

03068



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

14

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE
POSGRADO CENTRO DE NEUROBIOLOGIA

28

EL NUCLEO SUPRAQUIASMÁTICO: UN ESTUDIO
MORFOMÉTRICO EN RATAS CON DESNUTRICIÓN
CRÓNICA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS
P R E S E N T A ;
BIOL. ESTHER PEREZ TORRERO

DIRECTORA; DRA. SOFÍA DÍAZ MIRANDA

MEXICO, D. F.

1995



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.

DEDICATORIA

A

Enrique y Enrique Ignacio,

Antonio y Rafaela,

Hermanas, Hermano, sobrinos y a la

familia Moreno Corral.

RECONOCIMIENTO

**EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL
CENTRO DE NEUROBIOLOGIA, UNAM.**

AGRADECIMIENTOS

Dra. Soffa, Diaz Miranda, por su dirección y paciencia para conducirme en el arduo trabajo de investigación.

Dr León Cintra McGlone, por sus valiosas sugerencias durante la realización del trabajo.

a mis compañeros del laboratorio

**M. en C. Agustín Galván Rosas
Biol. Pilar Durán Hernández
M. en C. Leticia Granados Rojas
Biol. Azucena Aguilar Vázquez**

**M en C. Rosa María Viguera Villaseñor
(Laboratorio de Histomorfología Instituto Nacional de Pediatría por las facilidades prestadas para realizar parte del trabajo)**

Al Sr José Avilés por el apoyo en el trabajo de fotografía

Sr. Pedro Medina por su apoyo en el bioterio

Al jurado por su revisión y sus valiosas sugerencias:

**Dra. Soffa Díaz Miranda
Dr. Manuel Salas Alvarado
Dr. León Cintra McGlone
Dra. Carolina Escobar Briones
Dr. Fructuoso Ayala Guerrero**

INDICE

I.- RESUMEN	1
II.- SUMMARY	2
III.- INTRODUCCION	
IMPORTANCIA DE LA NUTRICION ADECUADA	3
MALNUTRICION	4
EFECTOS DE UNA MALA NUTRICION	5
DESARROLLO DEL CEREBRO	7
EL NUCLEO SUPRAQUIASMATICO	
DESARROLLO DEL NSQ	10
ANATOMIA DEL NSQ	13
EL NSQ Y LOS RITMOS CIRCADIANOS	17
IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
V.- HIPOTESIS	20
VI.- OBJETIVOS	20
VII.- MATERIALES Y METODOS	
CRUZAS Y OBTENCION DE CRIAS	20
Técnicas histológicas	24
Mediciones morfométricas	25
ESTADISTICA	27
VIII.- RESULTADOS	
Pesos cerebral y corporal	31
MEDIDAS MORFOLOGICAS DEL NSQ	32
NUMERO DE NEURONAS	35
MEDIDAS DEL SOMA NEURONAL	
Monopolares	40
Piriformes	44
Multipolares	44
IX.- DISCUSION	46
X.- CONCLUSIONES	52
XI.- REFERENCIAS	54

RESUMEN

La deficiencia de proteínas en la dieta, durante los periodos del desarrollo pre y posnatal de la rata, produce, entre otros efectos, alteraciones en el ciclo de sueño y vigilia. Estas observaciones, indican posibles efectos anatómicos de las estructuras que están involucradas en la regulación de este ciclo. Al mismo tiempo, se reconoce al núcleo supraquiasmático (NSQ) como el marcapaso circadiano que regula actividades como la locomoción, la temperatura, los ritmos de ingesta de agua y alimento la función reproductiva, así como el ciclo de sueño y vigilia. Con base en lo anterior se realizó un estudio morfológico del NSQ en ratas de 30 y 60 días de edad desnutridas con una dieta baja en caseína (6%), comparadas con un grupo control de ratas alimentadas con una dieta adecuada de caseína (25%). Para su estudio el NSQ se dividió en dos regiones (dorsal y ventral). Los cerebros se procesaron con las técnicas de Nissl (cortes de 6 μm) y Golgi-Cox (cortes de 120 μm). Con la técnica de Nissl se midieron el área, el perímetro, los ejes mayor y menor y la cantidad de neuronas en el NSQ. Al mismo tiempo, en el material teñido con la técnica de Golgi-Cox se identificaron cinco tipos celulares y en cada uno se midieron los mismos parámetros del soma neuronal. Las mediciones se realizaron por medio de un programa de análisis digital de imágenes (Histo 2000). El área, el eje mayor y el eje menor de los NSQ de los animales desnutridos de 60 días mostraron dimensiones significativamente menores. En los animales de 30 días el número total de neuronas mostró aumento significativo por la desnutrición la cantidad de neuronas de la región dorsal fue menor que la de la región ventral en los animales control de 30 y 60 días de edad. Las ratas desnutridas de la región dorsal del NSQ mostraron aumento en la cantidad de las neuronas monopolares y multipolares en las ratas de 30 días y un aumento de las bipolares en las ratas de 30 y 60 días de edad. Las neuronas monopolares de las ratas desnutridas de 30 días mostraron disminución significativa del tamaño del soma por la desnutrición, en tanto que las neuronas monopolares, piriformes espinosas y multipolares de las ratas de 60 días mostraron incrementos significativos. Las neuronas monopolares de la región dorsal del NSQ de las ratas control de 60 días disminuyeron significativamente de su tamaño en comparación con las de la región ventral. Los hallazgos sugieren que las alteraciones en la organización de la citoarquitectura del NSQ producidos por la desnutrición, podrían estar parcialmente relacionados con los cambios de fase descritos en el ciclo sueño vigilia en la rata.

