



196
2ej
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DE LA DESNUTRICION PROTEINICA SOBRE
LA ONTOGENIA DEL RITMO CIRCADICO DE
INGESTA DE AGUA EN RATA

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

ALBERTO SALAZAR JUAREZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. RAUL ANTONIO AGUILAR ROBLERO



MEXICO, D. F.

OCTUBRE DE 1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

EFFECTO DE LA DESNUTRICION PROTEINICA SOBRE LA
ONTOGENIA DEL RITMO CIRCADICO DE
INGESTA DE AGUA EN LA RATA.

I N D I C E

RESUMEN.....2

I) INTRODUCCION

- GENERALIDADES3
- DESNUTRICION5
- RITMOS CIRCADICOS13
- ANTECEDENTES ESPECIFICOS ..24

II) OBJETIVOS24

III) MATERIAL Y METODO26

IV) RESULTADOS30

V) DISCUSION35

VI) CONCLUSIONES43

VII) BIBLIOGRAFIA44

Hace algunos años un informe de la organización mundial de la Salud (OMS) puso de manifiesto que aproximadamente la mitad de los niños del mundo habían sufrido desnutrición en alguno de sus grados durante la ontogenia temprana e/o inmediatamente después del nacimiento. De esta manera millones de niños se encuentran en alto riesgo de sufrir enfermedades infecto-contagiosas y deficiencias en su desarrollo físico que incluyen distorsiones graves de la estructura y funciones de diversos órganos y sistemas. Entre éstas son particularmente importantes las alteraciones morfológicas, fisiológicas y bioquímicas del Sistema Nervioso Central (SNC) y en especial del cerebro dado que pueden llegar a deteriorar gravemente las funciones mentales (Middleton, 1985).

Hace algunos años un informe de la organización mundial de la Salud (OMS) puso de manifiesto que aproximadamente la mitad de los niños del mundo habían sufrido desnutrición en alguno de sus grados durante la ontogenia temprana e/o inmediatamente después del nacimiento. De esta manera millones de niños se encuentran en alto riesgo de sufrir enfermedades infecto-contagiosas y deficiencias en su desarrollo físico que incluyen distorsiones graves de la estructura y funciones de diversos órganos y sistemas. Entre éstas son particularmente importantes las alteraciones morfológicas, fisiológicas y bioquímicas del Sistema Nervioso Central (SNC) y en especial del cerebro dado que pueden llegar a deteriorar gravemente las funciones mentales (Middleton, 1985).

GENERALIDADES

Entendemos por ontogenia al conjunto de eventos necesarios para el desarrollo de un individuo. La ontogenia incluye a los procesos de diferenciación, crecimiento, desarrollo y envejecimiento que ocurren en el ciclo vital de los organismos: La diferenciación es el proceso de especialización funcional de las células; el crecimiento es el fenómeno celular que se caracteriza por la síntesis de proteínas homólogas y por la multiplicación celular, esto propiciado por los nutrimentos de que disponen las células; por desarrollo se entiende la serie de cambios secuenciales que transforman un sistema de organización simple en un sistema de complejidad progresiva, hasta alcanzar un estado de relativa estabilidad; finalmente el envejecimiento se refiere al paulatino deterioro de las funciones biológicas que ocurre hacia el final del ciclo vital.

En los últimos años, el estudio de la ontogenia cerebral ha permitido un mejor conocimiento acerca de la secuencia de cambios que ocurren en la estructura y composición bioquímica del cerebro durante sus diferentes etapas, las cuales determinan las distintas propiedades funcionales del tejido cerebral durante cada fase del desarrollo. Estos cambios están determinados tanto por programas establecidos genéticamente como por influencias ambientales que actúan sobre el sistema nervioso. De esta manera el desarrollo ontogenético sigue un patrón específico, en el cual aquellas partes del SNC que en el momento del nacimiento son

necesarias para el control de funciones esenciales maduran mas rápido que otras (Salas,1978). La fuente de energía del crecimiento y desarrollo no proviene de los alimentos que los organismos consumen, sino de los nutrimentos que los alimentos transportan para ponerlos a disposición de las células. De esta manera los alimentos son polímeros o precursores de los nutrimentos además de vectores de fibra dietética. Los organismos vivos ingieren estos alimentos de manera cotidiana, en una dieta que es la unidad de alimentación (Galván, 1990). La desnutrición, como resultado de una deficiente ingestión en calidad y cantidad de alimento, es el factor ambiental que de manera más frecuente afecta el desarrollo cerebral. El interés por el estudio de los efectos de la privación nutritiva sobre el desarrollo cerebral y sus funciones ha ido aumentando en la última década. En la rata, se ha encontrado que la desnutrición perinatal severa o moderada produce daños cerebrales irreversibles (Dobbing,1972).

La complejidad relativa y la gran vulnerabilidad de los circuitos neuronales durante el período cercano al parto permite contar con un modelo experimental singular, donde es posible evaluar los cambios funcionales normales y las alteraciones que ocurren cuando se modifica el proceso de maduración bajo la acción de una influencia nociva del ambiente. Además, permite conocer la forma en que las áreas cerebrales van controlando, refinando y haciendo cada vez mas eficientes los sistemas de regulación de las diversas funciones organicas a través del desarrollo (Salas,1978).

DESNUTRICION

Al hablar de la desnutrición generalmente se hace referencia a un estado alterado de las funciones orgánicas producidas por una reducción importante de la ingestión de proteínas y calorías, sin embargo, en esas circunstancias también queda implícito la deficiencia de otros elementos de la dieta cuya participación aun no esta bien establecida (Salas, 1978).

Experimentalmente, la privación de nutrientes en el feto o en el recién nacido puede llevarse a cabo mediante la limitación de alimentos a la madre durante el periodo del embarazo, o durante la lactancia, mediante la reducción del tiempo de succión de las crías o bien aumentando el número de los miembros de la camada. Con cualquiera de estos procedimientos se provoca una baja substancial del peso corporal y cerebral así como un retraso del crecimiento del SNC que se manifiesta por alteraciones severas en sus funciones (Salas, 1978).

Estudios realizados en diversas especies revelan que la desnutrición pre y postnatal provoca una reducción permanente del peso corporal, así como una disminución del peso de algunos órganos internos como el hígado, el riñón, la hipófisis, las suprarrenales, los ovarios, los testiculos y las vesículas seminales (Donald, 1981).

Periodo Crítico.

Dobbing (1970) planteó que existe un periodo único en el crecimiento cerebral en el que este órgano experimenta procesos fundamentales de su desarrollo, por lo que es especialmente sensible a las restricciones nutricionales y a otros tipos de estímulos agresivos. Esta vulnerabilidad del SNC no es constante a través del desarrollo ya que los diferentes procesos del crecimiento varían temporalmente dependiendo del área cerebral de la que se trate. Los efectos de algún estímulo agresivo en etapas tempranas al SNC ocasionarían secuelas físicas y conductuales permanentes (Dobbing y Sands, 1971).

El periodo vulnerable se inicia en una etapa en la que se está completando el proceso de multiplicación celular, de modo que el insulto nutricional solo afectará en pequeño grado al número final de neuronas. Lo que se afecta principalmente son los procesos de diferenciación y maduración neuronal (Dobbing y Smart, 1974).

Los acontecimientos que ocurren durante el periodo vulnerable incluyen el desarrollo de conexiones interneuronales (incremento de ramificaciones axónicas y dendríticas así como el número de las espinas dendríticas), la multiplicación de células gliales y la mielinización del SNC (Middleton 1985). Por consiguiente perturbaciones durante el período vulnerable afectarían básicamente procesos funcionales asociados a dichos parámetros morfológicos (Dobbing y Smart, 1973).

Es importante destacar que no todas las estructuras encefálicas se desarrollan en la misma proporción ni en las mismas etapas dentro del período vulnerable. En efecto, el desarrollo encefálico está integrado por intrincados procesos de maduración histológica, neuroquímica y electrofisiológica que no coinciden temporalmente en las diversas regiones cerebrales, por lo que es probable que las diferentes áreas encefálicas tengan su propio período vulnerable (Middleton, 1985). Por esta razón, las distintas regiones del cerebro son afectadas de manera diferencial por la desnutrición. De tal forma las regiones que maduran más tempranamente son menos afectadas por la desnutrición que las que lo hacen de una manera tardía (Altman y Col, 1971).

En forma análoga a lo descrito anteriormente, el período vulnerable es también diferente para cada especie, ya que en cada especie la ontogenia neural sigue un patrón temporal específico (Fig. 1). En la rata abarca las tres primeras semanas postnatales mientras que en el hombre se extiende desde el final del primer semestre de gestación hasta los dos años de vida postnatal (Dobbing y Sands, 1971, Dobbing y Smart, 1973).

Aspectos Morfológicos.

Los primeros estudios del efecto de la desnutrición sobre el desarrollo cerebral los realizó Sugita (1918) quien concluyó que la desnutrición en etapas tempranas del desarrollo cerebral ocasiona un arresto en el crecimiento y desarrollo de las neuronas sin decremento en su número.

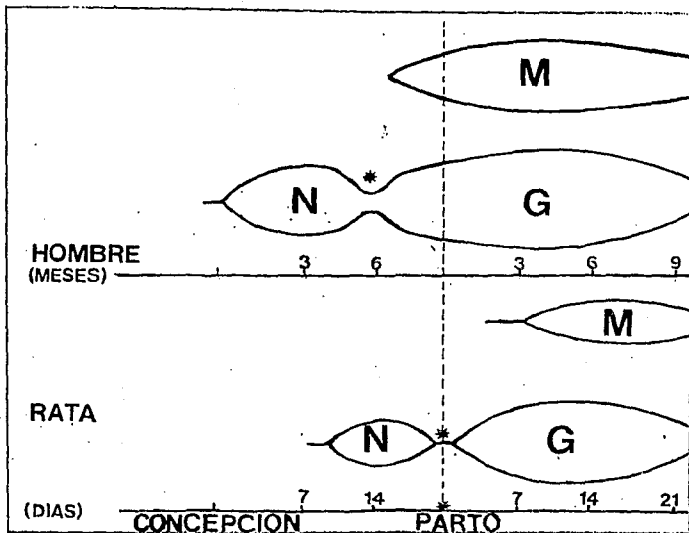


FIGURA 1 PERIODO VULNERABLE.

Diagrama que muestra el tiempo en el que ocurre el periodo vulnerable en la rata y el hombre, además se indican los procesos celulares que suceden a partir del inicio del periodo vulnerable. (N= Neurogénesis, G= Gliogénesis, M=mielinogénesis, *= Inicio del Periodo Vulnerable).

Posteriormente se observó que la desnutrición temprana ocasiona un retraso en la migración celular y en la síntesis de mielina (Winick, 1970), así como alteraciones en las vías del metabolismo de la glucosa (Lewis y Col, 1975).

Estudios morfológicos han demostrado que la privación de alimento en la rata induce una reducción del volumen cerebral (Stewart, 1971), principalmente por una disminución del árbol dendrítico, ambos fenómenos son causados por una disminución del número de espinas dendríticas, así como de la densidad dendrítica basal y del espesor dendrítico. Todo lo anterior disminuye la capacidad de formar nuevas interconexiones y reduce la posibilidad de los fenómenos de plasticidad en el S.N.C. También se ha observado una orientación aberrante en axones de neuronas corticales (Salas y Cols., 1974).

Las células gliales también son afectadas por la desnutrición lo cual se manifiesta por una reducción del 50% en su número, así como alteraciones en su maduración observables en cambios en el contenido de DNA, RNA y proteínas específicas de dichas células (Robain y Ponsot, 1978). De la misma manera, la desnutrición ocasiona trastornos en el depósito de mielina en el SNC ocasionados por el retraso en la migración de oligodendrocitos. Lo anterior se manifiesta como una reducción en el número y espesor de las capas de mielina en el SNC y Sistema Nervioso Periférico (SNP) (Wiggins y Col, 1976). Así pues, el crecimiento axonal y su subsecuente mielinización son profundamente afectados de manera permanente, por la desnutrición pre y postnatal (Sima y Sourander, 1978).

La desnutrición ocasiona distintos efectos en los diferentes niveles anatómicos del SNC. En la corteza cerebral, los efectos de la desnutrición temprana en las capas celulares superficiales son menos severas que en las capas celulares profundas. En la corteza cerebral motora y visual de ratas, la desnutrición también ocasiona un retraso en el desarrollo del grosor de las distintas capas, en su estratificación y en la conectividad cortical así como un aumento de la densidad celular ocasionado por la escasa migración celular. La desnutrición pre y postnatal reduce significativamente el número total de espinas dendríticas de la corteza cerebral así como su grosor. De esta forma, se reduce grandemente el establecimiento de interconexiones entre los sistemas aferentes y las neuronas corticales reduciéndose así la capacidad integrativa de estos circuitos (Salas, 1978).

En las estructuras subcorticales, la desnutrición ocasiona efectos similares pero en menor grado a los encontrados en la corteza cerebral, por ejemplo, en el neocórtex y el núcleo de la banda diagonal de Broca tanto el largo de las dendritas como la densidad de espinas sinápticas son poco afectadas (Kemper y Col, 1978).

En el cerebelo, se sabe que la desnutrición produce una reducción del peso del mismo, la corteza cerebelar se encuentra adelgazada particularmente en la capa molecular y existe una transiente capa granular externa que retrasa su tiempo de maduración, las células de Purkinje por el contrario, aumentan en densidad; sin embargo, presentan decremento en el largo total de

sus procesos dendríticos y del número de las espinas, reflejándose en alteraciones en el patrón de desarrollo general (Clos y Col, 1977).

Los distintos núcleos del tallo cerebral también sufren alteraciones producidas por la desnutrición temprana. Las células del núcleo de rafe dorsal (NRD) muestran diferentes efectos, las células ovoides y fusiformes son pocas alteradas presentando pequeños decrementos en el número de sitios dendríticos y de las aferentes sinápticas, mientras que las células multipolares serotoninérgicas presentan un incremento en sus aferentes. Esto podría relacionarse con estudios neuroquímicos en donde se ha descrito un incremento en los niveles de las aminas biogénicas en ratas con desnutrición hipoprotéica (Díaz y Col, 1981). En un estudio similar en el locus coeruleus (NLC) se encontró que la desnutrición afectaba a la densidad de espinas dendríticas primarias y secundarias. Pero el efecto más importante es la alteración de la relación sináptica que existe entre el núcleo del rafe Dorsal y el locus coeruleus de los animales desnutridos (Díaz y Col, 1984). Es decir, mientras el NRD muestra aumentos en la densidad de espinas entre 30 y 90 días, el NLC, presenta disminución, existiendo un patrón dendrítico "fuera de fase" en los controles sin embargo, los animales desnutridos no lo presentan (Morgane y Cols., 1992).

