vigilia, entonces las estructuras involucradas en el control de estos ritmos, como el NSG, estarán alteradas de diferente forma, dependiendo tanto del tipo de desnutrición instalada, como del momento en el cual esta se lleva a cabo y además, de la edad del sujeto.

Por consiguiente, el propósito fundamental del presente trabajo, fue realizar un estudio morfométrico comparativo en las células del NSG, situadas en distintas áreas dentro del núcleo, en animales normales alimentados con una dieta de 25% de caseína, y en animales alimentados con dietas hipoproteínicas de 6% y 8% de caseína respectivamente, para establecer un patrón de crecimiento neuronal entre las condiciones experimentales anteriores y las edades de 30, 90 y 220 días.

MATERIAL Y METODOS

I. Manejo de animales y dietas

Para el presente estudio se emplearon 15 ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley con un peso corporal entre 175-200 g y el mismo número de machos entre 325-350 g, cuya edad fluctuó entre los 60 y 70 días al inicio del experimento. Fueron alojados bajo condiciones controladas de un ciclo de luz y oscuridad de 12:12 horas (luz de las 8:00 a las 20:00) y una temperatura de $24^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ en el interior de un cuarto del Bioterio del IIBM.

Además, se utilizaron dietas especiales, las cuales tuvieron las siguientes características: fueron dietas en polvo las cuales difirieron en su contenido porcentual de proteína; isocalóricas, compensándose la deficiencia en calorías de las dietas hipoproteínicas con carbohidratos (Tabla I), y una elevada cantidad de grasa en relación al alimento comercial. Por otra parte, la caseína se utilizó como fuente de proteína, pero debido a que ésta contiene un bajo contenido en aminoácidos sulfurados, las dietas fueron suplementadas con l-metionina. El contenido de agua de la dieta, fue menor en relación a la dieta comercial, sin embargo la grasa le proporcionó la consistencia húmeda necesaria. La diferenciación de las dietas empleadas se llevó a cabo adicionando colorantes inertes, uno distinto en cada dieta

TABLA I

COMPOSICION NUTRICIONAL DE LAS DIETAS*

COMPONENTES	D I E T A S		
	Normal	Hipoproteínicas	
	25% caseína	8% caseína	6% caseína
Proteína	21.8	7.0	5.3
Grasa	15.4	15.1	15.0
Carbohidratos	50.9	67.9	68.0
Mezcla de sales **	4.7	4.7	4.7
Mezcla de vitaminas	1.0	1.0	1.0
Agua	2.2	1.0	1.2
Elemento no nutritivo	4.2	4.2	4.2
kcal/g	4.3	4.3	4.3

*Las dietas se suplementaron con l-metionina (0.4%) debido a la ausencia de este aminoácido esencial en la caseína.

** Se agregó fosfato de calcio monobásico y carbonato de zinc.

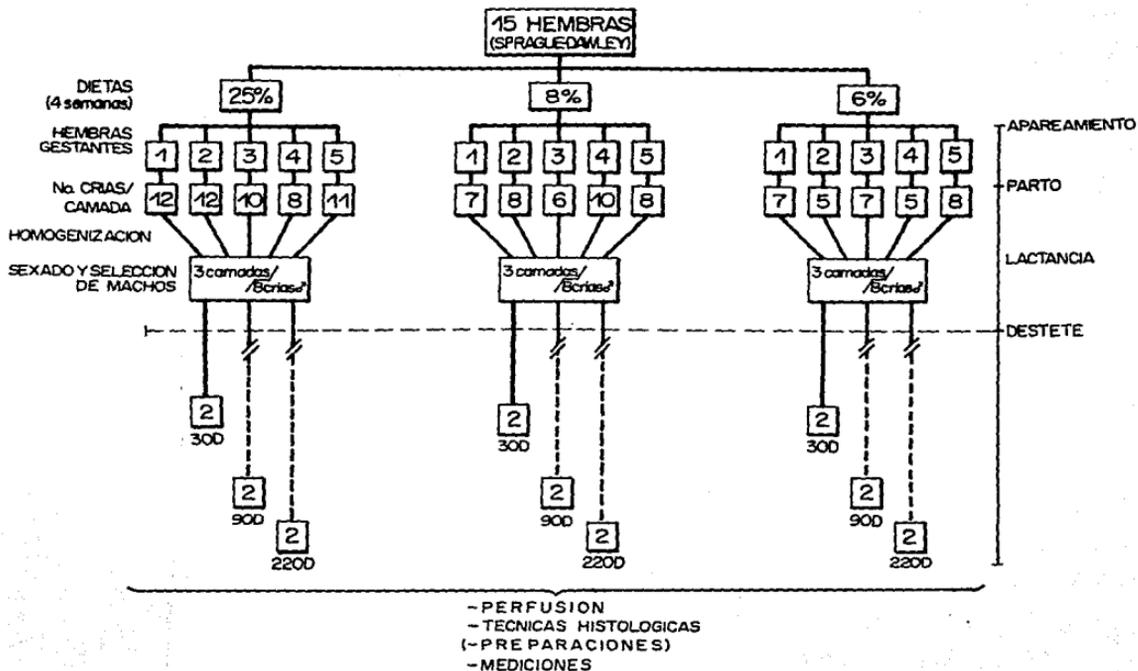
experimental (25%, 8% y 6% de caseína). Las dietas fueron suministradas a libre acceso a las ratas, en comederos especialmente diseñados para evitar el desperdicio de las mismas.

El procedimiento para la obtención de los sujetos experimentales en nuestro estudio fue el mismo descrito en estudios previos (Resnick y cols., 1982, Resnick 1988). De manera breve consistió en dividir en 3 lotes el número total de hembras (15), de tal forma que cada lote de hembras (5) fue alimentado con una dieta experimental distinta (25%, 8% y 6% de caseína) durante un periodo que abarco, 4 semanas antes del periodo de apareamiento, durante la gestación (3 semanas), la lactancia (3 semanas) y el resto de la vida del animal. De tal modo que, un lote consumió una dieta control (25% de caseína) y dos lotes consumieron dietas hipoproteínicas de 8% y 6% de caseína respectivamente, cubriendo de esta forma las etapas prenatal y posnatal del desarrollo (Cuadro I).

Los machos seleccionados para aparearse con las hembras en nuestro estudio, consumieron durante una semana anterior al apareamiento una dieta semejante a la suministrada a las hembras del lote correspondiente.

Las crías obtenidas en cada condición experimental fueron mezcladas y repartidas al azar en camadas de 8 crías por hembra lactante, con el propósito de incrementar la homogeneidad genética y las variaciones individuales en cada camada de la población. A los 21 días de edad, las crías fueron destetadas y mantenidas dentro de la misma dieta que sus madres, hasta el

CUADRO 1



momento en el cual fueron sacrificadas para el estudio neurohistológico (30, 90 y 220 días de edad). De esta forma, para la realización del presente estudio se utilizaron un total de 18 ratas Sprague-Dawley (únicamente machos y dos por edad y dieta experimental consumida).

II. Procedimiento histológico

Una vez que los animales alcanzaron la edad señalada en las tres condiciones experimentales, cada uno fue anestesiado con una dosis de 40 mg/kg de peso corporal de pentobarbital sódico (Anestesal), administrado por vía intraperitoneal (Harkness y Wagner, 1977). Poco después, bajo un plano anestésico profundo se realizó la perfusión por vía intracardiaca con una solución de formalina amortiguada a un pH de 7.4. Veinticuatro horas después, fue removido el cerebro de la cavidad craneana y colocado en frascos conteniendo una solución de formaldehído al 40% durante 24 horas, lo cual proporcionó una consistencia más firme al tejido cerebral.

Siguiendo las coordenadas descritas en el atlas estereotáxico de Paxinos (1982), delimitamos del cerebro el bloque de tejido cerebral conteniendo al núcleo supraquiasmático (NSQ). Del bloque se obtuvieron por congelación cortes frontales de 50 μ m de grosor en un microtomo Leitz Wetzlar modelo 1310. Manteniéndolos en seriación dentro de un recipiente con agua destilada en su interior. Más tarde, por flotación fueron montados en los portaobjetos en un medio

con gelatina al 2% dejándolos secar a temperatura ambiente durante 5-7 días. Una vez secos, fueron sometidos a la tinción mediante la técnica de Nissl (violeta de cresilo al 0.1%), lo cual posteriormente nos permitió identificar los cuerpos neuronales y las estructuras nucleares en el tejido cerebral, en este caso del NSQ (Fig. 6).

III. Procedimiento morfométrico

Con la ayuda del atlas estereotáxico de Paxinos (1982), el material procesado histológicamente de cada condición experimental, fue analizado visualmente con un microscopio Zeiss de campo claro, localizando y delimitando al NSQ, para su análisis morfométrico posterior. Todas las preparaciones histológicas fueron identificadas con una clave tomada de una tabla de números al azar, de tal modo que, las mediciones fueron realizadas a ciegas, por un solo experimentador.

Antes de llevar a cabo el análisis morfométrico, colocamos una rejilla de mediciones en el ocular, para calibrar cada uno de los objetivos, mediante una escala graduada, lo que nos permitió la lectura en micras (μm) de nuestro material. La delimitación y medición macroscópica del NSQ en su aspecto frontal la efectuamos con ayuda de una "cámara lucida" previamente calibrada. Las mediciones del área del núcleo se realizaron con los objetivos 10x y 40x de inmersión, cuyo poder de resolución es de 0.40 y 0.28 μm respectivamente.

Por otra parte, de los tipos celulares identificados en

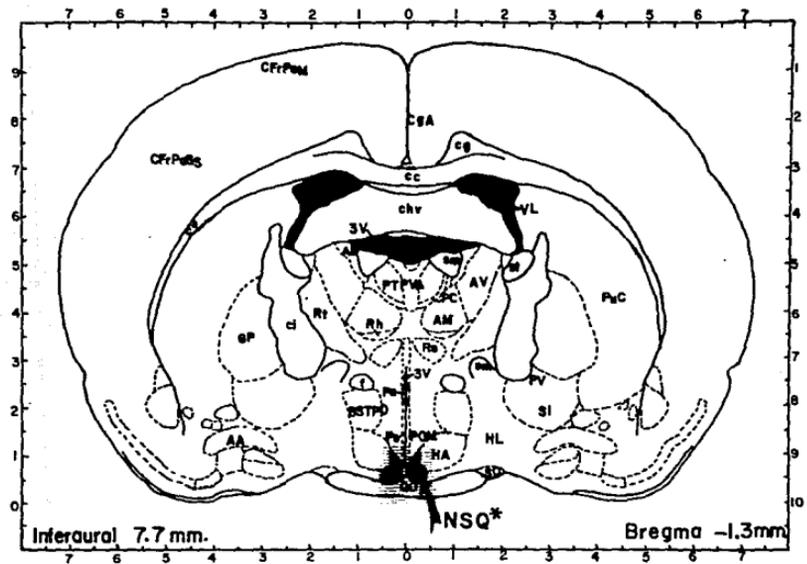


Fig. 6. Corte frontal del cerebro de la ratas, en el cual se indica con una pantalla la ubicación del NSQ y las estructuras que lo rodean: QO, quiasma óptico; 3V, tercer ventrículo; HA y HL, áreas hipotalámicas anterior y lateral; Pe y Pa, núcleos periventricular y paraventricular hipotalámicos; POM, Área preóptica medial; SO, núcleo supraóptico.

cortes frontales de la porción anterior, media y posterior del núcleo; medimos únicamente los que presentaron núcleo y nucleolos bien definidos. Al mismo tiempo tomamos fotomicrografías de los diversos aspectos del núcleo, y el tamaño real de las mismas se consideró tomando en cuenta los aumentos del ocular (10x) y de los objetivos (3.2x y 16x), así como la distancia del fototubo, de tal forma que una fotografía tomada a 3.2x correspondió a un tamaño real de 25x ($3.2 \times 10 \div 1.25$) (Figs. 7 y 8).