SUMMARY

Structural changes in the developing brain subsequent to chronic malnutrition are the main determinants of the functional characteristics of malnourished rats. Malnutrition also modifies the circadian expression of the sleep-wake cycle rats. It is known that the suprachiasmatic nucleus (SCN) plays an important role in the regulation of the sleep-wake cycle. We study the effects of protein malnutrition on the postnatal development of SCN as well as the somatic size and neuronal quantity in Sprague-Dawley rats at 30 and 60 days of age. The low protein diet: 6% casein, was established 5 weeks before mating and through gestation and postnatal life. Brains of normal and malnourished rats were stained with Nissl and Golgi-Cox techniques. In the brain sections the dorsal and ventral regions of SCN were identified. In each SCN its area, perimeter, major and minor axis was also measured. All neuronal types (monopolar, bipolar, pyriform and multipolar neurons) were counted and measured with a computerized imaging processing system (Histo 2000 program). The total SCN area was decreased in 60 day old malnourished animals. However in this age, neuronal quantity measured in the ventral region was increased in comparison with the dorsal region. When the comparison was made in each cellular type, the monopolar, bipolar and multipolar neurons quantity was significantly increased in the undernourished 30 and 60 day old animals only in the SCN dorsal region. In addition, monopolar neurons size was significant decreased in animals of 30 days of age. In contrast, in 60 day old rats this type of neurons showed significant increases in the somatic size as well as multipolar and pyriform cells. These results suggest that SCN neurons have a plastic mechanism different for each age-group studied and these changes in structure of the SCN may also affect circadian system in the undernourished rats.

INTRODUCCION

IMPORTANCIA DE LA NUTRICION ADECUADA

En la nutrición normal se incluyen 6 categorías de elementos nutritivos: proteínas, carbohidratos, grasas, minerales, vitaminas y agua. Sólo las proteínas carbohidratos y grasas proporcionan calorías, mientras que los minerales y vitaminas son necesarios para los procesos metabólicos que el organismo utiliza para la obtención de energía a partir de los alimentos, para construir (durante el crecimiento) y mantener los tejidos corporales así como para la conservación de la temperatura normal. La buena nutrición se puede definir como la proporción adecuada de calorías, aminoácidos (unidades estructurales de las proteínas), vitaminas y algunos minerales (Hoff y Janick, 1978).

Las proteínas son el principal componente orgánico porque forman la estructura básica de la células que son las unidades integrantes del organismo. La mayoría de los aminoácidos, pueden sintetizarse en el organismo a partir de otras moléculas, pero los 9 aminoácidos esenciales (valina, leucina, isoleucina, lisina, histidina, fenilalanina, triptófano, treonina y metionina) no se sintetizan en las cantidades necesarias para sostener la síntesis proteínica requerida para el crecimiento por lo que se deben obtener de los alimentos.

La nutrición juega un papel importante en el desarrollo y organización funcional del sistema nervioso de manera que la desnutrición afecta adversamente la maduración de éste así como su desarrollo funcional. Por ello, se considera a la desnutrición uno de los factores ambientales que afectan tanto el desarrollo del cerebro como la capacidad del individuo para interactuar y enfrentarse con éxito a su ambiente.

MALNUTRICION

Casi la mitad de la población esta subalimentada o malnutrida y cuando esta condición se inicia en edad prenatal (Barrett y Frank, 1987) afecta la talla del individuo, la habilidad motora, la capacidad para responder a los estímulos ambientales e integrar las respuestas adecuadas (Levitsky y Barnes, 1972; Strobel y Zimmerman, 1972).