Por otra parte, estructuras centrales que presentan poblaciones celulares con distintos patrones de desarrollo cerebral, como el hipocampo, la desnutrición prenatal produce efectos selectivos según el patrón de desarrollo. Así las células

granulares cuyo origen y desarrollo son principalmente postnatales (Bayer, 1980) presentan cambios anatómicos en su sinaptogénesis (Bedi, 1987) siendo irreversibles (Cintra y Cols., 1990, Díaz-Cintra y Cols., 1990 Y 1991).

Aspectos Metabólicos.

Asociado a los cambios morfológicos antes mencionados, se han encontrado alteraciones metabólicas y bioquímicas que repercuten sobre el desarrollo cerebral tales como: La disminución del consumo de oxígeno en condiciones basales; hipoglicemia, alteraciones en la gluconeogénesis y en el metabolismo de la fenilalanina; disminución de la función tiroidea y en la producción de la hormona del crecimiento (Middleton, 1985).

El porcentaje de incorporación de aminoácidos dentro del cerebro no tiene cambios, lo cual tal vez se deba a una reducción del flujo de los aminoácidos como un proceso compensatorio para mantener una adecuada concentración de aminoácidos cerebrales (Freedman y Col, 1980).

Se ha sugerido que la inadecuada concentración de uno o más aminoácidos es el factor común responsable de la limitación del desarrollo cerebral. Sin embargo, no hay mucha información acerca de los mecanismos por los cuales dicho fenómeno ocurre (Nowak y Col, 1977).

Respecto el efecto de la desnutrición sobre la concentración de algunos neurotransmisores y sus metabolitos en las diferentes

áreas cerebrales los resultados indican que se encuentran elevados los niveles de fenilalanina, triptofano, norepinefrina, serotonina y Ac.5-hidroxiindolacético (Resnick, 1988); Por otra, parte los niveles de Dopamina se encuentran disminuidos (Shoemaker y Wurtman, 1971). En el análisis de regiones específicas del cerebro se encontró que los neurotransmisores están altamente concentrados en estructuras subtelencefálicas como el diencefalo, mesencefalo, puente-médula y tejido periférico. A pesar de que la dieta es deficiente en aminoácidos precursores de los neurotransmisores y que en algunos casos se ven afectadas las enzimas de síntesis de los mismos (Shoemaker y Bloom, 1977).

El incremento de algunos neurotransmisores monoaminérgicos en tejido periférico sugiere que estos cambios representan una alteración general en el metabolismo (Morgane y Col, 1979) o cambios en el metabolismo de las aminas biogénicas durante la maduración de las terminales nerviosas (Hernández, 1976). Lo anterior sugiere que los somas del sistema monoaminérgico son más sensibles que los somas que contienen otro tipo de neurotransmisor, al efecto de la desnutrición proteínica (Resnick y Morgane, 1984); Además, es posible que ésta alteración en los perfiles neuroquímicos conlleva a alteraciones en algunos patrones conductuales (Stern y Col, 1975, Miller y Col, 1977, Shoemaker y Wurtman, 1971).

Aspectos Conductuales.

La privación perinatal de alimento retrasa el desarrollo de los componentes reflejos de la conducta. Por ejemplo, el desarrollo del patrón de nado usado como un modelo de maduración del SNC, parece estar afectado debido a alteraciones en el desarrollo de las estructuras que intervienen en la integración refleja de dicha conducta tales como la corteza motora, cerebelo y núcleo vestibular (Salas, 1972).

La desnutrición neonatal aumenta importantemente la actividad exploratoria en la edad adulta y este efecto es aún más severo cuando además de la desnutrición los sujetos se privan de información sensorial (Levitsky y Barnes, 1972). Además, la desnutrición neonatal altera la respuesta emocional de los animales hacia los estímulos ambientales en la edad adulta debido posiblemente al daño a estructuras límbicas como el hipotálamo, la amígdala y el hipocampo, las cuales participan en el control de éste tipo de respuesta (Salas, 1978). También se ha reportado que la desnutrición afecta ciertos parámetros del ciclo sueño-vigilia, como son la amplitud del ritmo circádico, la acrofase y la duración y número de los ciclos completos de sueño (Cintra y Cols., 1988).

RITMOS CIRCADICOS

Conceptos Básicos.

Las fluctuaciones periódicas en diversos parámetros fisiológicos son una propiedad general de la materia viva, cuando estas fluctuaciones ocurren a intervalos regulares son considerados como "Ritmos Biológicos" (Bunnig, 1973). Los ritmos biológicos pueden ser la respuesta del organismo a una influencia periódica ambiental (Ritmo Exógeno) o bien pueden ser originados por el organismo (Ritmo Endógeno). En términos técnicos un ritmo exógeno es análogo a un fenómeno oscilatorio en sistemas pasivos, estos sistemas solo pueden oscilar bajo la influencia de señales externas periódicas. Por otra parte un ritmo endógeno es análogo a oscilaciones autosostenidas de sistemas activos donde las oscilaciones no dependen de estimulación externa (Aschoff, 1986). (FIG. 2)

Los ritmos biológicos presentan gran variabilidad de frecuencias, desde un ciclo por milisegundo a un ciclo por año. Por otro lado también el ambiente físico se caracteriza por la existencia de ciclos que se derivan de movimientos de la tierra y la luna en relación al sol, estos ciclos ambientales o geofísicos son los días, las mareas, las fases lunares y las estaciones del año. Cuando la frecuencia de un ritmo biológico se aproxima a un ciclo ambiental se le denomina con el prefijo Circa (Pittendrigh 1986); es así como a los ritmos biológicos cercanos a las 24 horas se les llamó Ritmos Circadianos (Halberg, 1969).

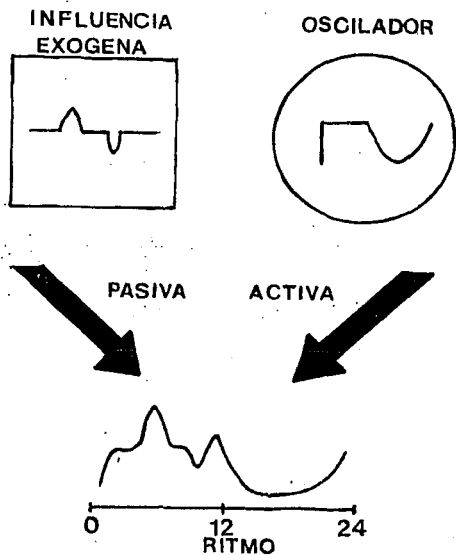


FIGURA 2 SISTEMA ACTIVO Y SISTEMA PASIVO.

Los ritmos circádicos pueden ser la respuesta del organismo a la influencia de sistemas pasivos (señales periódicas externas) y de sistemas activos (señales periódicas internas) cuando ambos sistemas están sincronizados.

Los ritmos circadianos son uno de los rasgos de la adaptación de un organismo a su ambiente, en los mamíferos representan un importante proceso a través del cual eventos del medio interno son organizados en una apropiada secuencia temporal que permite una máxima adaptación al medio externo (Rusak, 1979a y 1972b).

De acuerdo a Pittendrigh (1976) para llevar a cabo su papel adaptativo los ritmos circádicos requieren que el sistema tenga dos características:

- 1) Que tenga la capacidad de medir el tiempo biológico es decir que el ritmo circádico sea generado endógenamente y que éste tenga un período cercano a 24 horas.
- 2) Que pueda medir el tiempo geográfico es decir que bajo condiciones ambientales usuales el periodo del oscilador se ajuste al periodo del ciclo ambiental, usualmente el ciclo L:O sirve como el agente sincronizador ("Zeitgeber") ambiental (Moore, 1983).

Una característica esencial del organismo es su capacidad de mantener la ritmicidad circádica aún en ausencia de señales externas periódicas en un fenómeno conocido como corrimiento espontáneo (Free Running). Lo anterior sugiere la naturaleza endógena del oscilador biológico (Halberg, 1969). Tau (t) representa el periodo endógeno del marcapaso. Tau, a su vez, está compuesto por dos fracciones; un periodo de actividad llamado alfa y un periodo de reposo llamado rho. Alfa representa el intervalo (de tiempo) que sucede entre el inicio y el término de la actividad bajo estudio, a su vez rho representa el intervalo

de la fracción de reposo o ausencia de la actividad en estudio, de modo que $\tau = \alpha + \rho$, $t = a + p$. (FIG. 3).

Otra característica importante de los ritmos circádicos es su capacidad de sincronización, dicho término se refiere a la condición en la cual el periodo (τ) y la fase (ϕ) del reloj biológico se ajustan al periodo (T) y la fase del estímulo cíclico externo, (donde $t^* = T$). (FIG. 4).

El ciclo luz-obscuridad es el estímulo ambiental que comunmente puede sincronizar a los ritmos circadianos, sin embargo estos pueden ser sincronizados por otros estímulos (secundarios) aún en la presencia del ciclo L/O (Moore, 1980). Estos estímulos pueden preservar la función circadiana aun después de la ablación del reloj biológico, o sea el Nucleo Supraquiasmático (NSQ) en roedores (Moore, 1983).

Debido a su capacidad de sincronización los ritmos circadianos en oscilación espontánea pueden sufrir adelantos o retrasos en su ocurrencia, los cuales son inducidos por la estimulación con pulsos de luz. Dichos avances y retrasos son llamados cambios de fase. Un cambio de fase es el simple desplazamiento en la ocurrencia de una oscilación sin que esta cambie sus características de periodo y amplitud. La magnitud y dirección de los cambios de fase es dependiente del momento en que se presenta el estímulo con respecto a la oscilación en estudio, su representación gráfica se denomina curva de respuesta de fase. En dicha curva cuando a un animal nocturno se le presentan pulsos de luz al inicio del periodo de actividad (noche subjetiva temprana) se observa un retraso de fase, si el

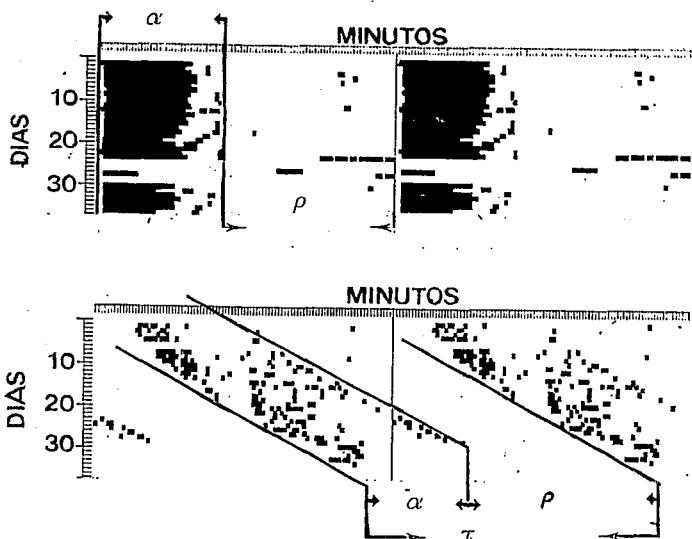


FIGURA 3 FRACCION DE ACTIVIDAD Y REPOSO.

El periodo (t) endógeno del marcapaso está compuesto por dos fracciones, una de actividad llamada alfa (α) y una de reposo llamada rho (ρ); en la parte superior se observa un ritmo circadiano de actividad locomotora en hamster sincronizado a un ciclo de iluminación, se puede distinguir claramente su fracción alfa y rho; en la parte inferior se observa un ritmo circadiano de ingesta de agua en rata en corrimiento espontáneo y nuevamente se puede distinguir claramente ambas fracciones.

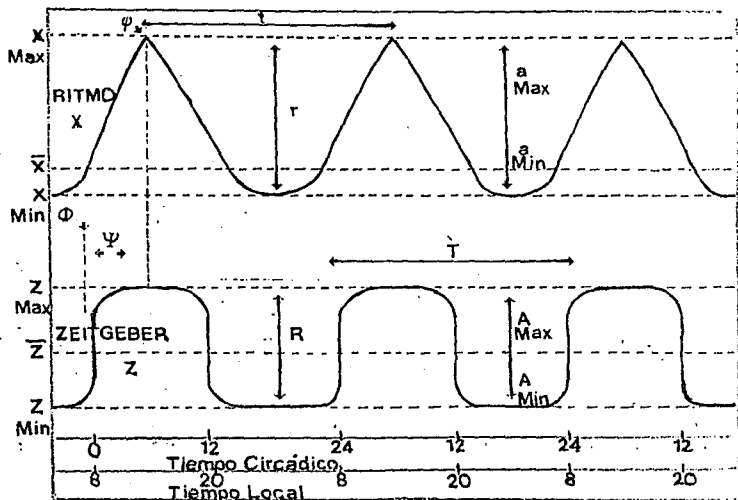


FIGURA 4 SINCRONIZACION

La sincronización es la condición en la cual el periodo (t) y la fase (ϕ) del marcapaso se ajusta al periodo (T) y la fase del estímulo cíclico externo.

estímulo se aplica al final del periodo de actividad (noche subjetiva tardía) o al principio del día subjetivo se observa un avance de fase. Durante el resto de la fase de inactividad (día subjetivo) los pulsos de luz no tienen efectos y a esta región se le denomina zona muerta. Durante un avance de fase los animales tienen un periodo mayor de 24 horas y durante un retraso tiene un periodo de menos de 24 horas (Meijer y Rietveld, 1989).

SISTEMA CIRCADICO EN LOS ROEDORES.

El sistema fisiológico responsable de mediar a la ritmicidad circádica se le denomina sistema circádico, y esta compuesto por tres componentes principales a saber:

- I) Uno o varios relojes biológicos capaces de generar oscilaciones autosostenidas (Eskin, 1979).
- II) Vías aferentes que transmiten la información temporal acerca del ambiente externo.
- III) Vías eferentes que transmiten la oscilación a las estructuras responsables de la expresión de los ritmos (Takahashi y Zats, 1982). (FIG. 5).

Como se mencionó anteriormente, el reloj biológico, es la parte del sistema circádico que tiene la capacidad de generar una oscilación usada por el animal para medir el tiempo aún en ausencia de aferentes cíclicas ambientales. En los mamíferos, en especial los roedores el NSQ se considera el oscilador principal. La lesión electrolítica del NSQ en ratas elimina diferentes ritmos circádicos (Moore y Eicler, 1972; Stephan y Zucker, 1972; Ibuka y Kawamura, 1975; Ibuka y Cols, 1977; Nagai y Cols, 1978;



FIGURA 5 SISTEMA CIRCADICO.

Los componentes del sistema circádico son: Los transductores de la información, vías aferentes que medien el proceso de sincronización, uno o varios osciladores y las vías eferentes que transmitan la información de tiempo a los efectores.

Van Den Pool y Powel, 1979 y Pickard y Turek, 1982b).