Para la realización del análisis morfométrico de los tipos celulares identificados, delimitamos el contorno del núcleo por distinta densidad de células, en cuatro cuadrantes (Fig. 7) y en cada uno llevamos a cabo la medición del eje mayor (MA) y menor (ME) de 3 células de cada tipo, en cortes a nivel de la porción anterior, media y posterior del NSQ de cada condición experimental (Figs. 9, 10, 11 y 12). Finalmente, los datos obtenidos de dicho análisis, fueron procesados mediante la prueba de "t" Student para el análisis comparativo de los efectos de las dietas, así como el factor edad.

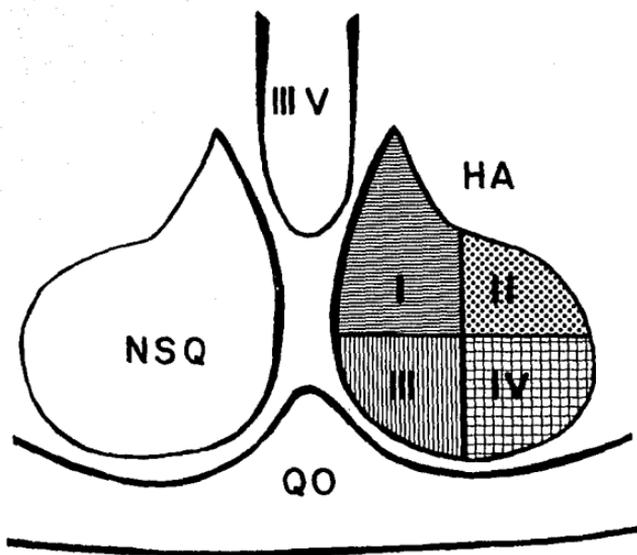


Fig. 7. División esquemática por cuadrantes (I, II, III y IV) del área del NSQ en las cuales se realizó el muestreo de los tipos celulares. Abreviaturas: III v, tercer ventrículo; HA, área hipotalámica anterior; QO, quiasma óptico.



Fig. 8. Cortes frontales del cerebro de rata teñidos con la técnica de Nissl. En A se muestra la ubicación bilateral del NSQ a 25X. En B, un acercamiento de la foto anterior (128X), y en C se indican las células del NSQ tipificadas como multipolares (m), fusiformes (f) y ovoides (o). Las barras indican 420µm, 160µm y 40µm respectivamente.

RESULTADOS

En la figura 9, se presentan los efectos de las dietas normal (25%) e hipoproteínicas (8% y 6%), en el tamaño del eje mayor y el menor del cuerpo celular de las neuronas fusiformes en los cuatro cuadrantes estudiados del NSD a las edades de 30, 90 y 220 días. En el primer cuadrante (CI), los animales desnutridos con la dieta de 6%, presentaron dos reducciones significativas en el eje mayor del soma ($p < 0.001$) a los 30 y 90 días, mientras que en el eje menor del perikarion de las ratas alimentadas con las dietas de 8% y 6%, mostraron reducciones significativas ($p < 0.01$ y $p < 0.001$) respectivamente a los 90 días y los animales desnutridos con la dieta de 8% redujeron significativamente éste parámetro ($p < 0.001$) a los 220 días. En el segundo cuadrante (CII), en las ratas desnutridas con 8%, se disminuyó significativamente el eje mayor del cuerpo celular a los 90 días ($p < 0.01$) y las ratas de la dieta de 6% mostraron dos reducciones significativas con una $p < 0.001$ en ambas a los 30 y 90 días y un aumento similar a los 220 días ($p < 0.01$) en el eje mayor del soma. En cuanto al eje menor del soma de las ratas desnutridas con 8%, mostró una reducción significativa a los 90 días ($p < 0.05$) y otra a los 220 días ($p < 0.01$), en cambio los animales del 6%, mostraron reducciones significativas a los 30 y 90 días ($p < 0.001$ y $p < 0.01$) y un aumento significativo a los 220 días ($p < 0.02$) en el mismo eje. En el tercer cuadrante (CIII), en los animales desnutridos con una dieta del 8% se redujo

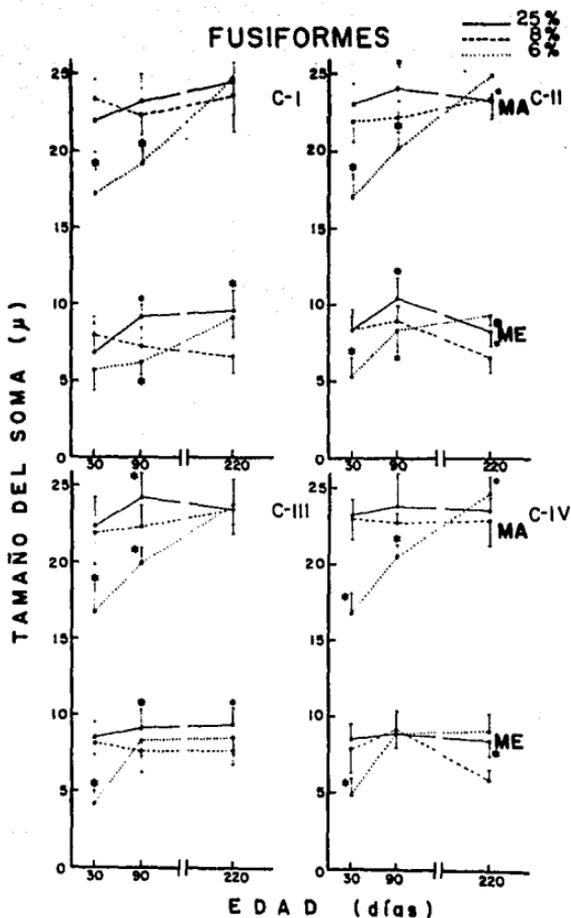


Fig. 7. Efecto de dos dietas hipoprotéicas (8% de caseína, en líneas interrumpidas y 6%, en líneas punteadas) y una dieta control (25% caseína, líneas continuas) en el tamaño del soma de las células fusiformes del NSQ, en su eje mayor (MA) y menor (ME) en cada uno de los 4 cuadrantes estudiados (I al IV) en ratas de 30, 90 y 220 días. Obsérvese que la dieta de 6% ocasionó mayores cambios significativos, en especial en los cuadrantes II y III. A los 90 días hubo una reducción del tamaño del soma en ambos ejes en la mayoría de los cuadrantes. Significancias: ● $p < 0.05$; ○ $p < 0.02$; * $p < 0.01$; ** $p < 0.001$

significativamente el eje mayor del soma a los 90 días ($p < 0.001$), mientras que en las ratas que fueron alimentadas con la dieta de 6%, redujeron significativamente el tamaño del eje mayor celular a los 30 y 90 días con $p < 0.001$ en ambos. El eje menor de las células fusiformes de las ratas desnutridas con la dieta del 8%, mostró dos reducciones significativas ($p < 0.05$ y $p < 0.01$) a los 90 y 220 días de edad y solo se encontró una reducción significativa a los 30 días ($p < 0.001$) en los animales de 6%. En el cuarto cuadrante (CIV), solo las ratas desnutridas con la dieta del 6% mostraron reducciones significativas en el eje mayor de este tipo celular a los 30 y 90 días, ($p < 0.001$) en ambas, mientras que a los 220 días presentaron un incremento ($p < 0.01$). El eje menor del soma, mostró en los animales alimentados con 8% de caseína, una reducción significativa ($p < 0.001$) a los 220 días, y otra similar a los 30 días ($p < 0.001$), en las ratas de la dieta del 6%.

La figura 10 muestra los efectos de la dieta normal (25%) y las dietas bajas en proteína (8% y 6%) en el tamaño de los ejes mayor y menor del cuerpo celular de las células multipolares en los cuatro cuadrantes estudiados del NSQ a las edades de 30, 90 y 220 días. En el primer cuadrante (CI), los animales desnutridos con la dieta del 8% mostraron una reducción significativa ($p < 0.05$) en el eje mayor del cuerpo celular a los 30 días y las ratas alimentadas con la dieta del 6% mostraron dos reducciones significativas de $p < 0.001$ a los 30 y 90 días en el mismo eje. EL eje menor de esas células solo

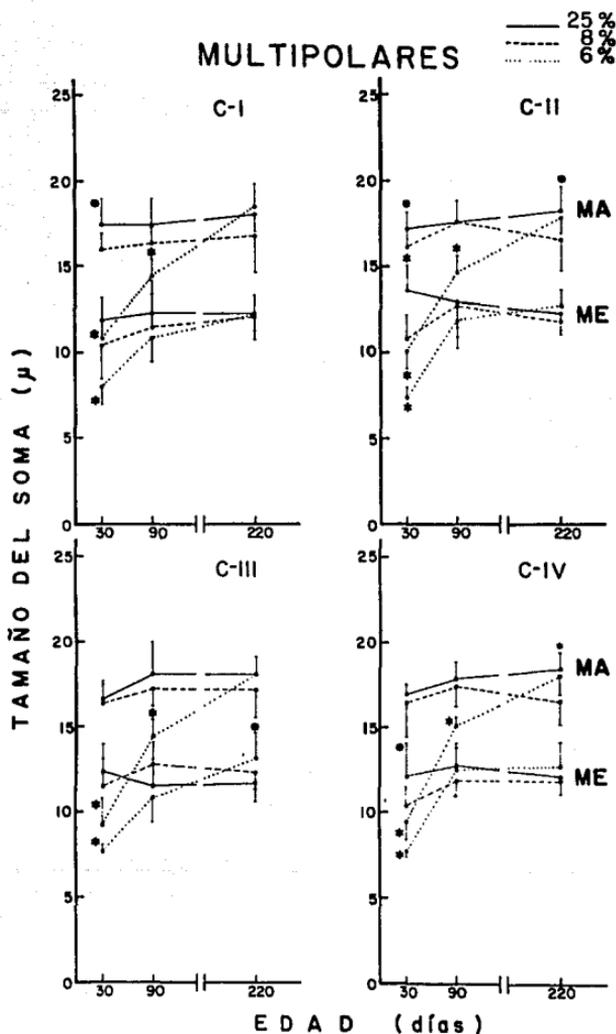


Fig. 10. Efecto de dos dietas hipoproteínicas en el tamaño del soma de las células multipolares del NSD en su eje mayor y menor (ver abreviaturas en fig.9). Nótese que la dieta de 6% provocó mayores cambios significativos, especialmente en los cuadrantes II y IV, de tanto que a la edad de 30 días ambos ejes fueron afectados por las dietas (6% y 8%) en la mayoría de los cuadrantes. Significancias: * $p < 0.05$; * * $p < 0.01$; * * * $p < 0.001$

presentó a los 30 días una reducción significativa ($p < 0.001$) en las ratas alimentadas con la dieta del 6%. En el segundo cuadrante los animales desnutridos con la dieta de 8%, mostraron dos reducciones significativas de $p < 0.05$ en ambas, a los 30 y 220 días en el eje mayor del cuerpo celular mientras que las ratas de 6% presentaron dos reducciones significativas de ese mismo eje, de $p < 0.001$ a los 30 y a los 90 días. El eje menor se redujo significativamente ($p < 0.001$) a los 30 días en los animales desnutridos con la dieta de 8% y en esa misma edad los alimentados con la dieta del 6% mostraron una reducción similar en ese eje ($p < 0.001$). En el tercer cuadrante (CIII), solo los animales de la dieta de 6%, mostraron dos reducciones significativas en el eje mayor de las células multipolares de $p < 0.001$ a los 30 y 90 días. En el eje menor, estos mismos animales presentaron una reducción a los 30 días ($p < 0.001$) y un aumento a los 220 días ($p < 0.05$). El cuarto cuadrante mostró reducciones significativas en el eje mayor de los animales de 8% a los 220 días ($p < 0.01$) y los animales de la dieta del 6% redujeron ese mismo eje a los 30 y 90 días ($p < 0.001$, en ambos). El eje menor presentó una reducción significativa a los 30 días ($p < 0.05$) en los animales de 8% y en la misma edad, los animales de la dieta del 6%, redujeron ese eje significativamente ($p < 0.001$).