Una de las causas de la mala nutrición es la selección inadecuada de los alimentos que se consumen, dado que la alimentación debe ser satisfactoria tanto en calidad como en cantidad. El suministro de componentes alimenticios necesarios es de importancia vital para mantener la constancia del medio interno (homeostasis) de la cual depende la actividad normal y los procesos celulares. Si se tiene la calidad suficiente pero insuficiente en cantidad, el organismo se consume, hay desaparición de grasa y además desgaste de los órganos y tejidos. El desgaste de éstos no ocurre en la misma proporción ni a la misma velocidad ya que; los diversos tejidos corporales tienen mecanismos propios de protección (Tabla I).

**TABLA I. PERDIDA RELATIVA EN PESO DE TEJIDO
U ORGANO FRESCO DURANTE INANICIÓN**

TEJIDO	PERDIDA %
Adiposo	97
Bazo	67
Hígado	54
Músculos	31
Sangre	27
Riñones	26
Piel	21
Intestino	18
Pulmones	18
Páncreas	3
Corazón	3
Sistema nervioso	3

Schottelius y Schottelius, 1982.

EFFECTOS DE UNA MALA NUTRICION

Durante el desarrollo del feto y el neonato, se requiere de un suministro adecuado de los nutrimentos esenciales para permitir el crecimiento así como el desarrollo funcional del organismo, lo que permite que ocurran tres procesos vitales básicos que son el mantenimiento, el crecimiento y la diferenciación neural (Altman, et al., 1970). Los factores que interfieren en el crecimiento cerebral así como en su maduración son múltiples; por ejemplo, los que involucran el retraso del crecimiento intrauterino pueden ser divididos a su vez, en tres categorías, fetales, placentarios y maternos. Los primeros incluyen efectos genéticos, hipoxemia y frecuentemente involucra agentes tales como las drogas y el alcohol, que son directamente tóxicos al feto. Los factores placentarios incluyen la reducción de su tamaño y la pobre diferenciación placentaria; ambas se relacionan con la privación nutricional. Los factores maternos incluyen malnutrición, insuficiencia vascular y varias toxemias (Altman, et al. 1970; Morgane et al., 1993).

Los efectos de la malnutrición materna sobre el origen y densidad de las células cerebrales incluye: 1) daño en la proliferación de linajes celulares que resulta en el retardo del ciclo celular; 2) interferencia en la tasa de división celular lo que resulta en disminución permanente en el número de células cerebrales; 3) incremento en el número de células postmitóticas degenerativas en las zonas germinales; 4) reducción posnatal de células germinales y 5) cambios en la composición celular del cerebro, afectando la relación de los diferentes tipos celulares. Las investigaciones en desnutrición realizadas en el cerebro de la rata durante el periodo posnatal han revelado en forma repetitiva disminuciones en la mielinización (Warren y Bedi, 1982), en la proliferación dendrítica (Salas, et al., 1974), en la disminución de sinapsis (Cragg, 1972) en el contenido de las proteínas cerebrales y del tamaño celular, los cuales resultan en anomalías en el desarrollo del comportamiento (Levitsky y Barnes, 1972). Debido a que las deficiencias de energía y proteína son las más comunes y

extendidas en el mundo se utiliza el término desnutrición energético proteínica para referirse a dichas deficiencias. Se les define como el conjunto de condiciones patológicas que se producen por una deficiencia y desproporción en la cantidad de energía y proteína, que se presenta con mayor frecuencia en lactantes y niños. Asimismo, es común encontrarla asociada a infecciones. Este tipo de desnutrición se observa como consecuencia de una deficiente ingestión o utilización de contenido energético (Altman et al. 1970; Schottelius y Schottelius 1982; Latham, 1991). Los efectos de la desnutrición sobre el desarrollo del sistema nervioso central han sido estudiados principalmente debido a la incidencia amplia de malnutrición infantil, y la evidencia considerable de que muchos de sus efectos son permanentes y asociados con deterioro de las grandes funciones mentales, incluyendo la deficiencia en la integración de las funciones cognitivas como la inteligencia (Morgane, et al., 1992; Susser, 1987). Aunque en la mayoría de los casos este tipo de desnutrición proteínica va acompañada de la deficiencia de otros nutrimentos, por ejemplo vitaminas o minerales se ha denominado desnutrición pluricarenal (Velázquez, et al., 1981). El *kwashiorkor* y el *marasmo* son los síndromes clínicos de la desnutrición proteínica calórica grave, y existen también muchas formas intermedias. En el *kwashiorkor*, la principal deficiencia es de proteínas, mientras en el *marasmo* la deficiencia es de ingesta total de alimentos. En ambos casos se reduce el crecimiento y hay un adelgazamiento importante del individuo, sin embargo se disimula éste, en el *kwashiorkor* por el edema que está presente siempre. La anemia hipocrómica (de hierro) se presenta en ambos estados clínicos, limitando el funcionamiento normal del organismo, ésta se presenta con mayor frecuencia en lactantes y niños (Barrett y Frank, 1987; Schottelius y Schottelius, 1982).