La ablación neonatal del NSQ tiene efectos persistentes durante toda la vida del sujeto (Mosko y Moore, 1978; 1979a y 1979b); en ratas y hamster el NSQ presenta ritmos circádicos de actividad eléctrica registrada "in vitro" (Groos y Mason, 1978; Groos y Hendriks, 1982; Groos y Cols, 1983; Kita y Cols, 1981; Kita y Cols, 1982; Kubota y Cols, 1981; Shibata y Cols, 1982; Shibata y Cols, 1984; Rusak y Groos, 1982; Green y Guillete, 1982) e "in situ" (Inouye y Kawamura, 1979; 1982) y de captura de 2-deoxiglucosa "in vivo e in vitro".(Schwartz y Gainer, 1977; Schwartz y Cols, 1980; Schwartz y Cols, 1983; Fuchs y Moore, 1980; Flood y Gibbs, 1982 y Newman y Hospod, 1986). Los trasplantes de NSQ fetal pueden inducir la recuperación funcional de animales arrítmicos (Drucker-Colín y Cols, 1984; Sawaki y Cols, 1984; Aguilar y Cols,1986; Lehman y Cols, 1987; De Coursey, 1989; Ralph y Lehman, 1990 y Aguilar y Cols, 1992a; 1992b). La evidencia anterior sugiere que el NSQ funciona como el marcapaso circádico principal del sistema nervioso central, además sugiere un sistema circádico monoscilador.

Sin embargo, otros núcleos hipotalámicos como el núcleo ventromedial o el area lateral hipotalámica pueden contener osciladores atenuados que no manifiestan su función de manera significativa en los organismos intactos pero serían capaces de mantener una función circádica mínima después de la lesión al NSQ (Moore, 1983). Aunque estos osciladores no son capaces de funcionar como marcapaso principal en animales intactos podrían funcionar ajustando la fase de un particular

ritmo fisiológico (Menaker, 1978). Esto sugiere una organización multioscillatoria de los ritmos circádicos en mamíferos. Idea que es corroborada por los fenómenos de partición (Splitting) en el hamster (Pittendrigh y Dan, 1976) y la desincronización interna en humanos (Ashoff 1976). El hecho de que un solo NSQ sea capaz de mantener por sí mismo una ritmicidad circádica (Pickard y Turek, 1983), sugiere que cada NSQ podría contener osciladores circádicos simples ó que cada NSQ esta organizado dentro de un complejo oscilatorio compuesto de muchas unidades. De este modo, los ritmos circádicos resultarían de la interacción de poblaciones de varios osciladores acoplados (Rusak, 1979).

Citoarquitectura del NSQ.

Los NSQ son dos acumulaciones de pequeñas neuronas densamente empaquetadas y localizadas bilateralmente en el hipotálamo ventral anterior (Aguilar y Drucker-Colín, 1987), en la base del tercer ventrículo (III v.) el cual lo divide en su parte dorsal; anatómicamente esta rodeado: Medialmente por el tracto infundibular y el receso óptico del III ventrículo; ventralmente por el quiasma óptico, dorsalmente por la porción anterior del núcleo periventricular y ocupa una posición anterior a otros núcleos hipotalámicos (Paxinos y Watson, 1982). Una zona libre de células de aproximadamente 60 micras separa al NSQ medial de la pared del III Ventrículo. (FIG. 6).

Cada NSQ tiene un volumen de cerca de 0.068 mm.³ y contiene entre 8 y 13,000 neuronas pequeñas de 7-10 micras de diámetro (Van Den Pool, 1980; Guldner, 1983). En su parte dorsomedial las

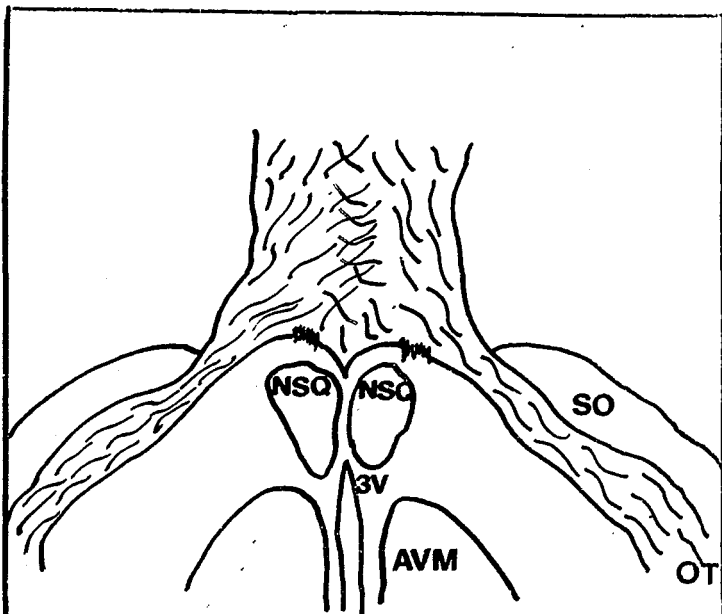


FIGURA 6 LOCALIZACION DEL NUCLEO SUPRAQUIASMATICO.

Los núcleos Supraquiasmáticos (NSQ) son dos acumulaciones de pequeñas neuronas densamente empaquetadas localizadas en el hipotálamo ventral anterior, en la base del tercer ventrículo (3V). (SO- núcleo supraóptico, OT- tracto óptico primario, AVM-núcleo ventromedial anterior).

células tienden a estar densamente empaquetadas mientras que en la región ventrolateral y rostral, la densidad celular decremente gradualmente hasta asemejarse con otras regiones del hipotálamo donde es más difícil distinguir los límites del núcleo (Van den Pool, 1980, Guldner, 1976). Esparcidas entre las neuronas se encuentran las células astrogliales (Moore, 1983), en una proporción de 1 astrocito por cada 3 neuronas (Guldner, 1983).

Muchos neurotransmisores han sido identificados en el NSQ de la rata y el Hamster (Card y Moore, 1984). Estos neurotransmisores pueden ser sintetizados dentro del NSQ o provenir de otras regiones del SNC. Los neurotransmisores endógenos del NSQ son la vasopresina, la neurofisina (Sofriniew, 1980), la bombesina, la gastrina, el GAD (Van den Pool y Gorcs, 1986), el péptido intestinal vasoactivo (Card y Cols, 1981) y el ácido gamma amino butírico; los neurotransmisores de origen externo presentes en alta densidad incluyen al polipéptido pancreático de ave (APP), la serotonina y el neuropeptido Y (NPY), el glutamato y el aspartato, estos neurotransmisores pueden provenir de las diferentes aferentes al NSQ (Card y Cols, 1983; Moore y Cols, 1984). Otros neurotransmisores presentes en los axones del NSQ son la dopamina, la norepinefrina y la epinefrina, cuya densidad dentro y fuera del NSQ es la misma (Van Den Pool, 1986). La colecistoquinina, la prolactina, la sustancia P y la hormona secretada de la tirotrina han sido detectadas en un pequeño número de axones del NSQ (Van Den Pool y Tsujimoto, 1985).

Las características estructurales finas y la distribución inmunohistoquímicas en las diferentes subpoblaciones neuronales varían en el aspecto rostrocaudal y mediolateral del NSQ (Card y Cols, 1981).

Aferentes del NSQ.

El NSQ recibe la proyección retinal bilateral directa, que viaja dorsal al quiasma óptico y termina a lo largo del aspecto ventrolateral del NSQ de la rata y hamster (Moore y Lenn, 1972 y Pickard, 1982a). Esta vía es conocida como el tracto retinohipotálamico (TRH) y esta compuesta principalmente por axones finos no mielinizados de células ganglionares retinales (Mason y Cols, 1977; Pickard, 1980, 1982a).

Una segunda aferente visual involucra proyecciones del núcleo geniculado lateral ventral (NGLv) y de la hojuela intergeniculada (HIG). Esta proyección es el llamado tracto geniculohipotálamico (TGH), es bilateral y cruza a través de tractos ópticos hasta el NSQ. Las aferentes del NGLv son confinadas al NSQ ventrolateral en estrecha relación con las aferentes retinales (Pickard, 1982a; Card y Moore, 1982). Tanto la vía retinohipotálamica como la geniculohipotálamica participan en el fenómeno de sincronización del oscilador circádico (Harrington y Cols, 1987).

Una tercer vía aferente esta representa por un sistema de fibras serotoninérgicas que se originan de neuronas del núcleo central superior (rafe medio) y rafe dorsalis las cuales son la

fuerza principal de terminales serotoninérgicas al NSQ (Nojyo y Sano, 1978). Otras aferentes al NSQ son las originadas del área retroquiasmática, del núcleo paraventricular hipotalámico, del núcleo talámico paraventricular, de la corteza subicular del hipocampo, de la porción ventral del septum lateral, de la substancia gris periacueductal mesencefálica y del núcleo dorsal del lemnisco lateral (Swanson, 1975). (FIG. 7).

Eferentes del NSQ.

Las vías neuronales eferentes del NSQ se organizan en 4 grupos principales a saber: 1) Un plexo de fibras que se dirige dorsal y caudal al NSQ, entre el núcleo periventricular y el área hipotalámica anterior. Estas fibras terminan ipsilateralmente en la parte ventral posterolateral del núcleo paraventricular, en una zona llamada subparaventricular. Otras fibras se continúan dorsalmente a partir de esta zona y terminan en la región mediodorsal del núcleo talámico paraventricular. Un pequeño número de fibras divergen rostralmente a la fimbria y al núcleo triangular del septum, la mayoría de estas fibras se continúan caudalmente al aspecto ventral del núcleo habenuar lateral; 2) Un haz de fibras cruza ventral y caudalmente a través del hipotálamo basal; conecta al NSQ con el núcleo arcuato, la eminencia media y los núcleos ventromedial y dorsomedial del hipotálamo. Un componente más lateral se continúa al núcleo mamilar prelateral, algunas fibras cruzan a través del complejo

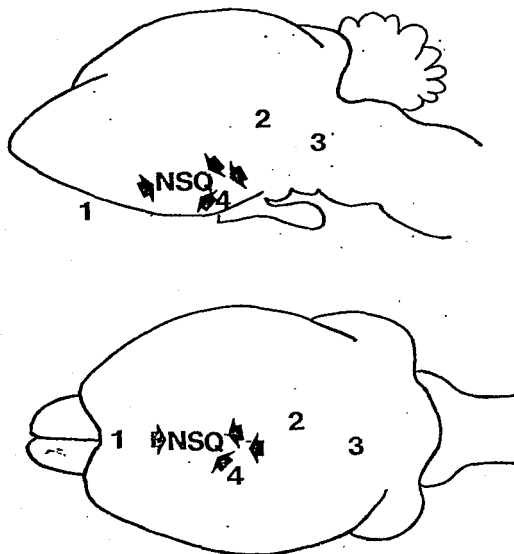


FIGURA 7 AFERENTES DEL NUCLEO SUPRAQUIASMÁTICO (NSQ).

Las aferentes del NSQ se pueden dividir en cuatro: 1) El tracto retinohipotalámico, 2) El tracto geniculohipotalámico 3) fibras que provienen de los núcleos de rafe, medio y dorsal y 4) fibras que provienen del área retroquiasmática, del núcleo paraventricular talámico, de la corteza subicular del hipocampo, de la porción ventral del septum lateral, de la sustancia gris periacueductal mesencefálica y del núcleo dorsal del lemnisco lateral.

mamilar al área ventrolateral interpeduncular. Fibras mediales viajan dorsal y caudalmente en la región periventricular hasta el mesencéfalo en la sustancia gris central; 3) La vía rostral consiste de fibras que terminan en la parte ventral del área preóptica medial, en el núcleo periventricular anteroventral, en el núcleo septal lateral intermedio, en la continuación preóptica del núcleo del lecho de la estria terminalis, en el núcleo parataenial y en la parte rostral del núcleo paraventricular del tálamo y; 4) Las fibras que salen lateralmente terminan en el NGLv, otras fibras viajan lateral y dorsal al quiasma óptico, algunas de estas fibras se continúan de una región pobre en células dorsal al núcleo supraóptico, así como dentro del núcleo supraóptico; otras fibras llegan al tálamo dorsomedial, al núcleo periventricular del tálamo y al núcleo del tracto solitario (Watts y Cols, 1987a; Stephan y Cols, 1981; Kucera y Favrod, 1979). (FIG. 8).

Inmunocitoquímicamente las fibras eferentes del NSQ a los distintos núcleos presentan principalmente vasopresina, neurofisisina y VIP (Berk y Finkelstein, 1981; Watts y Swanson, 1987b). Es probable que el control de diferentes sistemas homeostáticos sean afectados por las eferentes del NSQ para su regulación circádica (Meijer y Rietveld, 1989).

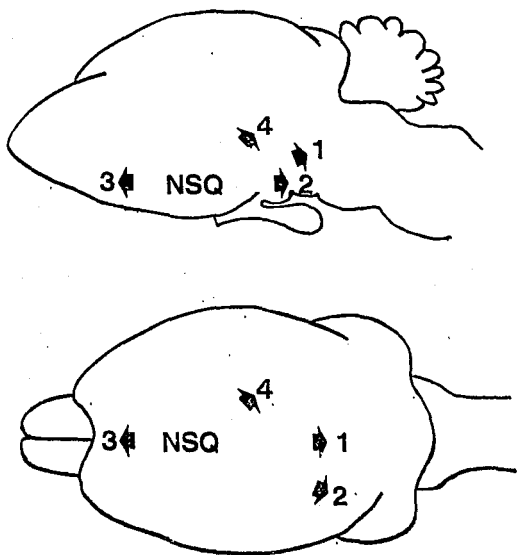


FIGURA 8 EFERENTES DEL NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO (NSQ).

Las eferentes del NSQ se pueden agrupar en 4 vías principales: 1) En un grupo de fibras que tienen dirección rostrocaudal y que terminan en la parte ventral del núcleo habenuar lateral, 2) el haz de fibras ventrocaudales que conecta al núcleo NSQ con otros núcleos hipotalámicos y que termina en la sustancia gris mesencefálica, 3) La vía rostral que termina en la parte rostral del núcleo paraventricular del tálamo y 4) Las fibras laterales que terminan en el núcleo geniculado lateral ventral.

Ontogenia de los Ritmos Circádicos.

Como se mencionó con anterioridad la ontogenia es la historia vital de un organismo a lo largo de su diferenciación, desarrollo, maduración funcional y la declinación de su eficiencia con el envejecimiento. Ya que las funciones conductuales, fisiológicas y bioquímicas dentro de un organismo muestran ritmicidad circádica, la ontogenia de una función particular incluye la aparición y los cambios en el control rítmico de ésta.

La ontogenia de los ritmos circádicos o más propiamente la ontogenia del sistema circádico se refiere a los procesos fisiológicos por medio de los cuales las partes del sistema circádico emergen y posteriormente son organizados así como la pérdida de su organización con el envejecimiento.