La figura 11 presenta los efectos de la dieta de 25% de caseína y las dietas de 8% y 6% en el tamaño del eje mayor y del eje menor del soma de las células ovoides en los cuatro cuadrantes en que se dividió al NSQ, a las edades de 30, 90 y

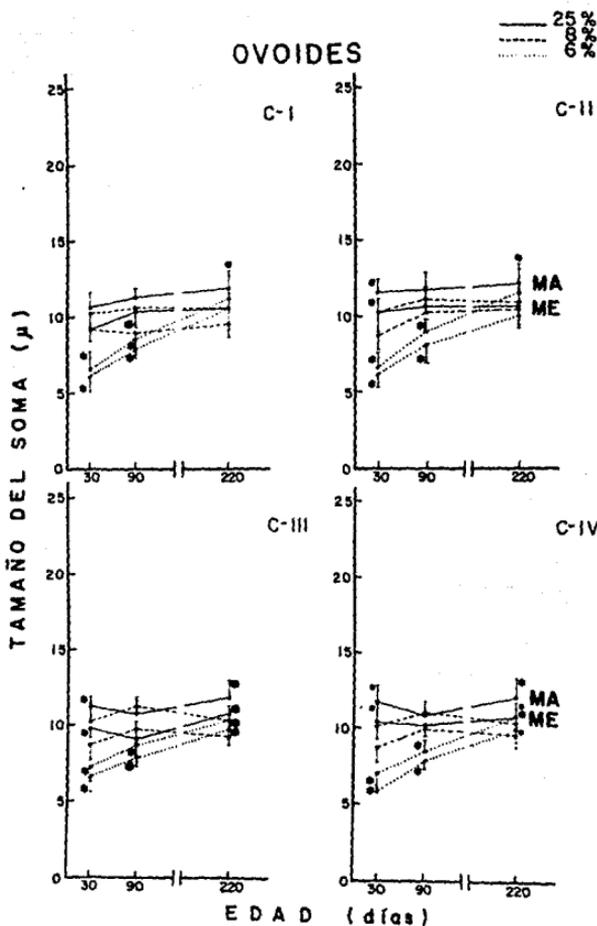


Fig. 11. Efecto de dos dietas hipoproteínicas sobre el tamaño del soma de las células ovoides del NSO en su eje mayor y menor (ver abreviaturas en fig. 9). La dieta del 8% ocasionó la mayoría de reducciones significativas en las 3 edades, particularmente en los cuadrantes III y IV en ambos ejes, y la dieta de 25% produjo reducciones similares a los 30 y 220 días. Significancias: * $p < 0.05$; ● $p < 0.02$; * $p < 0.01$; * $p < 0.001$

220 días. En el primer cuadrante (CI), los animales de la dieta de 8% presentaron una reducción significativa ($p < 0.05$), a los 220 días en el eje mayor del soma y los desnutridos con la dieta de 6%, mostraron dos disminuciones significativas ($p < 0.001$) a los 30 y 90 días en ese eje. En el eje menor se observó en las ratas de la dieta de 8%, una reducción significativa a los 90 días ($p < 0.02$) y en la dieta del 6%, se presentaron otras dos a los 30 y 90 días, ambas con $p < 0.001$, en el mismo eje. En el segundo cuadrante (CII), las ratas desnutridas con el 8% mostraron dos reducciones significativas del eje mayor a los 30 y a los 220 días con $p < 0.05$ y en los animales del 6% la reducción en ese eje se presentó a los 30 y 90 días con $p < 0.001$ en ambas. El eje menor mostró en las ratas del 8% una reducción significativa a los 30 días ($p < 0.05$) y en las ratas del 6%, se presentaron dos reducciones significativas a los 30 y 90 días ($p < 0.001$). En el tercer cuadrante (CIII), el eje mayor de las células ovoides, se redujo significativamente en los animales de la dieta de 8% a la edad de 30 y 220 días, con $p < 0.05$ y $p < 0.02$ respectivamente, y en los de la dieta del 6%, se presentaron tres disminuciones significativas a los 30 y 90 días ($p < 0.001$) y a los 220 días ($p < 0.05$). En el eje menor se presentaron dos reducciones significativas en las ratas de 8% a los 30 ($p < 0.05$) y 220 días ($p < 0.02$), y en las de la dieta del 6% a los 30 días se presentó una reducción significativa de $p < 0.001$ y a los 90 y 220 días de $p < 0.02$ en ambas edades. Finalmente, en el cuarto cuadrante (CIV),

los animales de la dieta del 8% presentaron dos disminuciones significativas de $p < 0.01$ a los 30 días y de $p < 0.001$ a la edad de 220 días en el eje mayor de las células ovoides, en tanto que las ratas desnutridas con la dieta de 6%, mostraron disminuciones significativas en las tres edades, $p < 0.001$ a los 30 y 90 días y $p < 0.01$ a los 220 días en ese eje. En el eje menor las ratas desnutridas con la dieta de 8%, presentaron reducciones significativas a los 30 ($p < 0.01$) y a los 220 días ($p < 0.05$), y las desnutridas con la dieta de 6%, mostraron dos reducciones significativas de $p < 0.001$ a los 30 y 90 días y de $p < 0.01$ a los 220 días.

La figura 12 muestra los efectos de la dieta normal (25%) e hipoproteínicas (8% y 6%), en el tamaño del soma medido por el eje mayor y menor, en los tres tipos celulares multipolares, fusiformes y ovoides en el total de los cuatro cuadrantes muestreados. Los animales desnutridos con la dieta de 8%, presentaron en el eje mayor de las células multipolares dos reducciones significativas a los 30 días ($p < 0.01$) y a los 220 días ($p < 0.001$) y las desnutridas con la dieta el 6% redujeron significativamente ese mismo eje a los 30 y 90 días de edad ($p < 0.001$). El eje menor en las ratas de la dieta de 8%, presentó una reducción significativa a los 30 días ($p < 0.001$), mientras que los animales del 6%, mostraron reducciones significativas a los 30 ($p < 0.001$) y 90 días ($p < 0.05$), así como un incremento similar a los 220 días ($p < 0.01$).

En las células fusiformes, las ratas de la dieta de 8% presentaron en el eje mayor una reducción significativa (p

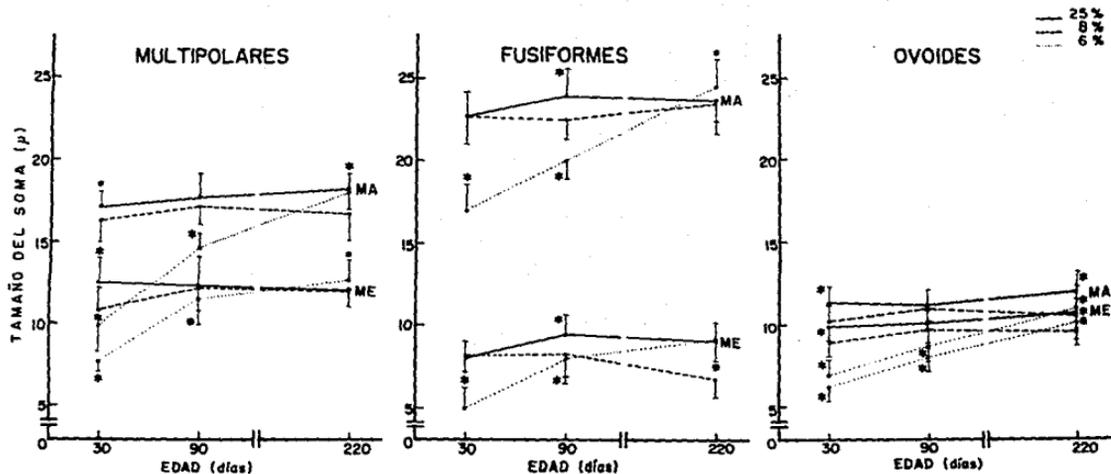


Fig. 12. Efectos totales de dos dietas hipoproteínicas sobre el tamaño del soma de las células multipolares, fusiformes, y ovoides del NSQ en sus ejes mayor y menor (ver abreviaturas en fig. 9). Nótese que la dieta de 6% de caseína ocasionó mayores reducciones significativas en todas las edades que la dieta de 8%. Significancias: * $p < 0.05$; • $p < 0.02$; * $p < 0.01$; * $p < 0.001$

< 0.001) a los 90 días y otra similar a los 220 días ($p < 0.05$), en cambio los animales desnutridos con la dieta del 6% exhibieron reducciones significativas a los 30 y 90 días, ambas con $p < 0.001$ y un aumento significativo de $p < 0.01$ a los 220 días. El eje menor de los animales de 8% disminuyó en forma significativa a los 90 días ($p < 0.001$), en cambio los animales de 6% presentaron dos reducciones significativas de $p < 0.001$ a los 30 y 90 días.

El eje mayor de las células ovoides de los animales de la dieta de 8%, presentó dos reducciones significativas de $p < 0.001$, a los 30 y 220 días y en las ratas de la dieta de 6%, se presentaron reducciones significativas de $p < 0.001$ en las tres edades. Finalmente el eje menor, mostró reducciones significativas en las ratas alimentadas con la dieta de 8% a los 30 y 220 días con $p < 0.001$, mientras que las ratas que consumieron la dieta del 6%, presentaron dos reducciones significativas de $p < 0.001$ a los 30 y 90 días y una reducción significativa de $p < 0.05$ a los 220 días.