Generalmente después de fluctuaciones polifásicas arrítmicas iniciales emergen gradualmente ritmos de 24 horas en donde los diferentes componentes del sistema circádico se van acoplando unos con otros (Rietveld, 1990). La aparición de un ritmo circádico implica la maduración del sistema con lo cual se incrementa gradualmente la amplitud de la oscilación (Davis, 1984), y precede a los mecanismos de sincronización, ya que este último proceso solo ocurre cuando los órganos sensoriales y el SNC se han acoplado (Davis, 1984).

Durante el envejecimiento la amplitud de la ritmicidad se decrementa y el ritmo puede llegar a desaparecer, también se observan cambios en las relaciones de fase entre los distintos ritmos fisiológicos (desincronización interna) y decremento en la capacidad de los individuos a ajustarse a cambios de fase en los ciclos ambientales (Davis, 1984). Lo anterior sugiere que, la capacidad del sistema circádico para mantener el orden temporal se deteriora con la edad.

Si el NSQ es el principal oscilador circádico, los ritmos circadianos que van apareciendo secuencialmente en diferentes etapas del desarrollo reflejarían la maduración secuencial de las vías eferentes del núcleo o bien la de los mecanismos homeostáticos involucrados. Por otra parte, la pérdida de la ritmicidad con la vejez puede ser debida a alteraciones en los mecanismos neurales del reloj los cuales serían los responsables del deterioro generalizado en la organización circádica (Richardson, 1990).

Aunque el periodo de los ritmos circadianos y su desarrollo ontogenético están genéticamente determinados (Aschoff 1960) éstos son susceptibles de ser afectados por diversos tipos de factores nocivos externos como la desnutrición.

ANTECEDENTES ESPECIFICOS

Los estudios experimentales sobre el ciclo sueño-vigilia en ratas adultas han mostrado que la desnutrición ocasiona una reducción del sueño de ondas lentas (SOL) y del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), así como un incremento en la vigilia (Forbes y Cols, 1977); en niños desnutridos se han reportado hallazgos similares (Drucker-Colín y Cols, 1976).

En la rata, la privación sensorial y nutricional incrementa la duración media del MOR únicamente durante el día y disminuye la duración de la vigilia y el SOL durante la noche (Salas y Cols, 1983); lo anterior sugiere alteraciones de la regulación circádica del sueño.

En un estudio reciente en el que se analizó la ritmicidad circádica del ciclo sueño-vigilia se pudo constatar que la desnutrición crónica interfiere en forma importante en los procesos de control del ciclo sueño-vigilia y probablemente en su ritmicidad circádica (Cintra y Cols, 1988).

Sin embargo, el ciclo sueño-vigilia es un paradigma técnicamente difícil para estudiar el efecto de la desnutrición proteínica sobre la ontogenia de la ritmicidad circádica, ya que no es posible registrar al sujeto por largos periodos de tiempo.

Es por esto que el objetivo del presente estudio fue el de analizar los efectos de la desnutrición proteínica sobre la ontogenia de los ritmos circádicos a través del estudio de la ingesta de agua en ratas. Este modelo nos permite por una parte poder realizar el registro conductual en forma continua por

largos intervalos de tiempo y el análisis del mismo, nos permite caracterizar a las fases de actividad y reposo de un ciclo circádico. Al mismo tiempo, podemos caracterizar la ritmicidad circádica y podemos manejar y controlar las distintas variables experimentales como son: La temperatura, iluminación y alimentación (dieta).

M A T E R I A L Y M E T O D O .

ANIMALES Y CONDICIONES GENERALES:

Se usaron ratas de la cepa Sprague-Dawley de ambos sexos; los animales se mantuvieron bajo un ciclo de iluminación de 12 hrs de luz y 12 hrs de oscuridad (las luces se encendían a las 8 am.). Los cuartos de animales estaban sonooamortiguados y la temperatura se mantenía entre los 20 y 22° C. La comida y el agua se encontraban disponibles en forma continua. Las jaulas de animales se limpiaban cada tercer día y se cambiaban cada semana.

DIETA Y MODELO DE DESNUTRICION

El diseño experimental requirió de dos dietas isocalóricas elaboradas por la Cia. Teklad, (Madison, Wisconsin 53711), que diferían exclusivamente en el porcentaje de caseína que contenían, 25% en la dieta normal (grupo control) y 6% en la dieta hipoprotéinica (el grupo experimental). Ambas dietas se administraban en forma de Pastillas codificadas con diferente color (Pellets).

Se emplearon 30 ratas hembras con un peso de 200-300 gr y 10 machos cuya edad fluctuaba entre los 90 y 100 días; para la crusa se utilizaron 3 hembras, las cuales fueron colocadas en cajas con un macho hasta que se aparearon. Las hembras preñadas fueron separadas en cajas individuales. El procedimiento de obtención de sujetos experimentales consistió en dividir en dos lotes el número total de hembras (n=10) de modo que cada lote de (5

hembras) fue alimentado con una dieta experimental distinta durante un periodo que abarcó cinco semanas antes del apareamiento, durante la gestación y la lactancia. Posteriormente los animales nacidos de estos sujetos se alimentaron con las dietas respectivas a la camada de origen. De tal modo que se cubrió la etapa prenatal y postnatal del desarrollo. Los machos seleccionados para aparearse con las hembras consumieron una semana antes la dieta semejante a la suministrada a las hembras del lote correspondiente (25% ó 6% de caseína).

REGISTRO CONDUCTUAL

A los 30 días de edad, (el momento del destete en la rata) los sujetos de ambos grupos fueron colocados en cajas individuales de plástico transparente (50x30x35 cm) donde se monitoreó su ingesta de agua en forma continua hasta los 100 días de edad. Las cajas tenían una placa de aluminio en el piso. Justo por encima de la placa se colocó una botella con agua con un bebedero de acero inoxidable cubierto con un tubo de plástico que sobresalió 2mm del orificio de salida del mismo. Para que el sujeto bebiera el agua fue necesario que se parara sobre la placa del piso e introdujera la lengua un par de milímetros dentro del plástico protector, esto garantizaba que la rata solo hiciera contacto con el bebedero cuando tomaba agua y no al realizar otras actividades. La placa y el bebedero se conectaban a un sensor, el cual cada vez que la rata tocaba el bebedero cerraba un circuito, lo que generaba una señal eléctrica. Esta última fue detectada y colectada en una computadora apple IIe; la

cual almacenó la información cada 30 segundos, la que posteriormente fue compactada en archivos de 15 min. La información se almacenó en discos flexibles. Los datos así obtenidos fueron utilizados para su posterior graficación y análisis estadístico en un computadora PC-386. (FIG. 9). Inicialmente los datos se graficaban como actogramas dobles (double plot). A partir del análisis visual y gráfico de los actogramas se obtuvieron los datos t_i , t , $\bar{\delta}_i$ y $\bar{\delta}$. Posteriormente, los datos se analizaron con el método de Fourier para determinar su densidad espectral.

El actograma es un tipo de graficación que consiste de una serie de histogramas individuales ordenados secuencialmente, cada histograma representa en las abscisas los intervalos de tiempo de registro en que se dividió un día y en las ordenadas la intensidad de la variable estudiada, así como los distintos días de registro arreglados a manera de renglón.

En el actograma en "double plot" se repite la misma gráfica en el lado izquierdo pero desfasada un día sobre la escala de las Y, de esta forma se observan consecutivamente en un renglón el día 1 y 2, en el siguiente los días 2 y 3 y así sucesivamente. En esta gráfica si el periodo de la ritmicidad es mayor que 24 horas la gráfica presentará una pendiente negativa y si es menor a 24 horas la pendiente de la gráfica será positiva.

El análisis de densidad espectral descompone una señal de tiempo dentro de sus frecuencias constituyentes y registra la amplitud de cada componente en el dominio de las frecuencias.

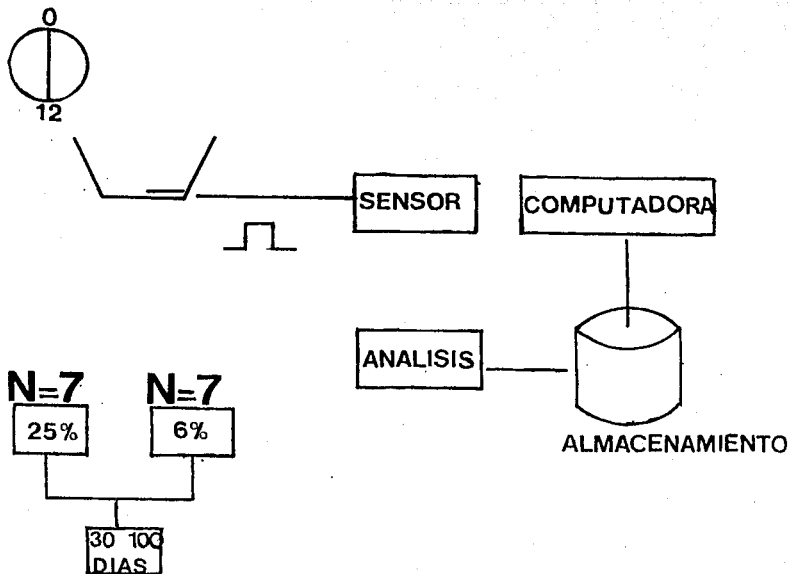


FIGURA 9 DIAGRAMA DEL SISTEMA DE REGISTRO.

El diagrama del sistema de registro nos muestra los principales componentes de la captura, almacenamiento y analisis de los datos.

A N A L I S I S .

Los parámetros de arquitectura del ritmo de ingesta de agua registrado bajo el ciclo luz/obscuridad se estimaron por la siguiente técnica, se analizaron 10 días al inicio del registro y 10 días al final del registro y se procedió a determinar para cada día: 1) La fase promedio del inicio de la fracción de actividad de cada ciclo (alfa), la cual en la gran mayoría de los registros es un marcador altamente preciso de la ritmicidad, 2) la fase promedio del inicio de la fracción de reposo (Rho), 3) a partir de dichos valores se determinó la duración de los segmentos de reposo y de actividad para cada ciclo, estos parámetros se denominan π y α respectivamente. 4) El valor de tau se obtuvo de acuerdo a la fórmula:

$$(\text{Alfa } i + \text{Rho } i = \text{Tau})$$

5) El ángulo de fase de alfa y de rho con respecto al momento en que se apagaron las luces. 6) Además se realizó la estadística descriptiva para cada uno de los parámetros antes mencionados en los segmentos inicial y final del registro, es decir la duración promedio de los segmentos de actividad y reposo, el período del ciclo y la fase del inicio de la actividad, estos parámetros se denominan alfa, rho, tau, phi, así como su variabilidad (α_s , ρ_s , τ_s , ϕ_s).

La variación estadística de estos parámetros puede ser usada como un estimado de la labilidad de los ritmos circádicos. Entendiéndose esta última como la dificultad del sistema para mantener un estado estable. Esta labilidad en tau no es al azar,

sino que refleja la capacidad del marcapaso de preservar el estado estable, caracterizado por tau, el cual puede ser susceptible a ser sincronizado por agentes externos. (Pittendrigh y Daan, 1976).

Los resultados de estas mediciones se compararon mediante la prueba t de student para grupos independientes (comparación entre grupos) y la prueba t pareada (para comparación entre individuos). El nivel de significancia se ajustó a $p < 0.05$.

RESULTADOS.

Se registraron 14 animales (7 control y 7 desnutridos) a partir de los 30 días de edad, los registros se llevaron acabo sin contratiempos y en forma continua. Ejemplos de registros obtenidos se muestran en la figura 10 y 11 para dos sujetos control y en la figura 12 y 13 para dos sujetos desnutridos.

En los sujetos control los primeros días de registro se caracterizaron por que la arquitectura del ritmo de ingesta de agua no estaba bien definida (Fig. 10 y 11), presentándose varios componentes transitorios, que posteriormente eran sincronizados al ciclo luz:oscuridad y se compactaban en un solo bloque de actividad. La duración de las fracciones alfa y rho del ritmo de ingesta de agua, en los primeros días de registro (30 días), se caracterizó por ser muy variable entre los sujetos y la fraccion de actividad predominó sobre la fraccion de reposo. (Tabla I). A los 90 días los valores eran homogéneos entre los sujetos, la duración de las fracciones de actividad y de reposo eran semejantes entre si, aunque alfa seguía siendo ligeramente mayor que rho, (Tabla II). Ambas fracciones eran distinguidas fácilmente en el registro y el aspecto del actograma era muy semejante al de un sujeto adulto.

El ajuste de fase en estos sujetos fue siendo cada vez más preciso. En los primeros días de registro los sujetos mostraban dificultades para ajustarse a la fase del ciclo de iluminación, en los días posteriores dicho ajuste fue mejorando, finalmente todos los sujetos mostraron una clara sincronización.

El registro en los sujetos desnutridos (Fig. 12 y 13), se caracterizó por ser muy variable entre los sujetos, en los primeros días presentaron componentes transitorios los cuales no se fusionan en un solo bloque de actividad a lo largo de todo el registro. La fracción de actividad predominó en estos sujetos (Tabla II), estando rho muy disminuída en ambas edades. En estos sujetos el ajuste de fase fue impreciso y al inicio aparentemente no ajustaban su fase al del ciclo de iluminación, posteriormente presentaban continuos adelantos del ángulo de fase del inicio del alfa respecto al inicio de la obscuridad.

En el análisis de densidad espectral se encontró que los sujetos control (Fig. 14) presentaban un componente principal con un periodo de 24 horas y componentes armónicos en los rangos ultradianos e infradianos. En contraste, los sujetos desnutridos (Fig. 15) presentaron varios componentes cercanos a las 24 horas, además de componentes de gran potencia en frecuencias ultradianos e infradianos.

Con el fin de tener una descripción cuantitativa de los fenómenos antes mencionados se procedió a analizar la arquitectura y la labilidad de los ritmos circadianos de la forma descrita en la seccion de métodos. (Tabla I-IV).

La arquitectura del ritmo (alfa y rho) de ingesta de agua en sujetos control y desnutridos se presentan en la figura 16 para la edad de 30 y 90 días. En esta gráfica se observa que a los 30 días los sujetos control presentan valores medios de la fracción de actividad y de reposo semejantes, siendo alfa de 12.05 ± 3.3 horas y rho de 11.75 ± 2.5 horas; a los 90 días se observa que rho

30 DÍAS CONTROL

TABLA I

No. SUJETO	ALFA	RHO	TAU	PHI
1.	11.90	11.90	23.80	-0.70
2	8.60	12.40	21.00	-0.29
3	11.30	12.90	24.20	1.30
4	17.90	7.70	25.60	5.60
5	8.00	16.00	24.00	-0.70
6	13.60	10.40	24.10	1.36
7	13.10	11.00	24.00	0.82
\bar{x}	12.05	11.75	23.81	1.05
SD	3.30	2.53	1.37	2.19

TABLA I Datos para los 30 días de edad de sujetos control para los diferentes componentes de la arquitectura de un ciclo circádico (Los datos se expresan en horas).