Los cambios que ocurren por efecto de la edad en los tres tipos celulares del NSQ de ratas alimentadas a base de dietas con 25%, 8% y 6% de caseína, se presentan de la figura 13 a la 16. La figura 13 muestra los cambios que se presentan en las células fusiformes en los cuatro cuadrantes en el eje mayor y menor del soma. La dieta del 6% fue la que produjo mayor número de cambios significativos, principalmente incrementos en el eje mayor entre las tres edades, mientras que en el eje menor solo se observaron cinco incrementos significativos. La

FUSIFORMES

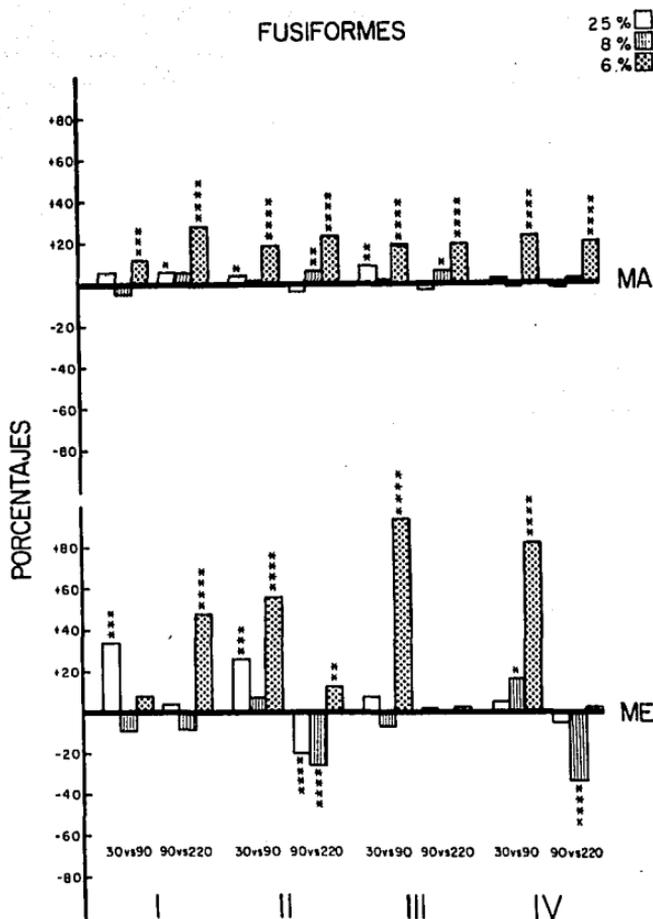


Fig. 13. Porcentajes de cambio por la edad (30 vs 90, 90 vs 220 días), en el tamaño del eje mayor (MA) y menor (ME) de las células fusiformes del NSG en los cuadrantes (I al IV), en animales control (25%) y desnutridos (8% y 6%). Nótese los aumentos significativos en ambos ejes en los animales desnutridos con 6% y 8% de caseína. En los cuadrantes II y IV se observan reducciones significativas en el eje menor de los animales desnutridos con 8% de caseína y en los animales control, a la edad de 220 días. Significancias: *p < 0.05; **p < 0.02; ***p < 0.01; ****p < 0.001

dieta del 0% solo produjo dos incrementos significativos en el eje mayor del soma a los 220 días y uno en el eje menor a los 90 días, mientras que a los 220 días, provocó 2 decrementos significativos en ese eje. Con la dieta del 25% se observaron dos incrementos significativos en el eje mayor a los 90 días y un incremento a los 220 días. El eje menor presentó dos incrementos significativos a la edad de 90 días y un decremento similar a los 220 días.

La figura 14 muestra los cambios encontrados en las células multipolares, y al igual que las fusiformes mostraron incrementos significativos en todas las edades en el eje mayor en todos los cuadrantes. En el eje menor se presentaron seis incrementos significativos entre las edades estudiadas con la dieta del 6%. En cambio la dieta del 8% solo produjo un incremento significativo a los 90 días en el eje mayor y tres incrementos similares en el eje menor en esa edad. Con la dieta normal de 25% solo se observó un incremento significativo en el eje mayor a los 90 días.

La figura 15 muestra los cambios que se encontraron por la edad en las células ovoides, como en los otros tipos celulares, la dieta de 6% produjo incrementos significativos en el eje mayor pero también en el eje menor entre todas las edades estudiadas. La dieta de 8% produjo tres incrementos significativos en el eje mayor a los 90 días y dos decrementos similares a la edad de 220 días, en cambio en el eje menor se observaron tres incrementos significativos a los 90 días. El eje mayor con la dieta de 25%, mostró un incremento

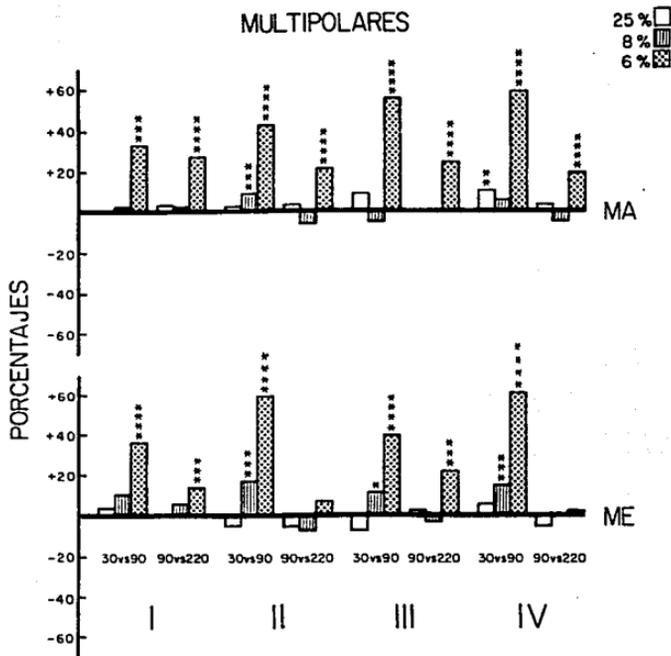


Fig. 14. Porcentajes de cambio por la edad (30 vs 90, 90 vs 220 días), en el tamaño del eje mayor (MA) y menor (ME) de las células multipolares del NSD en los cuadrantes I al IV), en animales control (25%) y desnutridos (8% y 6%). En ambos ejes se observan un mayor número de aumentos significativos del tamaño del soma por la edad en los animales desnutridos con la dieta de 8% en ambas comparaciones y menores cambios significativos con las otras dietas. Significancias: *p < 0.05; **p < 0.02; ***p < 0.01; ****p < 0.001

ESTA ES LA
 SERIE DE LA
 INVESTIGACION

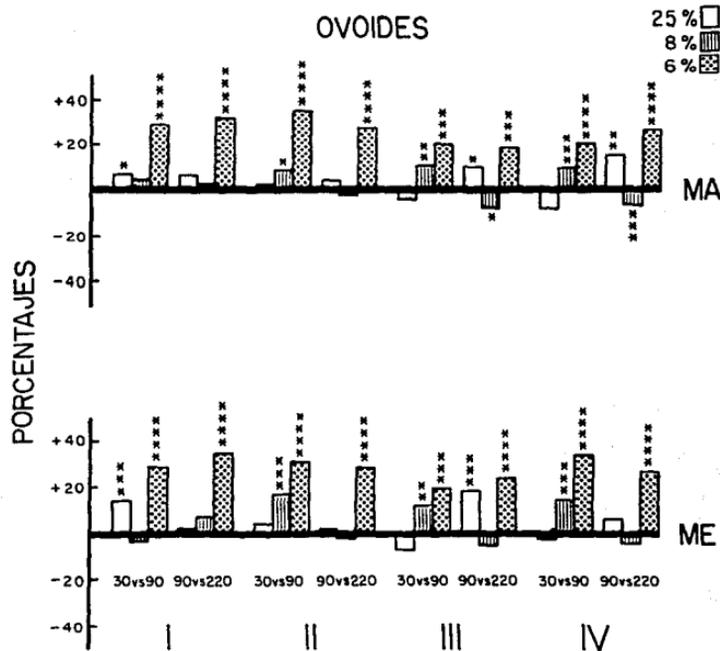


Fig. 15. Porcentajes de cambio por la edad (30 vs 90, 90 vs 220 días), en el tamaño del eje mayor (MA) y menor (ME) de las células ovoides del NSQ en los cuadrantes (I al IV) en animales control (25%) y desnutridos (8% y 6%). Ambos tipos se incrementaron significativamente en todas las comparaciones por la edad, en los animales desnutridos con la dieta de 6%. La dieta de 8% de caseína produjo incrementos significativos a los 90 días y disminuciones similares a los 220 días en ambos ejes, y la dieta del 25% mostró algunos incrementos a los 90 y 220 días. Significancias: *p < 0.05; **p < 0.02; ***p < 0.01; ****p < 0.001

significativo a los 90 días y otros dos similares a los 220 días, y por otro lado, el eje menor presentó aumentos significativos a las edades de 90 y 220 días. En la figura 16 se presentan los valores totales obtenidos en cada tipo celular. Las células multipolares con la dieta del 6% mostraron incrementos significativos en ambos ejes mayor y menor en todas las edades estudiadas. En cambio la dieta del 8%, produjo un incremento significativo en el eje mayor y otro igual en el eje menor entre 30 y 90 días. La dieta de 25% solo produjo 2 incrementos significativos en el eje mayor entre las edades estudiadas. Las células fusiformes mostraron en el eje mayor con la dieta del 6%, incrementos significativos entre las edades estudiadas, mientras que el eje menor presentó un decremento significativo a los 90 días y un incremento significativo a los 220 días. El eje mayor con la dieta de 8% mostró un incremento significativo a los 220 días y un decremento similar en el eje menor en la misma edad. El eje mayor con la dieta del 25% presentó un incremento significativo a los 90 días y el eje menor otro similar en esa edad.

Las células ovoides al igual que las multipolares, presentaron incrementos significativos en el eje mayor y menor con la dieta del 6% entre todas las edades estudiadas. En el eje mayor con la dieta de 8% se presentaron 2 incrementos significativos entre las tres edades y en el eje menor hubo un aumento significativo a los 90 días. Finalmente ambos ejes mayor y menor con la dieta del 25% mostraron incrementos significativos a la edad de 220 días.

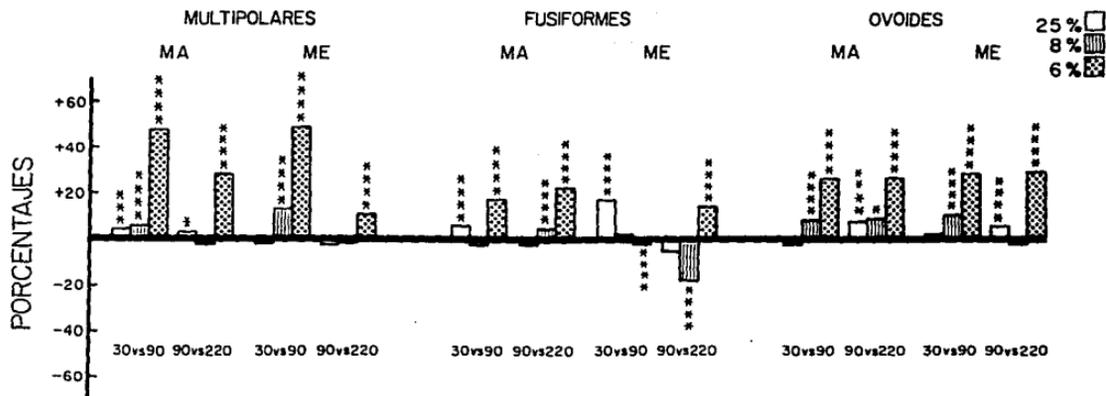


Fig. 16. Porcentajes de cambio totales por la edad (30 vs 90, 90 vs 220 días) en el tamaño del eje mayor (MA) y menor (ME) de las células multipolares, fusiformes y ovoides del NSG, en ratas control (25%) y desnutridas de caseína se observó la mayores cambios significativos en el tamaño del soma por la edad en todas las comparaciones y tipos celulares que en los animales de las dietas de 8% y 25% de caseína. Significancias: *p < 0.05; **p < 0.02; ***p < 0.01;

DISCUSION

En el presente trabajo se estudiaron los efectos de dos dietas hipoproteínicas con un contenido de 6% y 8% de caseína, sobre la células del núcleo supraquiasmático (NSQ) de la rata, tipificadas con la técnica de Nissl como fusiformes, multipolares y ovoides, analizadas a los 30, 90 y 220 días de edad y comparadas con animales control de las mismas edades alimentadas con una dieta de 25% de proteína. En general, se encontraron reducciones significativas en las mediciones del eje mayor y menor del soma por efecto de las dietas hipoproteínicas, así como mayor cantidad de aumentos significativos por la edad, en ambas mediciones.

Al efectuar las comparaciones entre los animales que consumieron las dietas de 25% y 6% de proteína, las células ovoides fueron las más afectadas en el eje mayor y menor del soma, principalmente a los 30 y 90 días; ya que de 24 comparaciones efectuadas en las tres edades, 20 de ellas mostraron reducciones significativas. Asimismo, los cuadrantes III y IV resultaron ser los más afectados por la desnutrición con 6% de caseína. En cambio la dieta con 8% de proteína produjo reducciones significativas en el tamaño celular, principalmente a los 30 y a los 220 días en los cuadrantes II al IV. Estos resultados revelan que el NSQ está constituido por una población celular distinta, concordando con reportes previos, en los que se ha encontrado que el NSQ tiene una población heterogénea de células, cuyos neurotransmisores

son diferentes y se distribuyen en forma distinta en la parte dorsomedial, sitio donde existe una población de interneuronas, muchas de las cuales producen péptidos y no reciben una proyección directa de la vía retinohipotalámica (Moore, 1982). También se ha reportado que las células en esta región, son más pequeñas y se encontraron más empaquetadas que en las porciones ventrolaterales (van den Pol, 1980). El componente ventrolateral tiene neuronas más grandes con una mayor cantidad de citoplasma, así como de sus organelos y reciben una proyección directa de la vía retinohipotalámica y otra vía indirecta del núcleo geniculado lateral ventral. Esta distribución distinta en componentes dorsal y ventrolateral, fue la que nos llevó a dividir al núcleo en cuadrantes, y de esta forma poder observar como fue afectado por la desnutrición, que como se comprobó produce efectos diferentes en el tamaño celular de acuerdo con la región y el tipo de dieta. Esta acción diferente de ambas dietas fue descrita por Resnick y cols. (1982) en relación al peso corporal y cerebral de las ratas desnutridas. Posiblemente otra explicación a este efecto se deba a que algunas células del NSD inician el desarrollo de ciertos ritmos circádicos en el estado embrionario a los 19 días de gestación y se prolonga hasta la segunda o tercera semanas posnatales (Shibata y Moore, 1987), que como se ha mencionado abarca el periodo de rápido crecimiento cerebral en la rata o periodo crítico, durante el cual se pueden producir daños que perduren a largo plazo.

La población celular tipificada como células fusiformes,

presentó un menor número de reducciones significativas en sus ejes celulares con la dieta del 6%, que el observado en las células ovoides, ya que de 16 comparaciones efectuadas a los 30 y 90 días, 14 fueron significativas. Sin embargo a los 220 días mostraron 3 incrementos significativos. Estos resultados recientemente han llamado la atención de algunos autores, ya que a pesar de la desnutrición, en ciertas edades se puede encontrar que los animales desnutridos alcanzan e inclusive sobrepasan el nivel del control en algunas mediciones efectuadas, como la densidad numérica de sinapsis o el rango del número de sinapsis por neurona (Bedi, 1987). En estas células fusiformes el cuadrante II, fue el que mostró el mayor número de cambios, o sea a un nivel dorsal y la dieta de 8% de proteína presentó un patrón diferente que en las células ovoides ya que las reducciones en el tamaño celular se presentaron a los 90 y a los 220 días, principalmente en los cuadrantes II y III.

En relación a la población de células clasificadas como multipolares, fue la que presentó el menor número de cambios con ambas dietas 6% y 8% de caseína, sin embargo a los 30 días todas las comparaciones efectuadas entre las dietas de 25% y 8%, presentaron reducciones significativas y a los 220 días se presentó un incremento significativo en el III cuadrante. En cambio la dieta con 8% de proteína, produjo cuatro reducciones significativas a los 30 días y otras dos reducciones similares a la edad de 220 días. Este efecto puede deberse a que la maduración de estas células ocurre primero que el de las otras

dos, ya que se sabe la desnutrición afecta más a aquellas estructuras que maduran más tardíamente, dada la heterocronia que se presenta en la maduración de los diversas partes del sistema nervioso (Morgane y cols., 1978).

Este efecto selectivo de la desnutrición en cada población celular, puede relacionarse con el tipo de neurotransmisor que produce cada célula, lo cual tiene una importancia especial desde el punto de vista funcional. Los primeros estudios demostraron tres tipos de péptidos en las neuronas de NSG, cuya distribución fue diferente a lo largo del núcleo: a) las neuronas que contienen vasopresina, constituyen una población grande y se localizan en la región rostral y dorsomedial, b) las células que contienen el péptido vasoactivo intestinal, se encontraron en la región ventrolateral y c) las neuronas que contienen somatostatina se encontraron distribuidas por todo el núcleo, se piensa que estos tres tipos de neuronas peptidérgicas forman una importante población de interneuronas por la distribución de sus axones que forman importantes interconexiones entre diferentes partes del núcleo y sus proyecciones hacia el exterior (Moore, 1982). Posterior a este estudio, se han encontrado en esas interneuronas una gran variedad de sustancias neuroactivas mediante técnicas neurocitoquímicas, entre las cuales se incluyen al ácido gama aminobutírico, la bombesina, el péptido liberador de gastrina, la glutamato descarboxilasa, etcetera (van den Pol y Tsujimoto, 1985), así como el polipéptido Y, en la vía genicula hipotalámica que nos da idea de la complejidad e importancia

que tiene el NSQ en la regulación de diversos ritmos circádicos. En conclusión, los 3 tipos celulares mostraron el mayor número de reducciones significativas a los 30 y 90 días con la dieta del 6%, sin embargo la dieta del 8% no tuvo un efecto consistente en las células del NSQ. Al efectuar la suma de los cuadrantes, se observaron resultados similares en la gráfica de los totales (Fig. 12).

Al hacer las comparaciones por la edad, las tres dietas produjeron diferente efecto en cada tipo celular, observándose también que las células ovoides presentaron el mayor número de cambios, seguidos de las fusiformes y multipolares. La dieta de 6% de caseína fue la que mostró mayor número de incrementos en el tamaño celular con la edad, en cambio la dieta del 8% presentó tanto incrementos como disminuciones, y la de 25% incrementos en su mayoría. Estos cambios reflejan la plasticidad de estas neuronas, y resulta claro que la dieta que produce mayores cambios es la de 6% y la que presenta un número menor es la de 25% de proteína, quedando la de 8% a un nivel intermedio.

La división en tres tipos celulares por la configuración del soma con la técnica de Nissl, en cierto modo puede compararse con las que se obtienen con otras técnicas como la de Golgi, aunque no de manera directa ya que la técnica de Nissl solo tiñe el cuerpo celular. van den Pol (1980), clasificó las neuronas de NSQ por su ramificación dendrítica en células bipolares simples y rizadas, que pueden corresponder a

las tipificadas como células fusiformes en nuestro estudio, las células multipolares radiales, corresponderían a las que denominamos multipolares y las células monopolares o neuronas espinosas serían equivalentes a las que denominamos ovoides.

En la mayoría de los mamíferos gran parte de las variables fisiológicas, exhiben ritmos circádicos (aproximadamente de 24 horas), los que muestran una de las principales características de la adaptación de los organismos a su medio ambiente, ya que mantienen un orden en el medio interno, el cual permite una adaptación máxima al medio externo. Estos procesos fisiológicos incluyen la secreción de hormonas, la temperatura corporal, actividades enzimáticas, algunos elementos de la circulación, respiración y excreción, así como una variedad de conductas (Kafka, 1982 y Moore, 1982). Los ritmos circádicos están controlados por un sistema de marcapaso que posee la característica de ser endógeno, es decir se manifiesta independientemente de las señales externas o de los sincronizadores (zeitgebers), este sistema puede estar constituido por uno, dos o más osciladores; quizás el más importante de ellos sea el NSQ del hipotálamo en el sistema nervioso central (SNC).

En la actualidad han sido muy pocos los trabajos que han estudiado el efecto que produce la desnutrición hipoproteínica crónica o la de otro tipo en algunos ritmos circádicos, en particular del SNC. Uno de los primeros fue el de Forbes y cols. (1977), en el que se analizó el ciclo de sueño y vigilia durante 24 horas en ratas adultas normales y desnutridas

alimentadas con dietas de 25% y 8% de caseína pre y posnatalmente las que fueron mantenidas en un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (LD 12:12), encontrándose un cambio en la distribución del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), el cual aumentó significativamente durante la fase de oscuridad del periodo de registro, en la que usualmente se presenta una menor cantidad de sueño MOR que en la fase de luz. Este aumento se debió principalmente al incremento en el número de episodios del sueño MOR, en lugar de un aumento en la longitud de los mismos. Sin embargo, no se encontró que variara la cantidad total de vigilia, sueño de ondas lentas (SOL), o sueño MOR en 24 horas; concluyéndose que la desnutrición produjo una redistribución en el patrón del sueño MOR y dado que el efecto en las fases no fue uniforme, sino que se afectaron más las primeras partes de ambas fases de luz y oscuridad, no solo se alteró la magnitud del ritmo circádico, sino también su forma.

Con la finalidad de determinar si la carencia de proteína en la dieta durante el desarrollo pre y posnatal, altera los patrones circádicos de alimentación que pudieran interferir con los cambios encontrados en la fase de sueño MOR, reportados por Forbes y cols., en 1977; un año después Hall y cols., registraron la ingesta de alimento y de agua en ratas adultas normales y desnutridas alimentadas con dietas de 25% y 8% de caseína respectivamente, durante intervalos de 6 horas del ciclo de 24 horas LD 12:12, y encontraron en los animales desnutridos un patrón circádico diferente al de los animales

normales en los ritmos circádicos de la ingesta de alimento y agua, que consistió en un retraso de la oscilación de los mismos. Además, las ratas desnutridas consumieron una cantidad menor de alimento durante la segunda mitad del periodo de luz que las normales y comieron una mayor cantidad durante la segunda mitad del periodo de obscuridad. La ingesta de agua presentó resultados similares, aunque con menores cambios y se concluyó que la dieta hipoproteínica con 8% de caseína produjo un retraso en los ritmos circádicos del sueño MOR y en los de la ingesta de alimento y de agua, lo cual fue consistente con la hipótesis de que los efectos sobre el sueño son secundarios a los cambios que ocurren en la ingesta de alimento y de agua y pudieron influir de alguna manera con la conducta del sueño MOR, aunque no en forma definitiva. En ambos estudios resulta claro que los procesos circádicos son afectados por la desnutrición, sin embargo las consecuencias fisiológicas y conductuales son aún desconocidas y requieren de mayores estudios, aunque no se descarta la posibilidad de que la desnutrición también afecta otras fluctuaciones circádicas, como las de las hormonas y neurotransmisores que puedan influir quizá de manera directa en las alteraciones observadas.

En otro estudio sobre los efectos de la desnutrición hipoproteínica crónica instalada pre y posnatamente con dietas de 25% (control) y 8% de caseína, Cintra y cols. (en prensa), estudiaron como se afecta el ciclo del sueño y la vigilia y su ritmicidad circádica en ratas de 60, 120 y 220 días de edad,

para lo cual utilizaron un ciclo de LD 12:12 durante 4 días, seguidos de 8 días de obscuridad continua y encontraron que la amplitud de los ritmos circádicos de los estados de vigiliencia (VIG, SOL y sueño MOR), fue mayor para los animales desnutridos y mostró mayor número de diferencias significativas durante los días de obscuridad continua. El sueño MOR a los 30 y 220 días en los animales normales, mostró incrementos significativos en su amplitud en los días de obscuridad continua, en tanto que los desnutridos en esos mismos días, mostraron una disminución significativa a los 30 días, no encontrándose diferencias a los 220 días. Este aumento en la amplitud, se debió posiblemente a los niveles elevados de serotonina que se han reportado en los animales desnutridos (Morqane y cols., 1978). También reportaron un retraso en la acrofase, o sea, el momento del día en el que alcanza su punto máximo la oscilación de los ritmos circádicos, de los estados de vigiliencia en los animales desnutridos, lo cual apoya la hipótesis de que existen dos osciladores endógenos, uno que controla el SOL y otro el sueño MOR; y este último aparentemente fue menos afectado por la desnutrición, y concluyeron que ésta produce un efecto a largo plazo en las estructuras del SNC que controlan los estados de vigiliencia, así como de los osciladores endógenos que regulan su ritmicidad circádica, uno de los cuales probablemente sea el NSQ.