90 DIAS CONTROL

TABLA II

No. SUJETO	ALFA	RHO	TAU	PHI
1	11.00	13.00	24.00	0.08
2	12.40	10.20	23.60	0.80
3	12.20	10.80	24.10	1.10
4	10.60	13.40	24.00	-1.00
5	12.30	11.80	24.10	1.10
6	13.60	10.45	24.10	1.36
7	13.00	11.00	24.00	0.82
\bar{x}	12.15	11.52	23.98	0.60
SD	1.05	1.25	0.17	0.81

TABLA II Datos de sujetos control de los 90 días de edad para los diferentes componentes de la arquitectura de un ciclo circádico (Los datos se expresan en horas).

30 DIAS DESNUTRIDO.

TABLA III

No. SUJETO	ALFA	RHD	TAU	PHI
1	19.44	4.77	24.22	6.33
2	13.50	10.60	24.10	0.90
3	16.12	8.12	24.25	1.25
4	15.80	8.40	24.20	2.10
5	13.20	11.20	24.40	5.90
6	15.80	7.87	23.50	2.77
\bar{x}	15.64	8.49	24.11	3.20
SD	2.24	2.28	0.31	2.54

TABLA III Datos de edad de sujetos desnutridos de 30 días de edad para los diferentes componentes de un ciclo circádico (Los datos se expresan en horas).

90 DIAS DESNUTRIDOS

TABLA IV

No. SUJETO	ALFA	RHO	TAU	PHI
1	15.80	8.50	24.50	3.30
2	13.00	11.00	24.00	0.80
3	15.70	9.00	24.72	1.00
4	12.70	10.80	23.50	0.30
5	13.30	11.10	24.40	7.40
6	13.70	12.70	26.40	2.50
\bar{X}	14.03	10.51	24.50	2.55
SD	1.37	1.53	0.94	2.63

TABLA IV. Datos de sujetos desnutridos de 90 días de edad para los diferentes componentes de un ciclo circádico (Los datos se expresan en horas).

aumenta ligeramente; siendo alfa de 12.15 ± 1.05 horas y rho de 11.52 ± 1.2 horas.

Los sujetos desnutridos, en cambio, presentarán a los 30 días la fracción de actividad incrementada siendo el valor medio de alfa de 15.64 ± 2.2 horas y el de rho de 8.49 ± 2.2 horas. A los 90 días se observó que alfa sigue aumentada pero sus valores disminuyeron en comparación a los observados a los 30 días, siendo de 14.03 ± 1.3 horas para alfa y 10.51 ± 1.5 horas para rho. Las diferencias entre los valores de alfa entre los sujetos desnutridos y los controles fueron estadísticamente significativos a ambas edades. (30 días $F=2.2$, $T= 2.23$, $P< 0.05$; 90 días; $F=1.7$, $T=2.79$, $P< 0.05$).

La índice alfa/rho es un buen marcador para determinar la relación que existe entre la fracción de actividad y la de reposo, en la figura 17 se presenta el índice alfa/rho. Se observa que para los sujetos control la relación entre la actividad y el reposo es constante ya que los valores oscilan entre 1.2 ± 0.61 para los 30 días y 1.07 ± 0.20 para los 90 días. En cambio en los sujetos desnutridos a los 30 días el valor del índice alfa/rho es muy alto, 2.37 ± 1.45 horas, sin embargo con el paso del tiempo el valor va disminuyendo, así a los 90 días es de 1.49 ± 0.33 horas. Sin embargo el valor de dicha relación en los desnutridos sigue siendo significativamente mayor que en los sujetos control. ($F= 2.86$; $T= 2.75$, $P< 0.05$).

En la figura 18 se muestra la gráfica del desarrollo de tau, registrado a los 30 y 90 días para los sujetos control y desnutridos. A los 30 días los sujetos control presentaron un

valor medio del periodo de 23.8 ± 1.3 horas y a los 90 días el valor medio del periodo es de 23.98 ± 0.17 horas, lo que nos sugiere que los sujetos están sincronizados desde los 30 días de edad. A los 30 días los sujetos desnutridos presentaron un periodo de 24.11 ± 0.12 horas y de 24.50 ± 0.40 horas a los 90 días lo cual nos indica trastornos en la capacidad de sincronización en estos animales que perdura hasta los 100 días de edad.

El desarrollo del ángulo de fase se presenta en la figura 19 para los sujetos control y desnutrido para ambas edades. A la edad de 30 días los sujetos control presentaron un ángulo de fase de $+1.05 \pm 0.82$ horas y a los 90 días el valor del ángulo de fase es de $+0.60 \pm 0.30$ horas. En los sujetos desnutridos a los 30 días el ángulo de fase presenta un valor $+3.20 \pm 0.95$ horas mientras que a los 90 días es de $+2.55 \pm 1.07$ horas. Estos resultados también sugieren que la desnutrición ocasiona una interferencia en el proceso de sincronización.

En general, la labilidad de los parámetros del marcapaso ha sido definida por Pittendrigh y Dann (1976) como el equivalente a la variabilidad día a día de dichos parámetros. Para evaluarlos se computó la desviación estandar en diez días consecutivos de cada parámetro en estudio. Posteriormente se procedió a calcular en base a dichos valores los parámetros de estadística descriptiva (media y desviación estandar).

En la figura 20, se presenta una gráfica con la labilidad del índice α/ρ en sujetos control y en sujetos desnutridos para las edades de 30 y 90 días. Los sujetos control presentaron a los 30 días un valor de 0.62 ± 0.21 a los 90 días el valor fue de

0.31 ± 0.22 . En cambio los sujetos desnutridos presentaron un valor a los 30 días de 0.96 ± 0.64 y a los 90 días fue de 0.59 ± 0.3 .

La labilidad de tau se presenta en la figura 21, en esta gráfica se puede observar que a la edad de 30 días los sujetos control presentaron un valor de 2.79 ± 1.3 , el cual descendió a los 90 días a 1.83 ± 0.92 ; en cambio los sujetos desnutridos a los 30 días presentaban un valor de labilidad de 2.35 ± 0.79 y a los 90 días aumento a 3.1 ± 1.9 .

El ángulo de fase es un buen indicador de que tan sincronizados están los sujetos, la labilidad de este parámetro nos indicaría que tan eficiente es la sincronización a estas dos edades; a los 30 días los sujetos control presentaron un valor de la labilidad de 2.6 ± 1.6 el cual fue disminuyendo con el paso del tiempo y a los 90 días alcanza un valor de 1.48 ± 0.84 , este efecto descendente sugiere que la sincronización del ritmo cada vez es más eficiente. En cambio los sujetos desnutridos presentan a los 30 días un valor de labilidad de 1.65 ± 0.50 el cual aumenta a los 90 días a 2.21 ± 1.06 lo cual nos sugiere que a estos sujetos les cuesta trabajo sincronizarse al ciclo de iluminación (Fig. 22).

CONTROL

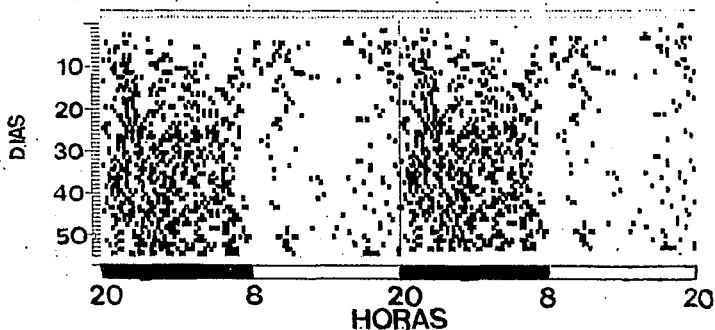


FIGURA 10 ACTOGRAMA DE ACTIVIDAD.

Actograma de la conducta de ingesta de agua para un sujeto control, en los primeros días se observa componentes transitorios y días posteriores se forma un bloque de actividad.

CONTROL

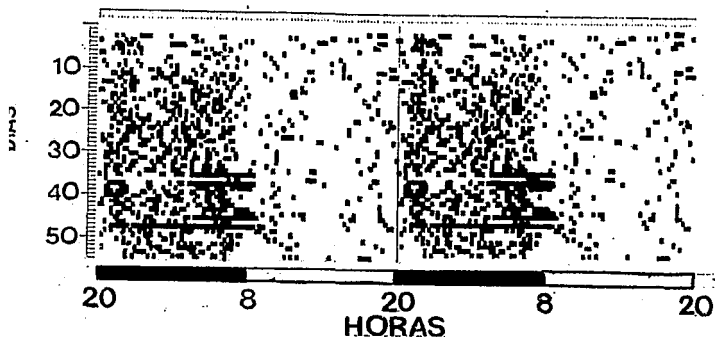


FIGURA 11 ACTOGRAMA DE ACTIVIDAD.

Actograma de la conducta de ingesta de agua para un sujeto control, se observa en los primeros días bloques de actividad transitorios que posteriormente se compactan en un solo bloque de actividad.

DESNUTRIDO

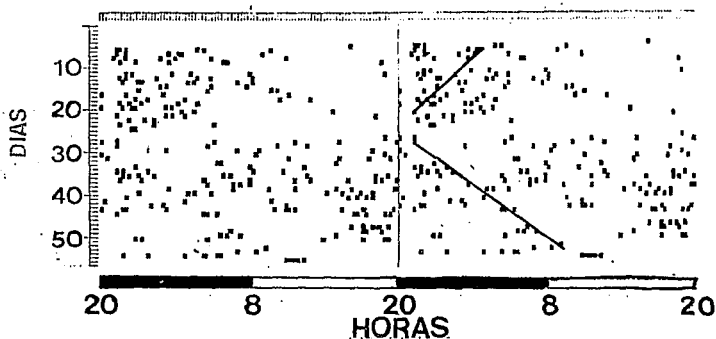


FIGURA 12 ACTOGRAMA DE ACTIVIDAD.

Actograma de la conducta de ingesta de agua para un sujeto desnutrido, en los primeros días de registro se observa componentes transitorios, los cuales nunca llegan a formar un solo bloque de actividad.

DESNUTRIDO

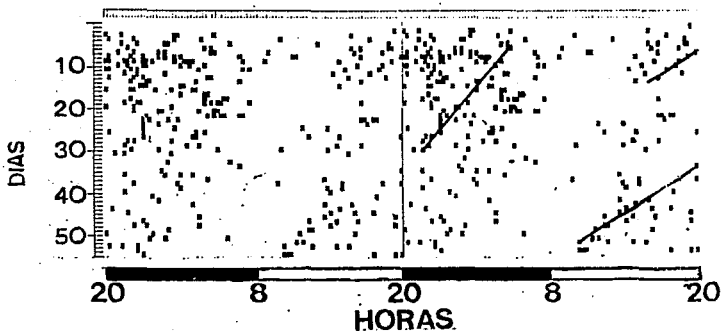


FIGURA 13 ACTOGRAMA DE ACTIVIDAD.

Actograma de la conducta de ingesta de agua para un sujeto desnutrido, se observa en los primeros días de registro bloques de actividad transitorios los cuales no llegan a compactarse en un solo bloque.

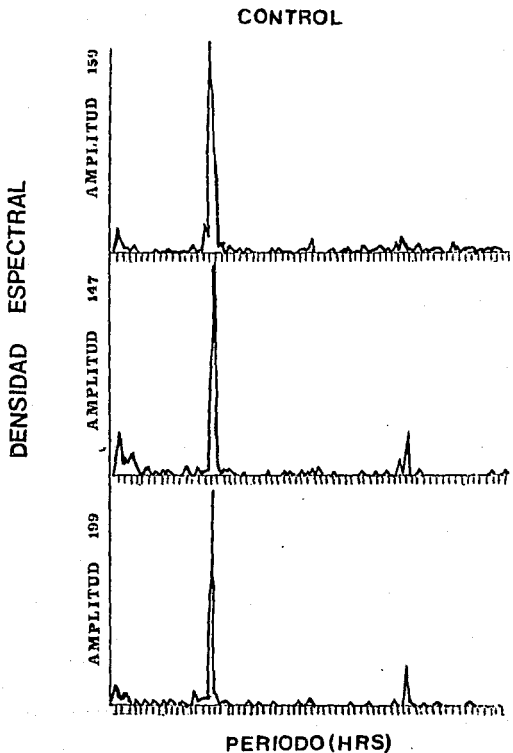


FIGURA 14 DENSIDAD ESPECTRAL.

Densidad espectral de tres sujetos control, en las que se observa un componente de 24 horas con amplitudes que van del rango de 140-200 en los tres sujetos.

DESNUTRIDO

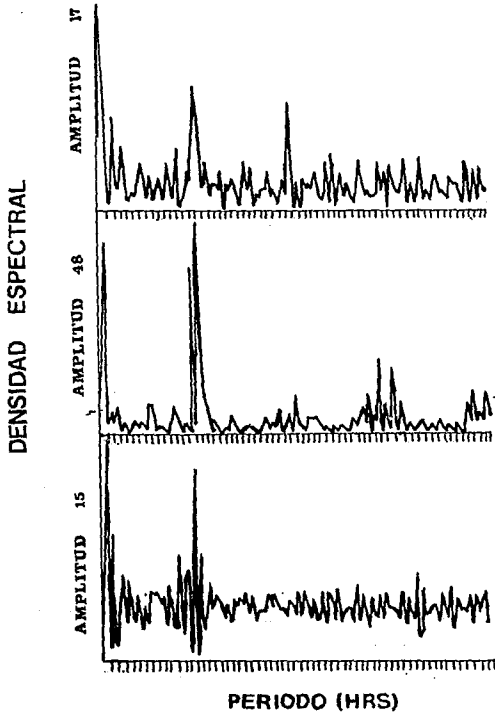


FIGURA 15 DENSIDAD ESPECTRAL.

Densidad espectral de tres sujetos desnutridos, en las que se observan varios componentes cercanos a las 24 horas con amplitudes que van del rango de 10-50 en los tres sujetos.

ARQUITECTURA DEL CICLO CIRCADICO

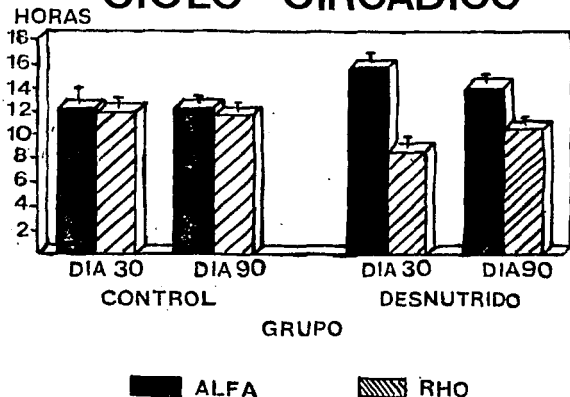


FIGURA 16 ARQUITECTURA DEL CICLO CIRCADICO.