En los estudios previamente analizados, resulta claro que la desnutrición hipoproteínica produce retraso en distintos ritmos circádicos, algunos de los cuales pueden estar regulados

por el NSQ. Los resultados obtenidos en la presente tesis, permiten suponer que la reducción en el tamaño de las células del NSQ puede explicarnos parcialmente, los retrasos que se han observado en los ritmos circádicos mencionados; quizás por las alteraciones que se producen en los distintos neurotransmisores que como se sabe son afectados por la desnutrición, de tal forma que podemos concluir que la desnutrición hipoproteínica crónica instalada durante los períodos de mayor vulnerabilidad en el desarrollo del SNC, también produce un efecto a largo plazo en las células que tipificamos como fusiformes, multipolares y ovoides en el NSQ, sin embargo se requiere de nuevas investigaciones para comprender las repercusiones funcionales y conductuales que pudiera tener el efecto de la desnutrición sobre el NSQ, como uno de los principales osciladores circádicos en los organismos vivos.

LITERATURA CITADA

1. Afifi, A.K., and Bergman, R.A.: Basic neuroscience, Urban and Schwarzenberg, Baltimore, 1980.
2. Aghajanian, G.K., Bloom, F.E. and Sheard, M.H.: Electron microscopy of degeneration within the serotonin pathway of rat brain. *Brain Res.*, **13** : 266-273 (1969).
3. Alvear, J., Artaza, C., Vial, M., Guerrero, S. and Muzzo, S.: Physical growth and bone age of survivors of protein energy malnutrition. *Arch. Dis. Child.*, **61** : 257-262 (1986).
4. Asano, Y.: The maturation of the circadian rhythm of brain norepinephrine and serotonin in the rat. *Life Sci.*, **10** : 883-894 (1971).
5. Azmitia, E. C. and Segal, M.: An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **179** : 641-667 (1978).
6. Barnes, D. and Altman, J.: Effects of different schedules of early undernutrition on the preweaning growth of the rat cerebellum. *Exp. Neurol.*, **38** : 406-419 (1973).
7. Barnes, R.H.: Dual role of environmental deprivation and malnutrition in retarding intellectual development. *Am. J. Clin. Nutr.*, **29** : 912-917 (1976).
8. Bass, N.H., Netsky, M.G. and Young, E.: Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum. I. Microchemical and histologic study of cellular differentiation in the rat. *Arch. Neurol.*, **23** : 289-302 (1970).
9. Bleier, R. and Byne, W.: Septum and hypothalamus, The rat nervous system. Vol 1. Forebrain and midbrain. Edited by: Paxinos, G., 87-118, Academic Press, New York, 1985.
10. Bedi, K.S.: Lasting neuroanatomical changes following undernutrition during early life, Early nutrition and later achievement. Edited by: Dobbing, J., 1-49, Academic Press, London, 1987.
11. Belmar, J. y Lara, H.: Efectos de la desnutrición sobre los neurotransmisores cerebrales. *Rev. Chil. Nutr.*, **13**(2) : 83-85 (1985).

12. Benesová, O. and Pavlik, A.: Experimental study of brain maldevelopment induced by perinatal insults. *Activ. Nerv. Sup.* (Praha), **26(3)** : 229-232 (1984).
13. Bloom, F.E.: The formation of synaptic junctions in developing rat brain. Structure and function of synapses. Edited by: Pappas, G.D. and Purpura, D.P., 101-120, *Raven Press*, New York, 1972.
14. Buijs, R.M.: Intra- and extrahypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat. Pathways to the limbic system, medulla oblongata and spinal cord. *Cell. Tissue Res.*, **192** : 423-435 (1978).
15. Cavalcante, L.A. and Rocha-Miranda, C.E.: Development of retinohypothalamic and accessory optic projections in the opossum. *Brain Res.*, **144** : 378-382 (1978).
16. Christ, J.F.: Deviation and boundaries of the hypothalamus, with atlas of hypothalamic grisea. The hypothalamus. Edited by: Haymaker, W., Anderson E. and Nauta, W.J.H., 13- 60, *C.C. Thomas*, Springfield, 1969.
17. Cintra, L. y Díaz-Cintra, S.: Efecto de la desnutrición proteínica en los núcleos rafe dorsal, locus coeruleus y en las células no piramidales de la corteza visual de la rata. *Rev. Chil. Nutr.*, **13(2)** : 76-82 (1985).
18. Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A. and Morgane, P. J.: Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* (en prensa).
19. Clark, G.M., Zamenhof, S., van Marthens, E., Grauel, L. and Kruger, L.: The effect of prenatal malnutrition on dimensions of cerebral cortex. *Brain Res.*, **54** : 397-402 (1973).
20. Clarke, J.D. and Coleman, G.J.: Persistent meal-associated rhythms in SCN- lesioned rats. *Physiol. Behav.*, **36** : 105-113 (1986).
21. Clattenburg, R.E., Singh, R.P. and Montemurro, D.G.: Postcoital ultrastructural changes in neurons of the suprachiasmatic nucleus of the rabbit. *Z. Zellforsch.*, **125** : 448-459 (1972).
22. Clos, J., Favre, C., Selme-Matrat, M. and Legrand, J.: Effects of undernutrition on cell formation in the rat brain and specially on cellular composition of the cerebellum. *Brain Res.*, **123** : 13-26 (1977).

23. Conradi, N.G. and Muntzing, K.: Cerebellar foliation in rats. Effects of maternal malnutrition on the formation of fissures in foetal rats. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. , 93 : 391-395 (1985).
24. Cordero, M.E., Trejo, M., Garcia, E., Barros, T. and Colombo, M.: Dendritic development in the neocortex of adult rats subjected to postnatal malnutrition. Early Human Develop. , 12 : 309-321 (1985).
25. Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, D. and Morqane, P.J.: The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: a morphometric Golgi study in rats of three age groups. Brain Res. , 221 : 243-255 (1981).
26. Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, D. and Morqane, P.J.: The effects of protein deprivation on the locus coeruleus: a morphometric Golgi study in rats of three age groups. Brain Res. , 304 : 243-253 (1984).
27. Dobbing, J.: The developing brain: a plea for more critical interspecies extrapolation. Nutr. Rep. Int. , 7 : 401-406 (1973).
28. Dobbing, J.: Prenatal nutrition and neurological development. Symposia of the Swedish Nutrition Foundation. Edited by: Cravioto, J., 96-110, Almqvist and Wiksell, Uppsala, 1974.
29. Dobbing, J., Hopewell, J.W., and Lynch, A.: Vulnerability of developing brain: VII. Permanent deficit of neurons in cerebral and cerebellar cortex following early mild undernutrition. Exp. Neurol. , 32 : 439-447 (1971).
30. Dobbing, J. and Sands, J.: Quantitative growth and development of human brain. Arch. Dis. Child. , 48 : 757-767 (1973).
31. Duncan, M.J., Banister, M.J. and Reppert, S.N.: Developmental appearance of light-dark entrainment in the rat. Brain Res. , 369 : 326-330 (1986).
32. Dyson, S.E. and Jones, D.G.: Some effects of undernutrition on synaptic development: a quantitative ultrastructural study. Brain Res. , 114 : 365-378 (1976).
33. Earnest, D.G.: Photic control of circadian rhythms and reproduction in the golden hamster, Ph.D. dissertation Northwest Univ., Evanston, Illinois, 1984.

34. Earnest, D.G. and Turek, F.W.: Effect of one-second light pulses on testicular function and locomotor activity in the golden hamster. *Biol. Reprod.*, **28** : 557-565 (1983a).
35. Earnest, D.J. and Turek, F.W.: Role for acetylcholine in mediating effects of light on reproduction. *Science*, **219** : 77-79 (1983b).
36. Eastman, C.I., Mistlberger, R.E. and Rechtschaffen, A.: Suprachiasmatic nuclei lesions eliminate circadian temperature and sleep rhythms in the rat. *Physiol. Behav.*, **32** : 357-368 (1984).
37. Ebbeson, S.O.E.: On the organization of central visual pathways in vertebrates. *Brain Behav. Evol.*, **3** : 178-194 (1970).
38. Eichler, V.B. and Moore, R.Y.: The primary and accessory optic systems in the golden hamster, *Mesocricetus auratus*. *Acta Anat.*, **89** : 359-371 (1974).
39. Fernández, S., Fernández, M., Menéndez, B., Marín-Fernández, M. and Menéndez-Patterson, A.: Malnutrition in utero and during lactation in the rat: relationship of dam's weight gain and development of suckling. *Nutr. Res.*, **5** : 413-421 (1985a).
40. Fernández, S., Marín, B. y Menéndez-Patterson, A.: Malnutrición in utero y lactancia: relación entre el peso ganado por las madres y el desarrollo de sus descendientes. *Rev. Esp. Fisiol.*, **41** : 387-394 (1985b).
41. Fish, I. and Winick, M.: Effect of malnutrition on regional growth of the developing rat brain. *Exp. Neurol.*, **25** : 534-540 (1969).
42. Foix, C. and Nicolesco, J.: Les noyaux gris centraux et région mesencephalique sous-optique, *Paris*, France, 1925.
43. Foote, W.E., Taber-Pierce, E. and Edwards, L.: Evidence for a retinal projection to the midbrain of the rat. *Brain Res.*, **156** : 135-140 (1978).
44. Forbes, W.B., Tracy, C., Resnick, D. and Morgane, P.J.: Effects of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Exp. Neurol.*, **57** : 440-450 (1977).
45. Friedman, M.: Die cytoarchitektonik des Zwischenhirns des Cercopitheken mit besonderer Berücksichtigung des thalamus

- opticus. *J. Psychiat. Neurol.* , 19 : 5307 (1912).
46. Fuxe, K.: Evidence for existence of monoamine neurons in the central nervous system. VI. The distribution of monoamine terminals in the central nervous system. *Acta Physiol. Scand.* , 64 : 37-85 (1965).
 47. Fuxe, K. and Hökfelt, T.: Catecholamines in the hypothalamus and the pituitary gland. *Frontiers in neuroendocrinology*. Edited by: Ganong, W.F. and Martini, L., Oxford Univ. Press, New York, 1969.
 48. Fuxe, K., Hökfelt, T. and Ungerstedt, U.: Morphological and functional aspects of the central monoamine neurons. *Int. Rev. Neurobiol.* , 13 : 93-126 (1970).
 49. Groos, G., Mason, R. and Meier, J.: Electrical and pharmacological properties of the suprachiasmatic nuclei. *Fed. Proc.* , 42 : 2790-2795 (1983).
 50. Gross, G. and Mason, R.: Maintained discharge of rat suprachiasmatic neurons at different adaptation levels. *Neurosci. Lett.* , 8 : 59-64 (1978).
 51. Güldner, F.H.: Synaptology of the rat suprachiasmatic nucleus. *Cell. Tissue Res.* , 165 : 509-514 (1976).
 52. Güldner, F.H.: Synapses of optic nerve afferents in the rat suprachiasmatic nucleus. II. Structural variability as revealed by morphometric examination. *Cell. Tissue Res.* , 194 : 37-54 (1978).
 53. Güldner, F.H. and Wolff, J.R.: Dendro-dendritic synapses in the suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamus. *J. Neurocytol.* , 3 : 245-250 (1974).
 54. Gurdian, E.S.: The diencephalon of the albino rat: studies on the brain of the rat. *J. Comp. Neurol.* , 43 : 1-114 (1927).
 55. Hall, R., Forbes, W. B. and Robertson, W.: The effects of protein malnutrition on the rat's circadian patterns of food and water intake. *Nutr. Rep. Int.* , 18 : 713-720 (1978).
 56. Harkness, J.E. and Wagner, J.E.: *The biology and medicine of rabbits and rodents*. Lea and Febiger, Philadelphia, 1977.
 57. Hendrickson, A.E., Wagoner, N. and Cowan, W.M.: An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hypothalamic connections. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* , 135 : 1-26 (1972).

58. Hernández, A., Ruiz, S., Pérez, H. and Soto-Moyano, R.: Effect of early malnutrition on dynamic properties of axodendritic synapses in the rat prefrontal cortex. *J. Neurobiol.* , 16(5) : 389-393 (1985).
59. Héry, M., Faudon, M., Dusticier, G. and Héry, F.: Daily variations in serotonin metabolism in the suprachiasmatic nucleus of the rat: influence of estradiol impregnation. *J. Endocrinol.* , 74 : 157-166 (1982).
60. Ibuka, N. and Kawamura, H.: Loss of circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions. *Brain Res.* , 76 : 76-81 (1975).
61. Ingvar, D.H. and Lassen, N.A.: Brain work, Academic Press, New York, 1975.
62. Inouye, S.T.: Restricted daily feeding does not entrain circadian rhythms of the suprachiasmatic nucleus in the rat. *Brain Res.* , 232 : 194-199 (1982).
63. Inouye, S.T. and Kawamura, H.: Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* , 76 : 5962-5966 (1979).
64. Inouye, S.T. and Kawamura, H.: Characteristics of a circadian pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *J. Comp. Physiol.* , 146 : 153-160 (1982).
65. Jacobson, M.: Developmental neurobiology, Plenum Press, New York, 1978. pp. 27-114.
66. Jones, D.G.: The vulnerability of the brain to undernutrition. *Sci. Prog. Oxf.* , 63 : 483-502 (1976).
67. Jouvet, M.: The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle, Neurophysiology and neurochemistry of sleep and wakefulness. Edited by: Ergebnisse der Physiologie. Springer-Verlag, Berlin, 1972.
68. Kafka, M.S., Wirz-Justice, A., Naber, D., Moore, R.Y. and Bencito, M.A.: Circadian rhythms in rat brain neurotransmitter receptors. *Fed. Proc.* , 42 : 2796-2801 (1983).
69. Krieg, W.J.S.: The hypothalamus of the albino rat. *J. Comp. Neurol.* , 55 : 19-89 (1932).
70. Krieger, D.T., Hauser, H. and Krey, C.: Suprachiasmatic nuclear lesions do not abolish food shifted circadian

- adrenal and temperature rhythmicity. *Science*, 197 : 398-399 (1977).
71. Kriegman, M.R. and Hogan, E.L.: Undernutrition in developing rat: effect upon myelination. *Brain Res.*, 107 : 239-255 (1976).
 72. Kucera, P. and Favrod, P.: Suprachiasmatic nucleus projection to the mesencephalic central grey in the woodmouse (*Apodemus sylvaticus* L.). *Neuroscience*, 4 : 1705-1715 (1979).
 73. Le Blond, C.B., Morris, S., Karakiulakis, G., Powell, R. and Thomas, P.J.: Development of sexual dimorphism in the suprachiasmatic nucleus of the rat. *J. Endocrinol.*, 95 : 137-145 (1982).
 74. Leuba, G. and Rabinowicz, T.: Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. I. Cellular densities cortical volume and total number of cells. *Exp. Brain Res.*, 37 : 283-298 (1979a).
 75. Leuba, G. and Rabinowicz, T.: Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. II. Evolution of dendritic branching and spines in the visual region. *Exp. Brain Res.*, 37 : 297-308 (1979b).
 76. Levitsky, D. and Barnes, B.H.: Nutritional and environmental interactions in the behavioral development of the rat: long-term effects. *Science*, 176 : 68-71 (1972).
 77. Lydic, R., Albers, H.E., Tepper, B. and Moore-Ede, M.C.: Three-dimensional structure of the mammalian suprachiasmatic nuclei: a comparative study of five species. *J. Comp. Neurol.*, 204 : 225-237 (1982).
 78. Lydic, R. and Moore-Ede, M.C.: Three dimensional structure of the suprachiasmatic nuclei in the diurnal squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Neurosci. Lett.*, 17 : 295-299 (1980).
 79. Lydic, R., Schoenn, W.C., Creigler, C.A. and Moore-Ede, M.C.: Suprachiasmatic region of the human hypothalamus: homolog to the primate circadian pacemaker?. *Sleep*, 2 : 355-361 (1980).
 80. Lynch, A. Postnatal undernutrition: An alternative method. *Develop. Psychobiol.*, 9 : 39-48 (1976).

81. Madarász, B., Stoekel, M. E., Hindelang-Gertner, C., Porte, A. and Stutinsky, F.: Observations ultrastructurales sur les noyaux suprachiasmiques de rats normaux, castres et colchicines. C.R. Acad. Sci. Ser., 0279 : 1253-1256 (1974).
82. Manshardt, J. and Wurtman, R.J.: Daily rhythms in the noradrenaline content of the rat hypothalamus. Nature, 217 : 574-575 (1968).
83. Marani, E., Rietveld, W.J., Windhorst, W. and Corino, M.: Properties of cultured suprachiasmatic nucleus cells, Advances in chronobiology. Edited by: Liss, A. R., Inc. 215-221, New York, 1987.
84. Mason, C.A., Sparrow, N. and Lincoln, D.N.: Structure features of the retinohypothalamic projection in the rat during normal development. Brain Res., 132 : 141-148 (1977).
85. May, R., DeSantis, M. and Mead, R.A.: The suprachiasmatic nuclei and retinohypothalamic tract in the western spotted skunk. Brain Res., 339 : 378-381 (1985).
86. Mess, B. and Ruzsas, C.: Relationship between suprachiasmatic nuclei and rhythmic activity of the pineal gland. Advances in pineal research. Edited by: Reiter, R.J. and Karasek, M., 149-158, John Libbey and Co. Ltd., 1986.
87. Mistlberger, R.E., Bergmann, B.M. and Rechtschaffen, A.: Relationships among wake episode lengths, contiguous sleep episode lengths, and electroencephalographic delta waves in rats with suprachiasmatic nuclei lesions. Sleep, 10(1) : 12-24 (1987).
88. Moore, R.Y.: Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: the suprachiasmatic hypothalamic nucleus. Fed. Proc., 42 : 2783-2789 (1983).
89. Moore, R.Y. and Klein, D.C.: Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin n-acetyltransferase activity. Brain Res., 71 : 17-33 (1974).
90. Moore, R.Y. and Lenn, N.J.: A retinohypothalamic projection in the rat. J. Comp. Neurol., 146 : 1-14 (1972).
91. Morgane, P.J., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, J., Hawrylewicz, E.

- and Resnick, O.: The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2(3) : 137-230 (1978).
92. Mosko, S.S. and Moore, R.Y.: Neonatal suprachiasmatic nucleus lesions in the rat: effects on the circadian rhythmicity and the retinohypothalamic projection. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 3 : 352 (1977).
93. Molliver, M.E. and van der Loos, S.H.: The ontogenesis of cortical circuitry: The spatial distribution of synapses in somesthetic cortex of newborn dog. *Engeb. Anat. Ent. Gesch.*, 42 : 7-53 (1970).
94. Mouret, J., Coindet, J., Debilly, G. and Chouvet, G.: Suprachiasmatic nuclei lesions in the rat: alterations in sleep circadian rhythms. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 45 : 402-408 (1978).
95. Murakami, N., Abe, T., Yokoyama, M., Katsume, A., Kuroda, H. and Etoh, T.: Effects of photoperiod, injection of pentobarbitone sodium or lesion of the suprachiasmatic nucleus on pre-partum decrease of blood progesterone concentrations or time of birth in the rat. *J. Reprod. Fert.*, 79 : 325-333 (1987).
96. Nishino, H., and Koizumi, K. : Rhythmic activity of neurons in the lateral hypothalamic area and ventromedial nuclei. *Exp. Proc., Abst.*, 34 : F335 (1975).
97. Nishino, H. and Koizumi, K.: Responses of neurons in the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus to putative transmitters. *Brain Res.*, 120 : 167-172 (1977).
98. Nishino, H., Koizumi, K. and McBrooks, C.: The role of suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus in the production of circadian rhythm. *Brain Res.*, 112 : 45-59 (1976).
99. Noguchi, T., Sugisaki, T., Kudo, M. and Satoh, I.: Retarded growth of the suprachiasmatic nucleus and pineal body in dw and lit dwarf mice. *Develop. Brain Res.*, 26 : 161-172 (1986).
100. Paxinos, G. and Watson, C.: The rat brain in stereotaxic coordinates, *Academic Press*, Sydney, 1982.
101. Pérez de la Mora, M., Possani, L.D., Tapia, R., Terán, L., Palacios, R., Fuxe, K., Häkfelt, T. and Ljunq Dahl, A.: Demonstration of central gamma-aminobutyrate-containing nerve terminals by means of antibodies against glutamate decarboxylase. *Neurosci.*, 6 : 875-875 (1981).

102. Pickard, G.E.: The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. J. Comp. Neurol. , 211 : 65-83 (1982).
103. Pickard, G.E. and Turek, F.W.: Effects of partial destruction of the suprachiasmatic nuclei on two circadian parameters: wheel-running activity and short-day induced testicular regression. J. Comp. Physiol. , 156 : 803-815 (1985).
104. Przekop, F. and Domanski, E.: Abnormalities in the seasonal course of oestrus cycles in ewes after lesions of the suprachiasmatic area of the hypothalamus. J. Endocrinol. , 85 : 481-486 (1980).
105. Raisman, G. and Brown-Grandt, K.: The "suprachiasmatic syndrome": endocrine and behavioral abnormalities following lesions of the suprachiasmatic nuclei in the female rat. Proc. Roy. Soc. London Ser. B , 198 : 297-314 (1977).
106. Ramanamurthy, P.S.V.: Maternal and early postnatal malnutrition and transmitter amines in the rat brain. J. Neurochem. , 28 : 253-254 (1977).
107. Reppert, S.M.: Maternal entrainment of the developing circadian system. Ann. N.Y. Acad. Sci. , 453 : 162-169 (1985).
108. Reppert, S.M. and Schwartz, W.J.: Maternal coordination of the fetal biological clock in utero. Science , 220 : 969-971 (1983).
109. Reppert, S.M. and Schwartz, W.J.: The suprachiasmatic nuclei of the fetal rat: characterization of a functional circadian clock using 14-C-labeled deoxyglucose. J. Neurosci. , 4 : 1677-1682 (1984).
110. Reppert, S.M. and Schwartz, W.J.: Maternal suprachiasmatic nuclei are necessary for maternal coordination of the developing circadian system. J. Neurosci. , 6(9) : 2724-2729 (1986).
111. Resnick, O.: Nutrition, neurotransmitter regulation, and developmental pharmacology. Preventive and curative intervention in mental retardation. Edited by: Menolascino, F.J. and Stark J. A., 161-175, Paul, H. Brookes , Baltimore Maryland, 1988.
112. Resnick, O., Morgane, P.J., Hasson, R. and Miller, M.: Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. Neurosci. Biobehav. Rev. .