En está gráfica se observa el valor en horas para la actividad y el reposo en ambas edades, los sujetos control presentaron valores cercanos a las 12 horas tanto para alfa como para rho en ambas edades, en cambio, los sujetos desnutridos presentaron a los 30 y 90 días mas actividad que reposo.

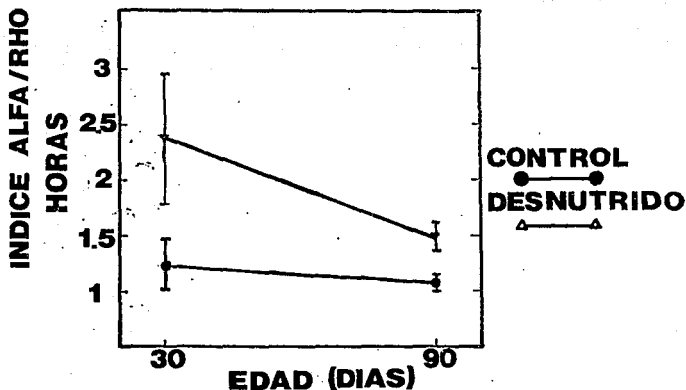


FIGURA 17 INDICE ALFA/RHO.

El índice alfa/rho en ambas edades en el grupo control se encontró muy cercano a 1 en cambio para el grupo desnutrido a los 30 días presentó un valor de 2.3. Los sujetos de 90 días de edad mostraron un valor de 1.4; este índice nos muestra la relación entre el tiempo ocupado en la actividad y el reposo.

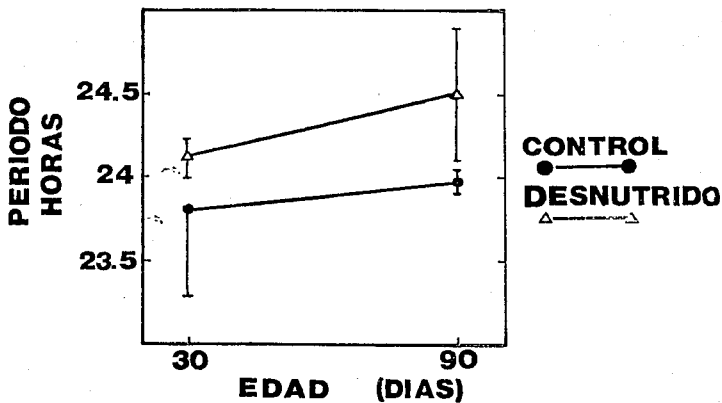


FIGURA 18 PERIODO.

El periodo en los sujetos control tiende a acercarse a las 24 horas con el paso del tiempo, en cambio los sujetos desnutridos tienden a alejarse de las 24 horas.

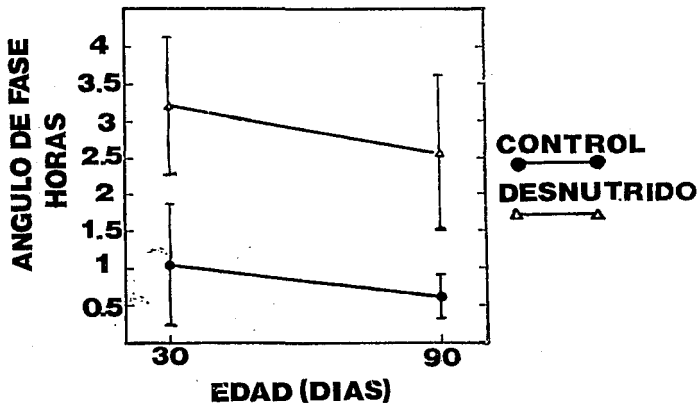


FIGURA 19 ANGULO DE FASE.

Los sujetos control con el paso del tiempo tendieron a ajustar su fase a la fase del "zeitgeber", en cambio en el grupo desnutrido el ajuste de fase era pobre presentando constantes adelantos del ángulo de fase.

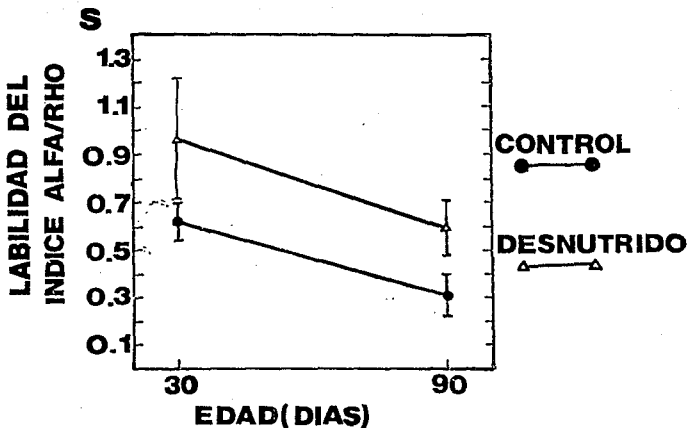


FIGURA 20 LABILIDAD DEL INDICE ALFA/RHO.

El grupo control presentó en ambas edades una menor labilidad en comparación con el grupo desnutrido.

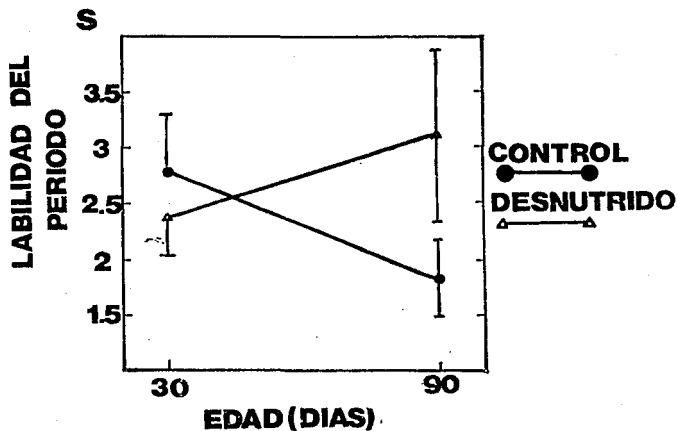


FIGURA 21 LABILIDAD DEL PERIODO.

Los sujetos control presentaron mayor labilidad a los 30 días pero a los 90 días está disminuy6, en cambio en los sujetos desnutridos la labilidad fue aumentando propiamente.

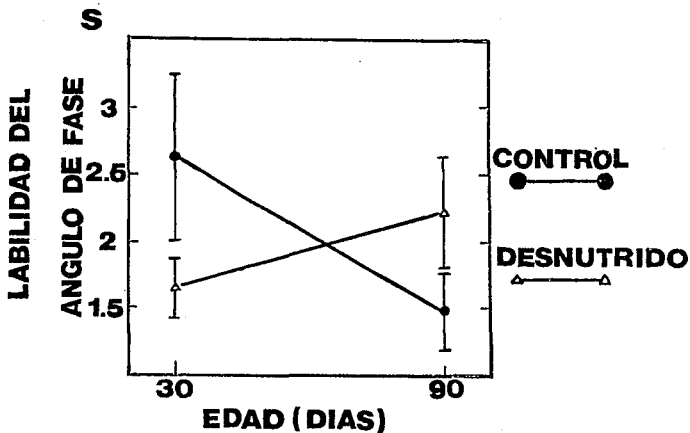


FIGURA 22 LABILIDAD DEL ANGULO DE FASE.

El grupo control presentó disminución en la labilidad del ángulo de fase con el paso del tiempo, en cambio en los sujetos desnutridos la labilidad fue aumentando.

D I S C U S I O N

El patrón conductual observado en los sujetos control nos muestra componentes ultradianos transitorios que posteriormente son compactados en un solo bloque circádico. Esto sugiere que el proceso ontogénico normal del sistema circádico consiste en la organización de eventos o fluctuaciones ultradianas hacia un rango circádico. En cuanto a la arquitectura del ritmo de los sujetos de 30 días de edad, la fracción de actividad (alfa) tiene un valor ligeramente superior a la fracción de reposo (rho), posteriormente en los sujetos de 90 días de edad, ambas fracciones presentan valores similares. El ajuste de fase sufre cambios sucesivos que lo van haciendo cada vez mas preciso con respecto al ciclo luz/obscuridad.

Se ha reportado que las primeras señales de ritmicidad circádica en el NSQ de la rata aparecen sobre el día 1 postnatal (Fuchs y Moore, 1980), otros ritmos circádicos como el del nivel de corticosterona plasmática, la actividad de la N-Acetiltransferasa pineal, la actividad motora y la temperatura corporal surgen dentro de las 2 ó 3 primeras semanas postnatales, tiempo en el que sucede el desarrollo de conexiones neurales en el cerebro de la rata. En este organismo las neuronas del NSQ se forman por el día embrionario 18 (Ifft, 1972). EN el día 1 postnatal el neuropilio del NSQ no está bien desarrollado y contiene pocas sinápsis, para el día 4 postnatal aparecen una diversidad de tipos sinápticos y para el día 21 postnatal

alcanza su maduración morfológica completa (Lenn y Moore, 1977). El inicio de la ritmicidad en el NSQ parece ser previa a su maduración morfológica, sin embargo la ritmicidad en el resto del organismo depende del desarrollo de una comunicación apropiada entre NSQ con sus órganos blanco y la capacidad de los órganos blanco a responder a sus aferentes. En los primeros días postnatales el sistema circádico no es afectado por cambios en el ambiente pero gradualmente se sincroniza a estímulos ambientales periódicos (Rietveld, 1990); el proceso de sincronización emerge cuando los organos sensoriales (transductores de la señal de iluminación) y el marcapaso se acoplan lo cual sucede alrededor del día 3-4 postnatal cuando el tracto retinohipotalámico (TRH) se desarrolla e inerva al núcleo Supraquiasmático (NSQ) (Stanfield y Cowan, 1976, Felong, 1976). Este desarrollo progresivo del TRH probablemente contribuye a las respuestas del marcapaso a la iluminación del ambiente en los primeros 21 días, que es cuando la maduración funcional del NSQ es alcanzada y cuando los ritmos y la respuesta a la luz (sincronización) se asemejan a la del adulto. Todo lo anterior indica que la maduración sucesiva de los distintos componentes que forman al sistema circádico conduce a la expresión de un patrón conductual normal.

Ahora, ya que el sistema circádico esta compuesto tanto por las vías aferentes que median el proceso de sincronización, por uno o varios osciladores y las vías eferentes que transmiten la señal de tiempo a los efectores (Takahashi y Zats, 1982), cualquier estímulo nocivo que pueda dañar a estas estructuras

ocasionará trastornos sobre la conducta circádica. La desnutrición es uno de los estímulos nocivos más comunes en nuestra sociedad además de que afecta el desarrollo normal del sistema nervioso central.

Este estudio nos muestra que los sujetos desnutridos se caracterizan por presentar componentes ultradianos transitorios los cuales nunca llegan a fusionarse en un solo bloque de actividad durante la duración del registro. Además en estos sujetos la fracción alfa fue predominante a lo largo de todo el registro y el ajuste de fase al estímulo sincronizador fue deficiente presentándose adelantos continuos de de fase. Lo anterior sugiere que la desnutrición impide que el proceso de sincronización se lleve a cabo en forma adecuada.

Además el valor del índice alfa/rho en los sujetos control no varía en ambas edades, en cambio en los sujetos desnutridos este índice a los 30 días presenta un valor elevado como resultado de que la fracción alfa está aumentada pero a los 90 días el valor del índice alfa/rho tiende a disminuir.

Estos resultados son consistentes con un reporte previo en el cual se indica que la desnutrición proteínica instalada pre y postnatalmente produce alteraciones sobre el sistema circádico en el ciclo sueño-vigilia. (Cintra y Cols, 1988).

La presencia ocasional de más de dos componentes transitorios en los sujetos desnutridos es consistente con el modelo de Pittendrigh y Dan, en el cual los roedores nocturnos presentan una organización oscilatoria-dual claramente evidente en los animales que sufren partición, Splitting. (Pittendrigh y

Dann, 1976). Dicho modelo propone que la intensidad de luz tiene un efecto opuesto y diferencial (Dann y Berde, 1978) sobre los periodos de los dos osciladores (o grupos de osciladores), uno que controla el inicio de la actividad y puede ser sincronizado por la obscuridad y el otro (B) que controla el inicio del reposo y puede ser sincronizado por la iluminación, bajo condiciones de luz-obscuridad A y B están acoplados mutuamente, cuando ocurre la partición del ritmo se atribuye a un avance de fase de A en relación a B.

En los sujetos desnutridos se presentan varios componentes que se unen y se separan a lo largo de todo el registro, lo cual sugiere que en estos animales el sistema circádico presenta un acoplamiento deficiente entre sus osciladores endógenos.

También es probable que el marcapaso circádico esté compuesto de un gran número de osciladores acoplados con propiedades similares diferentes solo en su periodo endógeno. Bajo condiciones normales los osciladores asumen un periodo circádico común como resultado de un acoplamiento mutuo. La desnutrición podría romper este acoplamiento entre los osciladores, probablemente afectando a los diversos procesos celulares que ocurren durante el periodo vulnerable como son el desarrollo acelerado de conexiones interneuronales (Middleton, 1985) y la mielinización de los axones (Sobotka y Cols, 1974), además la desnutrición reduce significativamente el número total de espinas dendríticas, el grosor y el campo en que se distribuyen estas ramificaciones, reduciendo así la capacidad integrativa de los circuitos neuronales (Salas, 1978). De este

modo en los sujetos desnutridos se podrían acentuar las diferencias entre los periodos endógenos de los osciladores o alterar la comunicación entre ellos.

El análisis de densidad espectral corrobora lo dicho anteriormente. Los sujetos control presentan fuertes componentes de 24 horas con amplitudes grandes, en cambio, en los sujetos desnutridos se presentan varios componentes cercanos a las 24 horas con amplitudes bajas, además de que presentan ritmos ultradianos e infradianos. Lo cual sugiere que se presenta un retraso en la maduración de los componentes del sistema circádico, ya que estos ritmos ultradianos e infradianos se presentan solamente en edades tempranas en los sujetos normales.

La fracción de actividad y reposo en los sujetos control se mantuvo constante en valores cercanos a las 12 horas en ambas edades, lo cual nos indica que a los 30 días de edad la regulación de la arquitectura circádica ya se encuentra madura. En cambio en los sujetos desnutridos la fracción de actividad es predominante durante todo el registro, lo cual es consistente con otras observaciones que indican que la desnutrición induce una hipersensibilidad conductual y un aumento del estado de alerta debido posiblemente a un aumento en la concentración de algunos neurotransmisores (Shoemaker y Wurtman, 1971), es decir el organismo permanece más tiempo alerta y activo. Del mismo modo la mayor cantidad de actividad (alfa) a lo largo del día es consistente con otros datos que indican que aumenta la cantidad de vigilia en el ciclo sueño-vigilia bajo condiciones de

desnutrición (Salas y Cols, 1983 y Cintra y Cols, 1988). Es posible que los neurotransmisores involucrados en el sistema circádico también pudieran estar alterados ocasionando los efectos conductuales antes mencionados.

Los sujetos control muestran una mayor estabilidad del índice alfa/rho tanto a los 30 como a los 90 días en comparación a los sujetos desnutridos, sin embargo las pendientes de ambos grupos son similares lo cual sugiere que la maduración es paralela en ambos grupos pero con un retraso en los sujetos desnutridos. Esta alteración en el índice alfa/rho puede deberse como se dijo anteriormente a un desorden en los neurotransmisores que ocasionaría una mayor cantidad de actividad. Por otra parte el hecho de que la maduración sufra un retraso debido a la desnutrición no es sorprendente, Gramsbergen en 1976 reportó un retraso en la maduración del EEG en sujetos desnutridos.

Con respecto al periodo en condiciones de sincronización (τ) el grupo control presenta una clara sincronización al ciclo de iluminación presentando periodos muy cercanos a la 24 horas en ambas edades, no obstante la labilidad del periodo se reduce de los 30 días a los 90, lo cual sugiere la maduración progresiva en los mecanismos de sincronización del oscilador. Los sujetos desnutridos también presentan periodos cercanos a las 24 horas en ambas edades, pero en contraste con los controles la labilidad del periodo es ligeramente mayor a los 90 que a los 30 días, pero a los 90 días es significativamente mayor que en los sujetos controles.

El ángulo de fase en los sujetos control se mantuvo constante en ambas edades dentro de un rango de 0.5 a 1 hora de avance en cambio los sujetos desnutridos aunque presentarán constancia en el valor del ángulo de fase los adelantos de fase son más considerables. Sin embargo nuevamente las pendientes de ambos grupos son paralelas, esto sugiere que la maduración se ve afectada. Por otra parte se presenta una mayor labilidad del ángulo de fase en los sujetos desnutridos lo cual refleja nuevamente un efecto sobre el proceso de sincronización.

Se ha reportado que el sistema circádico es sensible a un rango de intensidad de iluminación así como a una duración específica (Takahashi y Cols, 1984). El efecto nocivo de la desnutrición sobre la sincronización puede ser debido a algún daño en los transductores de la señal luminosa, o bien afectando la eficiencia de las vías involucradas en la sincronización ocasionando una disminución en la intensidad de la señal sincronizadora transmitida, ya sea por alteraciones morfológicas, en la extensión del axón, en su campo terminal en el NSQ o en su mielinización.

Es posible que la desnutrición induzca que el periodo (τ) varíe del rango circádico normal, esto produciría una pérdida de la potencia de sincronización de los osciladores y el estímulo externo. Este fenómeno es parecido a la desincronización interna forzada descrita en humanos por Weber (1979) la cual consiste en que el ritmo de actividad-reposo se escapa de su relación estable al ciclo sincronizador y oscila con un periodo diferente.

El modelo propuesto consiste en que el ritmo de actividad/reposo esta controlado por un oscilador llamado Y y el ritmo de temperatura por un oscilador llamado X, este ultimo proceso refleja las eferentes directas del oscilador circádico. en condiciones normales ambos osciladores se encuentran en una relación estable pero en condiciones en las que se modifica el periodo de iluminación el oscilador X escapa de la relación estable y oscila con un periodo propio; este modelo es similar en algunos aspectos al de Pittendrigh y Dann,76.

También es posible que si la desnutrición afecta diferencialmente los periodos endógenos en un sistema multioscilarorio, la resultante sería la disminución en el acoplamiento interno del sistema. Las observaciones del presente estudio indican que tal fenómeno podría ocurrir, en tal caso el sistema se comportaría en forma análoga a la desincronización interna espontánea descrita por Aschoff en 1963.

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo indican que la desnutrición proteínica instalada pre y postnatalmente induce:

- 1) Persistencia de componentes ultradianos transitorios que interactúan entre sí generando un patrón circádico alterado.
- 2) Disminución en la efectividad del ciclo luz/obscuridad para sincronizar el ritmo circádico de ingesta de agua.

Estas observaciones podrían ser explicadas por alteraciones en la maduración morfofuncional del sistema circádico de los sujetos, inducidos por la desnutrición. Dichas alteraciones podrían involucrar:

- A) Trastornos en los mecanismos de sincronización del sistema circádico. Por ejemplo en el tracto retinohipotalámico.
- B) Trastornos en los mecanismos de acoplamiento interno entre los distintos osciladores del sistema.
- C) Trastornos en el periodo endógeno de los distintos osciladores del sistema.

Esta última hipótesis podría explicar tanto la presencia de ritmos ultradianos en corrimiento libre así como la disminución de la eficiencia de sincronización al ciclo luz/obscuridad.

C O N C L U S I O N E S

Los resultados de este trabajo indican que la desnutrición proteínica instalada pre y postnatalmente induce:

- 1) Persistencia de componentes ultradianos transitorios que interactúan entre sí generando un patrón circádico alterado.
- 2) Disminución en la efectividad del ciclo luz/obscuridad para sincronizar el ritmo circádico de ingesta de agua.

Estas observaciones podrían ser explicadas por alteraciones en la maduración morfofuncional del sistema circádico de los sujetos, inducidos por la desnutrición. Dichas alteraciones podrían involucrar:

- A) Trastornos en los mecanismos de sincronización del sistema circádico. Por ejemplo en el tracto retinohipotalámico.
- B) Trastornos en los mecanismos de acoplamiento interno entre los distintos osciladores del sistema.
- C) Trastornos en el periodo endógeno de los distintos osciladores del sistema.

Esta última hipótesis podría explicar tanto la presencia de ritmos ultradianos en corrimiento libre así como la disminución de la eficiencia de sincronización al ciclo luz/obscuridad.

BIBLIOGRAFIA

AGUILAR-ROBLERO, R., GARCIA-HERNANDEZ, F., AGUILAR, R., ARANKOWSKY-SANDOVAL, G. AND DRUCKER-COLIN, R. Suprachiasmatic nucleus transplants function as an endogenous oscillator only in constant darkness. *Neuroscience Letters* 69:47-52, 1986.

AGUILAR-ROBLERO, R. AND DRUCKER-COLIN, R. The role of the suprachiasmatic nuclei in the regulation of circadian rhythms in mammals. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos* 35:35-51, 1987.

AGUILAR-ROBLERO, R., SHIBATA, S., SPEH, J.C., DRUCKER-COLIN, R. AND MOORE, R.Y. Morphological and functional development of the suprachiasmatic nucleus in transplanted fetal hypothalamus. *Brain Research*, in press. 1992.

AGUILAR-ROBLERO, R., DRUCKER-COLIN, R. AND MOORE, R.Y. Behavioral and morphological studies of fetal neural transplants into scn-lesioned rats. *Chronobiology International* 9:1-19, 1992.

ALTMAN, J., DAS, D.G. AND SUDARSHAN, K. The influence of nutrition on neural and behavioral development. I. Critical review of some data on the growth of the body and the brain following dietary deprivation during gestation and lactation. *Developmental Psychobiology* 3: 281-301, 1971.

ASCHOFF, J. AND WEVER, R. Human circadian rhythms: A multioscillatory system. *Fed. Proc.* 35:2326-2332, 1976.

ASCHOFF, J. A survey on biological rhythms. In biological Behavior. (eds) Aschoff, j. pag. 3-10, 1986.

BAYER, S.A. The development hippocampal region in the rat. I. Neurogenesis examined with (3H) thymidine autoradiographic. J. Comp. Neurol. 190: 87-114, 1980.

BEDI, K.S. Lastin neuroanatomical changes following undernutrition during early life. In Early nutrition and later archievement. (ed.) Academic Press. 1-50, 1987.

BERK, L.M. AND FINKELSTEIN, J.A. An autoradiographic determination of the efferent projections of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. Brain Research 226:1-13, 1981.

BUNNING, E. The physiological clock. English University Press, London. p-258, 1973.

CARD, J.P., BRECHA, N., KARTEN, H.J. AND MOORE, R.Y. Immunocytochemical localization of vasoactive intestinal polypeptide-containing cells and processes in the suprachiasmatic nucleus of the rat: Light and electron microscopic analysis. Journal of Neuroscience 1: 1289-1303, 1981.

CARD, J.P. AND MOORE, R.Y. Ventral geniculate nucleus efferents to the rat suprachiasmatic nucleus exhibit avian pancreatic polypeptide-like immunoreactivity. Journal Comparative Neurology 206: 390-396, 1982.

CARD, J.P., BRECHA, N. AND MOORE, R.Y. Immunohistochemical localization of avian pancreatic polypeptide-like immunoreactivity in the rat hypothalamus. *Journal of Comparative Neurology* 217: 123-136, 1983.

CARD, J.P. AND MOORE, R.Y. The suprachiasmatic nucleus of the golden hamster: Immunohistochemical analysis of cell and fiber distribution. *Neuroscience* 13: 415-431, 1984.

CINTRA, L., DIAZ-CINTRA, S., GALVAN, A. AND MORGANE, P.J. Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos* 36: 3-17, 1988.

CINTRA, L., DIAZ-CINTRA, S., GALVAN, A., KEMPER, T. AND MORGANE, P.J. Effects of protein undernutrition on the dentate gyrus in rats of three age groups. *Brain Research* 532: 271-277, 1990.

CLOS, L., FAVRE, C., SELME-MATRAT, M. AND LEGRAND, J. Effects of undernutrition on cell formation in the rat brain and specially on composition of the cerebellum. *Brain Research*. 123:13-26, 1977.

Davis, F.C. Ontogeny of circadian rhythms. In *Handbook of Behavioral Neurobiology*. vol. 4, Edit. Aschoff, J. Plenum press. New York and London. pp.257-270, 1984.

DAAN, S. AND BERDE, C. Two coupled oscillators: Simulations of the circadian pacemaker in mammalian activity rhythms. *J. Theor. Biol.* 70:297-313, 1978.

DE COURSEY, P.J. AND BUGGY, J. Circadian rhythmicity after neural transplant to hamster third ventricle: Specificity of suprachiasmatic nuclei. Brain Research 500:263-275, 1989.

DIAZ-CINTRA, S., CINTRA, L., KEMPER, T., RESNICK, O. AND MORGANE, P.J. The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: A morphometric golgi study in rats of three age groups. Brain Research 221: 243-255, 1981.

DIAZ-CINTRA, S., CINTRA, L., KEMPER, L., RESNICK, O. AND MORGANE, P.J. The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus: A morphometric golgi study in rats of three age groups. Brain Research 304: 243-253, 1984.

DIAZ-CINTRA, S., CINTRA, L., ORTEGA, A., KEMPER, T. AND MORGANE, J. Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex in rats of three age groups. J. Comp. Neurol. 292:117-126, 1990.

DIAZ-CINTRA, S., CINTRA, L., GALVAN, A., AGUILAR, A., KEMPER, T. AND MORGANE, P.J. Effects of prenatal protein deprivation on postnatal development of granule cells in the fascia dentata. J. Comp. Neurol. 310: 356-364, 1991.

DOBBING, J. Undernutrition and the developing brain. In developmental neurobiology. Himunch, w. (Eds) 211-261, 1970.

DOBBING, J. AND SANDS, J. Vulnerability of developing brain. Biol. Neonate. 19: 363-378. 1971.

DOBBING, J. Undernutrition and the developing brain: The use of animal models to elucidate the human problem. In Chemistry and brain development. (Eds.) r. Paoletti and A. Davison Plenum, N.Y. 399-412, 1972.

DOBBING, J. AND SMART, J.L. Early undernutrition, brain development and behavior. In: Ethology and Development, edited by S.A. Barnett, pp. 16-36. Lippincott, Philadelphia. 1973.

DOBBING, J. AND SMART, J.L. Vulnerability of developing brain and behavior. Brain Med. Bull. 30: 164-168, 1974.

DONALD, P. Body weight and composition in laboratory rats: Effect of diets with high or low protein concentrations. Science 211: 185-186, 1981.

DRUCKER-COLIN, R., SHKUROVICH, M., UGARTACHEA, J.C., DOMINGUEZ, J. AND ROJAS-RAMIREZ, J.A. Sleep patterns in malnutrition. Proceedings, 16th. Annual meeting. Society for the psychophysiological study of sleep. Cincinnati Abstracts, p.95, 1976.

DRUCKER-COLIN, R., AGUILAR-ROBLERO, R., GARCIA-HERNANDEZ, F., FERNANDEZ-CANCINO, F. AND BERMUDEZ, F.R. Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: Diurnal rhythm recovery of lesioned rats. Brain Research 311:353-357, 1984.

ESKIN, A. Identification and physiology of circadian pacemakers. Federation Proceedings 38:2570-2572, 1979.

FELONG, M. Anat. Rec. 184: 400-401, 1976.

FLOOD,D.G. AND GIBBS,F.P. Species difference in circadian (14 C) 2-Deoxyglucose uptake by suprachiasmatic nuclei. Brain Research 232: 200-205,1982.

FORBES,W., TRACY,C., RESNICK,O. AND MORGANE, P.J. Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. Experimental Neurology 57: 440-450, 1977.

FREEDMAN,L.S., SAMUELS,S., FISH,I., SCHWARTZ, S.A., LANGE,B., KATZ,M. AND MORGANO,L. Sparing of the brain in neonatal undernutrition: Amino acid transport and incorporation into brain and muscle. Science 207:902-904, 1980.

FUCHS,J.L. AND MOORE R.Y. Development of circadian rhythmicity and light responsiveness in the rat suprachiasmatic nucleus: A study using the 2-Deoxy(1-14 C)glucose method. Proc. Natl. Acad.Sci. USA. 77:1204-1208,1980.

GALVAN, R.R. Nutricion, alimentacion y crecimiento. Ciencia Especial: 69-81, 1990.

GRAMSBERGEN,A. EEG development in normal and undernourished rats. Brain Research 105: 287-308, 1976.

GREEN, D.J. AND GILLETTE,R. Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. Brain Research 245: 198-200, 1982.

GROOS, G. AND MASON, R. Maintained discharge of rat suprachiasmatic neurons at different adaptation levels. Neuroscience Letters 8:59-64,1978.

GROOS, G. AND HENDRIKS, J. Circadian rhythms in electric discharge of rat suprachiasmatic neurones recorded in vitro. Neuroscience Letters 34: 283-288, 1982.

GROOS, G., MASON, R. AND MEIJER, J. Electrical and Pharmacological properties of the suprachiasmatic nuclei. Federation Proc. 42:2790-2795, 1983.

GULDNER, F.H. Synaptology of the rat suprachiasmatic nucleus. Cell Tissue Res. 165: 509-544, 1976.

GULDNER, F.H. Number of neuron and astroglial cells in the nucleus suprachiasmatic of male and female rats. Exp. Brain Res. 50: 373-376, 1983.