- 4(1) : 55-75 (1982).
113. Ribak, C.E. and Peters, A.: An autoradiographic study of the projections from the lateral geniculate body of the rat. *Brain Res.*, 92 : 341-368 (1975).
 114. Riley, J.N. and Moore, R.Y.: Organization of the suprachiasmatic albino rat. *Soc. Neurosci. Abst.*, 3 : 355 (1977).
 115. Robinson, S.M., Fox, T.O., Dikkes, P. and Pearlstein, R.A.: Sex differences in the shape of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area and suprachiasmatic nucleus of the rat: 3-D computer reconstruction and morphometrics. *Brain Res.*, 371 : 380-384 (1986).
 116. Roozendaal, B., van Gool, W.A., Swaab, D.F., Hooqendijk, J.E. and Mirmiran, M.: Changes in vasopressin cells of the rat suprachiasmatic nucleus with aging. *Brain Res.*, 407 : 257-264 (1987).
 117. Rusak, B. and Gross, G.: Suprachiasmatic stimulation phase shifts rodent circadian rhythms. *Science*, 215 : 1407-1409 (1982).
 118. Rusak, B. and Zucker, I.: Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol. Rev.*, 59(3) : 449-526 (1979).
 119. Saavedra, J.M., Palkovits, M., Brownstein, M.J. and Axelrod, J.: Serotonin distribution in the nuclei of the hypothalamus and preoptic region. *Brain Res.*, 77 : 157-165 (1974).
 120. Salas, M. and Cintra, L.: Development of the electrocorticogram during starvation in the rat. *Physiol. Behavior*, 14 : 589-593 (1975).
 121. Salas, M., Diaz, S. and Nieto, A.: Effects of neonatal food deprivation on cortical and dendritic development of the rat. *Brain Res.*, 73 : 139-144 (1974).
 122. Salas, M., Ruiz, C., Torrero, C. and Pulido, S.: Neonatal food restriction: its effects of the sleep cycles and the vigil behavior in adult rats. *Bol. Est. Med. Biol., Méx.*, 32 : 207-215 (1983).
 123. Schwartz, W.J., Davidsen, L.C. and Smith, C.D.: In vivo metabolic activity of a putative circadian oscillator, the suprachiasmatic nucleus. *J. Comp. Neurol.*, 189 : 157-167 (1980).
 124. Schwartz, W.J. and Gainer, H.: Suprachiasmatic nucleus: use of ¹⁴C labeled deoxyglucose uptake as a functional

- marker. *Science*, **197** : 1089-1091 (1977).
125. Schwartz, W.J., Reppert, S.M., Eagan, S.M. and Moore-Ede, M.C.: In vivo metabolic activity of the suprachiasmatic nuclei: a comparative study. *Brain Res.*, **274** : 184-187 (1983).
 126. Segal, M., Dudai, Y. and Amsterdam, A.: Distribution of an alpha-bungarotoxin-binding cholinergic nicotinic receptor in rat brain. *Brain Res.*, **148** : 105-119 (1978).
 127. Shea, B.T.: Reproductive strategies, body size, and encephalization in primate evolution. *Int. J. Primatol.*, **8**(2) : 139-156 (1987).
 128. Shibata, S., Liou, S. Y. and Ueki, S. : Development of the circadian rhythm of neuronal activity in suprachiasmatic nucleus of rat hypothalamic slices. *Neurosci. Lett.*, **43** : 231-234 (1983a).
 129. Shibata, S., Liou, S. Y., Ueki, S. and Omura, Y.: Effects of restricted feeding on single neuron activity of suprachiasmatic nucleus in rat hypothalamic slice preparations. *Physiol. Behav.*, **31** : 523-528 (1983b).
 130. Shibata, S. and Moore, R. Y.: Development of neuronal activity in the rat suprachiasmatic nucleus. *Dev. Brain Res.*, **34** : 311-315 (1987).
 131. Shibata, S., Omura, Y., Kita, H. and Hattori, K.: Circadian rhythmic changes of neuronal activity in the suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamic slice. *Brain Res.*, **247** : 154-158 (1982).
 132. Shibata, S., Omura, Y., Liou, S.Y. and Ueki, S.: Electrophysiological studies of the development of suprachiasmatic neuronal activity in hypothalamic slice preparations. *Dev. Brain Res.*, **13** : 29-35 (1984).
 133. Shimizu, I., Yoshimoto, M., Kojima, T. and Okado, I.: Development of retinohypothalamic projections in the chick embryo. *Neurosci. Lett.*, **50** : 43-47 (1984).
 134. Shoemaker, W. and Wurtman, R.J.: Perinatal undernutrition: accumulation of catecholamines in rat brain. *Science*, **17** : 1017-1019 (1971).
 135. Sgassi, F. and Sgassi, B.: Differential effects of protein-calorie restriction and subsequent depletion on neuron and non-neuronal components of cerebral cortex in newborn rats. *J. Nutrition.*, **103** : 1625-1663 (1973).

136. Sima, A. and Persson, L.: The effect of pre and postnatal undernutrition on the development of the rat cerebellar cortex. *Neurobiol.*, 9 : 23-34 (1975).
137. Simek, J., Shkurupy, V.A., Shorina, G.N., Bagatova, N.P., Cervinkova, Z. and Holecek, M.: Effect of long-term administration of a high protein or low protein diet on rat liver. Morphological and biochemical findings. *Physiol. Bohemos.* 35 : 127-133 (1986).
138. Smart, J.L.: Activity and exploratory behavior of adult offspring of undernourished mother rats. *Develop. Psychobiol.*, 7(4) : 315-321 (1974).
139. Sobotka, T.J., Cook, M.P. and Brodie, R.E.: Neonatal malnutrition: neurochemical, hormonal and behavioral manifestations. *Brain Res.*, 65 : 443-457 (1974).
140. Sofroniew, M.V. and Weindl, A.: Identification of parvocellular vasopressin and neurophysin neurons in the suprachiasmatic nucleus of a variety of mammals including primates. *J. Comp. Neurol.*, 193 : 659-675 (1980).
141. Sofroniew, M.V. and Weindl, A.: Central nervous system distribution of vasopressin, oxytocin and neurophysin. Endogenous peptides and learning and memory processes. Edited by: Martinez, J.L., Jensen, R.A., Messing R.B. and McGaugh, J.L., 327-369. *Academic Press*, New York, 1981.
142. Sokoloff, L.: Circulation and energy metabolism of the brain. *Basic Neurochemistry*. Edited by: Siegel, G.J., Albers, R. W., Katzman, R. and Agronoff, B. W., 388-413, *Little and Brown*, Boston, 1976.
143. Spiegel, E.A. and Zweig, H.: Zur cytoarchitektonik des tuber cinereum. *Arch. Neurol. Inst. Wien Univ.*, 22 : 278 (1917).
144. Stanfield, B. and Cowan, W.M.: Evidence for a change in the retinohypothalamic in the rat following early removal of one eye. *Brain Res.*, 104 : 129-136 (1976).
145. Steinbuch, H.W.M.: Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat cell-bodies and terminals. *Neurosci.*, 6 : 557-618 (1981).
146. Stephan, F.K., Donaldson, J.A. and Gellert, J.: Retinohypothalamic tract symmetry and phase shifts of circadian rhythms in the rats and hamsters. *Physiol. Behav.*, 29 : 1153-1159 (1982).

147. Stephan, F.K. and Zucker, I. : Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity are eliminated by suprachiasmatic lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* ., **54** : 1521-1527 (1972).
148. Suburo, A.M. and Pellegrino de Iraldi, A.: An ultrastructural study of the rat's suprachiasmatic nucleus. *J. Anat.* ., **105** : 439-446 (1969).
149. Sugita, N.: Comparative studies on the growth of the cerebral cortex. VII. On the influence of starvation at an early age upon the development of the cerebral cortex albino rat. *J. Comp. Neurol.* ., **29(3)** : 177-240 (1918).
150. Swaab, D.F., Fliers, E. and Partiman, S.E.: The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and senil dementia. *Brain Res.* ., **342** : 37-44 (1985).
151. Swanson, L.W. and Cowan, W.M.M.: The efferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* ., **160** : 1-12 (1975).
152. Szentágothai, J.B., Flerko, D., Mess, B. and Halász, B.: Hypothalamic control of the anterior pituitary., *Ákad. Kiadó, Budapest*, 1968.
153. Takahashi, K., Hayafuji, C. and Murakami, N.: Foster mother rat entrains circadian adrenocortical rhythm in blinded pups. *Amer. J. Physiol. (Endo. Metab. 6)* ., **246** : E443-E449 (1982).
154. Tobler, I., Borbely, A.A. and Groos, G.: The effect of sleep deprivation on sleep in rats with suprachiasmatic lesions. *Neurosci. Lett.* ., **42** : 49-54 (1983).
155. Tonkiss, J., Smart, J.L. and Massey, R.F. Effect of early life undernutrition in artificially-reared rats 2. Subsequent behavior. *Physiol. Behav.* ., **41** : 555-562 (1987).
156. Turek, F.W.: Circadian neural rhythms in mammals. *Ann. Rev. Physiol.* ., **47** : 49-64 (1985).
157. Ueda, S., Kawata, M. and Sano, Y.: Identification of neuropeptide γ immunoreactivity in the suprachiasmatic nucleus and the lateral geniculate nucleus of some mammals. *Neurosci. Lett.* ., **68** : 7-10 (1986).
158. van Loeuwen, F.W., Swaab, D.F. and De Raay, C.: Immunoelectronmicroscopic localization of vasopressin in the rat suprachiasmatic nucleus. *Cell. Tissue Res.* .,

- 193 : 1-10 (1978).
159. van den Pol, A.N.: The role of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus as a circadian oscillator in rat. *Neurosci. Abst.*, **3** : 167 (1977).
160. van den Pol, A.N.: The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat: intrinsic anatomy. *J. Comp. Neurol.*, **191** : 661-702 (1980).
161. van den Pol, A.N. and Tsujimoto, K.L.: Neurotransmitters of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus : immunocytochemical analysis of 25 neuronal antigens. *Neurosci.*, **15** : 1049-1086 (1985).
162. Vandesande, F., De Mey, J. and Dierickx, K.: Identification of neurophysin producing cells. I. The origin of the neurophysin-like substance-containing nerve fibers of the external region of the median eminence of the rat. *Cell. Tissue Res.*, **151** : 187-200 (1974).
163. Vandesande, F., Dierickx, K. and De Mey, J.: Identification of the vasopressin-neurophysin producing neurons of the rat suprachiasmatic nuclei. *Cell. Tissue Res.*, **156** : 377-380 (1975).
164. Viswanathan, N. and Chandrasekaran, M.K.: Mother mouse sets the circadian clock of pups. *Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.)*, **893** : 235-241 (1984).
165. Watts, A.G. and Swanson, L.W.: Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: II. Studies using retrograde transport of fluorescent dyes and simultaneous peptide immunohistochemistry in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **258** : 230-252 (1987).
166. Watts, A.G., Swanson, L.W. and Sánchez-Watts, G.: Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: I. Studies using anterograde transport of *Phagolus vulgaris* leucoagglutinin in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **258** : 204-229 (1987).
167. Winick, M., Rosso, P. and Waterlow, J.: Cellular growth of cerebrum, cerebellum, and brain stem in normal and marasmic children. *Exp. Neurol.*, **26** : 393-400 (1970).
168. Wurtman, R.J.: Nutrients that modify brain function. *Sci. Amer.*, **246**(4) : 50-59 (1982).
169. Yamaoka, S.: Participation of limbic-hypothalamic structures in circadian rhythm of slow-wave sleep and paradoxical sleep in the rat. *Brain Res.*, **151** : 255-268 (1979).

170. Zamenhof, S. and van Marthens, E.: Chronic undernutrition for 10 generations: differential effects on brain and body development among neonatal rats. Nutr. Rep. Int. , 26(4) : 703-709 (1982).
171. Zucker, I., Rusak, B. and King, R.G.: Neural bases for circadian rhythms in rodent behavior. Advances in Psychobiology, Edited by: Riesen, A.H. and Thompson, R. F., 73-74, Wiley and Sons , New York, 1976.