HALBERG, F. Chronobiology. Ann. Rev. of Physiol. 31: 675-725, 1969.

HARRINGTON, M.E., DWIGHT, M.N. AND RUSAK, B. Double-labeling of neuropeptide Y immunoreactive neurons which project from the geniculate to the suprachiasmatic nuclei. Brain Research 410: 275-282, 1987.

HERNANDEZ, R.J. Effect of malnutrition and 6-hydroxydopamine on the early postnatal development of noradrenaline and serotonin content in the rat brain. Biol. Neonate 30:181-186, 1976.

IBUKA, N. AND KAWAMURA, H. Loss of circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions. Brain Research 96: 76-81, 1975.

IBUKA, N., INOUE, S. AND KAWAMURA, H. Analysis of sleep-wakefulness rhythms in male rats after suprachiasmatic nucleus lesion and ocular enucleation. Brain Research 122: 33-47, 1977.

IFFT, J.D. J. Comp. Neurol. 144: 193-204, 1972.

INOUE, S.T. AND KAWAMURA, H. Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic island containing the suprachiasmatic nucleus. Proc Natl. Acad. Sci. USA. 76: 5962-5966, 1979.

INOUE, S.T. AND KAWAMURA, H. Characteristics of a circadian pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. J. Comp. Physiol. 146:153-160, 1982.

KEMPER, T.L., PASQUIER, D.A. AND DRAZEN, S. Effect of a low protein diet on the anatomical development of subcortical formations. Brain Research Bulletin 3: 443-450, 1978.

KITA, H., SHIBATA, S., OOMURA, Y. AND OHKI, K. Excitatory effects on the nucleus suprachiasmatic on the ventromedial nucleus in the rat hypothalamic slice. Brain Research 235: 137-141, 1982.

KITA, H., SHIBATA, S. AND OOMURA, Y. Circadian rhythmic changes of SCN neuronal activity in the rat hypothalamic slice. Neuroscience Abstracts. 7:858, 1981.

KUBOTA, A., INOUE, S. AND KAWAMURA, H. Reversal of multiunit activity within and outside the suprachiasmatic nucleus in the rat. Neuroscience Letters 27:303-308, 1981.

KUCERA, P. AND FAVROD, P. Suprachiasmatic nucleus projection to mesencephalic central grey in the woodmouse. Neuroscience 4: 1705-1715, 1979.

LEHMAN, M.N., SILVER, R., GLADSTONE, W.R., KAHN, R.M., GIBSON, M. AND BITTMAN, E.L. Circadian rhythmicity restored by neural transplant. Immunocytochemical characterization of the graft and its integration with the hostbrain. Journal of Neuroscience 7(6): 1626-1638, 1987.

LENN, N.J., BEEBE, B. AND MOORE, R.Y. Postnatal development of the suprachiasmatic hypothalamic nucleus of the rat. Cell Tissue Res. 178: 463-475, 1977.

LEVITSKY, D.A. AND BARNES, R.H. Nutritional and environmental interactions in the behavioral development of the rat: Long term effects. Science 176: 68-71, 1972.

LEWIS, P.D., BALAZS, R., PATEL, A.J. AND JOHNSON, A.L. The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. Brain Research 83: 235-247, 1975.

MASON, C.A., SPARROW, N. AND LINCOLN, D.W. Structural features of the retinohypothalamic projection in the rat during normal development. Brain Research 132: 141-148, 1977.

MEIJER, J.H. AND RIETVELD, W.J. Neurophysiology of the suprachiasmatic circadian pacemaker in rodents. Physiological Reviews 69: 671-707, 1989.

MENAKER, M., TAKAHASHI, J.S. AND ESKIN, A. The physiology of circadian pacemakers. Ann. Rev. Physiol. 40: 501-526, 1978

MIDDLETON, S. Desnutricion y funciones cerebrales superiores: grandes interrogantes. Rev. Chil. Nutr. 13: 115-118, 1985.

MILLER, M. ETAL. Tryptophan availability: Relation to elevated brain serotonin developmentally protein-malnourished rats. Experimental Neurology. 57: 142-157, 1977.

MOORE, R.Y. AND LENN, N.J. A retinohypothalamic projection in the rat. J. Comp. Neurol. 146: 1-14, 1972.

MOORE, R.Y. AND EICHLER, V.B. Loss of circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. Brain research 42: 201-206, 1972.

MOORE, R.Y. Suprachiasmatic nucleus, secondary synchronizing stimuli and the central neural control of circadian rhythms. Brain Research 183: 13-28, 1980.

MOORE, R.Y. Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: The suprachiasmatic hypothalamic nucleus. Federation Proc. 42: 2783-2789, 1983.

MOORE, R.Y., GUSTAFSON, E.L. AND CARD, J.P. Identical immunoreactivity of afferents to the rat suprachiasmatic nucleus with antisera against avian pancreatic polypeptide, molluscan cardioexcitatory peptide and neuropeptide y. Cell Tissue Res. 236: 41-46, 1984.

MORGANE, P.J. ETAL. Maternal protein malnutrition and the developing nervous system. 94-122, 1979.

MORGANE, P.J., AUSTIN-LA FRANCE, R., BRONZINO, J., TONKISS, J., DIAZ-CINTRA, S., CINTRA, L., KEMPER, T. AND GALLER, R.J. Prenatal malnutrition and development of the brain. Neuroscience and Behavioral reviews. in press 1992.

MOSKO, S. AND MOORE, R.Y. Neonatal suprachiasmatic nucleus ablation: Absence of functional and morphological plasticity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 75: 6243-6246, 1978.

MOSKO, S. AND MOORE, R.Y. Retinohypothalamic tract development: Alteration by suprachiasmatic lesions in the neonatal rat. Brain Research 164: 1-15, 1979a.

MOSKO, S. AND MOORE, R.Y. Neonatal suprachiasmatic nucleus lesion effects on the development of circadian rhythms in the rat. Brain Research 164: 17-38, 1979b.

NAGAI, K., ETAL. Effect of bilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei on the circadian rhythm of food-intake. Brain Research 142:384-389, 1978.

NEWMAN, G.C. AND HOSPOD, F.E. Rhythm of suprachiasmatic nucleus 2-Deoxyglucose uptake in vitro. Brain Research 381: 345-350, 1986.

NOJYO, Y. AND SANO, Y. Ultrastructure of the serotonergic nerve terminals in the suprachiasmatic and interpeduncular nuclei of rat brain. Brain Research 149: 482-488, 1978.

NOWAK, T.S. AND MUNRO, H.N. Effects of protein calorie malnutrition on biochemical aspects of brain development. In nutrition and the brain. (eds.) Wurtman, r.j. Raven press, NY. 194-260, 1977.

PAXINOS,G. AND WATSON,C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press NY. 1982.

PICKARD, G.E. Morphological characteristics of retinal ganglion cell projecting to the suprachiasmatic nucleus: A horseradish peroxidase study. Brain Research 183: 458-465, 1980.

PICKARD, G.E. The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. Journal Comp. Neurol. 211: 65-83, 1982a.

PICKARD,G.E. AND TUREK,F.W. Splitting of the circadian rhythm of activity is abolished by unilateral lesion of the suprachiasmatic nuclei. Science 215: 1119-1121, 1982b.

PICKARD, G.E. AND TUREK, F.W. The suprachiasmatic nuclei: two circadian clock? Brain Research 268: 201-210, 1983.

PITTENDRIGH, C.S. AND DAN,S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. (I-IV). J. Comp. Physiol. 106: 223-355, 1976.

PITTENDRIGH,C.S. Circadian Systems: General Perspective. In Handbook of Behavioral Neurobiology. vol.4 Edit. Aschoff,J. Plenum Press. New york and London. pp. 57-77, 1984.

RALPH,M.R. AND LEHMAN,M.N. Transplantation: A new tool in the analysis of the mammalian hypothalamic circadian pacemaker. Trends in Neuroscience 14 (8): 362-366, 1991.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

RESNICK, O. AND MORGANE, P.J. Ontogeny of the levels of serotonin in various parts of the brain in severely protein malnourished rats. Brain Research 303: 163-170, 1984.

RESNICK, O. Nutrition, neurotransmitter regulation, and developmental pharmacology. In Preventive and curative intervention in mental retardation. (eds) Menolacino, F!J! and Stark, J.A. p.161-175, 1988.

RICHARDSON, G.S. Circadian rhythms and aging. Handbook of the biology of aging. Cap. 13: 275-305, 1990.

RIETVELD, W.J. The central control and ontogeny of circadian rhythmicity. European Journal of Morphology 28 (2-4): 301-307, 1990.

ROBAIN, O. AND PONSOT, G. Effects of undernutrition on glial maturation. Brain Research 149:379-397, 1978.

RUSAK, B. Neural mechanisms for entrainment and generation of mammalian circadian rhythms. Federation Proc. 38:2589-2595, 1979a.

RUSAK, B. Neural regulation of circadian rhythms. Physiological Reviews 59: 449-526, 1979b.

RUSAK, B. AND GROOS, G. Suprachiasmatic stimulation phase shifts rodents circadian rhythms. Science 215: 1407-1409, 1982.

SALAS, M. Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat. Physiology and Behavior 8: 119-122, 1972.

SALAS, M., DIAZ, S. AND NIETO, A. Effects on neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. Brain Research 73: 139-144, 1974.

SALAS, M. Privacion neonatal de alimento y desarrollo cerebral: aspectos morfologicos, conductuales y electrofisiologicos. Bol. Estud. Med. Biol. 30:11-124, 1978.

SALAS, M., RUIZ, C., TORRERO, C. AND PULIDO, S. Neonatal food restriction: Its effects on the sleep cycles and vigil behavior of adult rats. Bol. Estud. Med. Biol. 32: 209-215, 1983.

SAWAKI, Y., NIHONMATSU, I. AND KAWAMURA, H. Transplantation of the neonatal suprachiasmatic nuclei into rats with complete bilateral suprachiasmatic lesion. Neuroscience Research 1: 67-72, 1984.

SCHWARTZ, W.J. AND GAINER, H. Suprachiasmatic nucleus: Use of ¹⁴C labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. Science 197: 1089-1091, 1977.

SCHWARTZ, W.J., DAVIDSEN, L.C. AND SMITH, C.B. In vivo metabolic activity of a putative circadian oscillator, the rat suprachiasmatic nucleus. J. Comp. Neurol. 189: 157-167, 1980.

SCHWARTZ, W.J., REPERT, S.M., EAGAN, S.A. AND MOORE-EDE, M.C. In vivo metabolic activity of the suprachiasmatic nuclei: A comparative study. Brain Research 274: 184-187, 1983.

SHIBATA, S., OOMURA, Y., KITA, H. AND HATTORI, K. Circadian rhythmic changes of neural activity in the suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamic slice. Brain Research 247:154-158, 1982.

SHIBATA,S., OOMURA,Y., HATTORI,K. AND KITA,H. Responses of suprachiasmatic nucleus neurons to optic nerve stimulation in rat. hypothalamic slice preparation. Brain Research 302: 83-89, 1984.

SHOEMAKER,W.J. AND BLOOM,F.E. Effect of undernutrition on brain morphology. In Nutrition and the brain. (eds) Wurtman, R.J. Raven press. p.147-191,1977.

SHOEMAKER,W.J. AND WURTMAN, R.J. Perinatal undernutrition: Accumulation of catecholamines in rat brain. Science 171: 1017-1019, 1971.

SIMA,A. AND SOURANDER, P. The effect of pre- and postnatal undernutrition on axonal growth and myelination of central motor fibers. Acta Neuropathologica 42: 15-18,1978.

SOBOTKA, T.J., COOK,M.P. AND BRODIE,R.E. Neonatal malnutrition neurochemical, hormonal and behavioral manifestations. Brain Research 65: 443-457, 1974.

SOFRONIEW,M.V. AND WEINDL, A. Projections from the parvocellular vasopressin and neurophysin-containing neurons of the suprachiasmatic nucleus. Am. J. Anat. 153: 391-430, 1980.

STANFIELD,B. AND COWAN, W.M. Brain Research 104: 129-136,1976.

STEPHAN, F.K. AND ZUCKER,I. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotoractivity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69: 1583-1586,1972.

STEPHAN, F.K., BERKLEY, K.J. AND MOSS, R.L. Efferent connections of the rat suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience* 6: 2625-2641, 1981.

STERN, W.C. ETAL. Ontogeny of the levels of biogenic amines in various parts of the brain and in peripheral tissue in normal and protein malnourished rats. *Experimental Neurology* 49: 314-326, 1975.

STEWART, C.A. Weights of various parts of the brain in normal and underfed albino rats at different ages. 511-528, 1971.

SUGITA, N. Comparative studies on the growth of the cerebral cortex. *J. Comp. Neurol.* 29: 177-239, 1918.

SWANSON, L.W. AND COWAN, W.M. The efferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 160: 1-12, 1975.

TAKAHASHI, J.S. AND ZATZ, M. Regulation of circadian rhythmicity. *Science* 217: 1104-1111, 1982.

TAKAHASHI, J.S., DE COURSEY, P.J., BAUMAN, L. AND MENAKER, M. Spectral sensitivity of a novel photoreceptive system mediating entrainment of mammalian circadian rhythms. *Nature* 308: 1013-1021, 1982.

VAN DEN POL, A. AND POWEL, T. A fine-grained anatomical analysis of the role of the rat suprachiasmatic nucleus in circadian rhythms of feeding and drinking. *Brain Research* 160: 307-326, 1979.

VAN DEN POL, A. The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat: Intrinsic anatomy. *J. Comp. Neurol.* 191: 661-702, 1980.

VAN DEN POL, A. AND TSUJIMOTO, K.L. Neurotransmitters of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus: Immunocytochemical analysis of 25 neural antigens. *Neuroscience* 15: 1049-1086, 1985.

VAN DEN POL, A. Gamma-aminobutyrate, gastrin releasing peptide, serotonin, somatostatin and vasopressin: Ultrastructural immunocytochemical localization in presynaptic axons in the suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience* 17: 643-659, 1986a.

VAN DEN POL, A. AND GORCS, T. Synaptic relationships between neurons containing vasopressin, gastrin-releasing peptide, vasoactive intestinal polypeptide, and glutamate decarboxylase immunoreactivity in the suprachiasmatic nucleus: Dual ultrastructural immunocytochemistry with gold-substituted silver peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 252: 507-521, 1986b.

WATTS, A.G., SWANSON, L.W. AND WATTS, G.S. Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: I. Studies using anterograde transport of phaseolus vulgaris leucoagglutinin in the rat. *J. Comp. Neurol.* 258:204-229, 1987.

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.

WIGGINS, R.S. ETAL. Myelin synthesis during postnatal nutritional deprivation and subsequent rehabilitation. Brain Research ---: 257-273, 1976.

WINICK, M. Nutrition and nerve cell growth. Federation Proc. 29: 1510-1515, 1970.