Por otra parte, se sabe que la desnutrición produce diferentes efectos sobre la morfología y funcionalidad del sistema nervioso central en diversos animales de experimentación, estos efectos dependen del grado y tipo de desnutrición que se

establezca así como su duración, se sabe también que la formación de sinapsis se reduce por la desnutrición cuando se valora por la disminución de la densidad dendrítica en ratas sometidas a desnutrición tanto prenatal como posnatal o ambas. Estos efectos se han encontrado en diferentes áreas cerebrales estudiadas, por ejemplo en la corteza visual, el tallo cerebral y el hipocampo (Salas, et al, 1974; Leuba y Rabinowicks, 1979; Díaz-Cintra, et al., 1990; Cintra, et al., 1991).

En investigaciones anteriores donde se ha utilizado un modelo de desnutrición hipoproteínica en ratas con una dieta deficiente en caseína, se encontraron deficiencias celulares diferenciales dependiendo de la edad en que ésta se instale (Salas, et al 1974; Díaz-Cintra et al., 1981a; Cintra et al., 1982; Warren y Bedi, 1982; Cintra et al., 1990a). Cintra, et al., 1988 reportan que cuando la desnutrición abarca la gestación y la lactancia altera a largo plazo los patrones electroencefalográficos y la distribución circádica del ciclo sueño y vigilia de la rata que se caracteriza por un decremento en la cantidad total de sueño MOR en la fase de luz y un aumento en la fase de actividad (Forbes, et al., 1977).

DESARROLLO DEL CEREBRO

La secuencia de los procesos del desarrollo en el cerebro parecen ser los mismos en las especies de mamíferos. Algunos de éstos son seguidos uno de otro, otros se superponen y otros más ocurren en paralelo. La proliferación glial sigue a la de la mayoría de las neuronas y precede a la mielinización, a la sinaptogénesis, y a la ramificación dendrítica. Estos eventos son identificados en la mayoría de las regiones del cerebro durante la vida prenatal. Hay algunas excepciones, como en el cerebelo, el hipocampo y los bulbos olfatorios, en donde la proliferación microneuronal se prolonga hasta el periodo postnatal (Rodier, 1980; Smart, 1990, 1991).

Por otra parte, el desarrollo de las diferentes regiones del cerebro se lleva a cabo en

forma heterocrónica, de tal manera que algunas estructuras cerebrales se desarrollan principalmente durante el periodo prenatal y otras durante el periodo postnatal.

Con base al estado de desarrollo cerebral del recién nacido a las especies se les clasifica como precoces o altriciales. En las primeras como es el caso del cobayo, el desarrollo del cerebro ocurre prenatalmente, mientras que en las especies altriciales tales como la rata, el ratón y el ser humano (sensorialmente inmaduras al nacimiento), el cerebro se desarrolla en gran parte durante el periodo postnatal (Dobbing, 1972; Jacobson, 1978; Smart, 1990, 1991) (Fig. 1).

Durante la vida intrauterina, el cerebro de los mamíferos crece más rápido que todos los demás órganos, durante el último periodo de gestación sus neuronas se multiplican a un ritmo de 250 mil por minuto. En el ser humano el ritmo de crecimiento disminuye notablemente en los primeros meses después del nacimiento. Así a los 18 meses ha alcanzado el 80% de su peso definitivo en tanto que el hígado, alcanza la quinta parte de su peso adulto por lo que el crecimiento del cerebro, aparece como definitivo. Esta definitividad parece ser propia de los animales superiores puesto que se ha descrito que el cerebro de las aves como el canario, es capaz de multiplicar sus neuronas durante la edad adulta; lo mismo se ha observado en algunos peces y anfibios (Monckeberg, 1985).

Durante el periodo neonatal cuando los procesos del desarrollo están ocurriendo rápidamente, es de vital importancia el aporte de nutrimentos necesarios para el desarrollo del organismo durante este periodo, al cual se le ha denominado periodo crítico o vulnerable y durante el cual el cerebro es más sensible a los cambios ambientales.

El término periodos críticos se refiere a un pico de actividad de procesos específicos concurrentes, está basado en los estudios temporales en donde los procesos del desarrollo y organización se alteran fácilmente. Durante estos periodos críticos, se llevan a cabo el desarrollo de la mayoría de los elementos celulares, la neurogénesis, la

glogénesis, la migración y la diferenciación celular, la mielinización y las conexiones sinápticas. Por lo tanto son múltiples los periodos críticos en cada área del cerebro (Bornstein, 1989; Rodier, 1980; Smart, 1990, 1991).

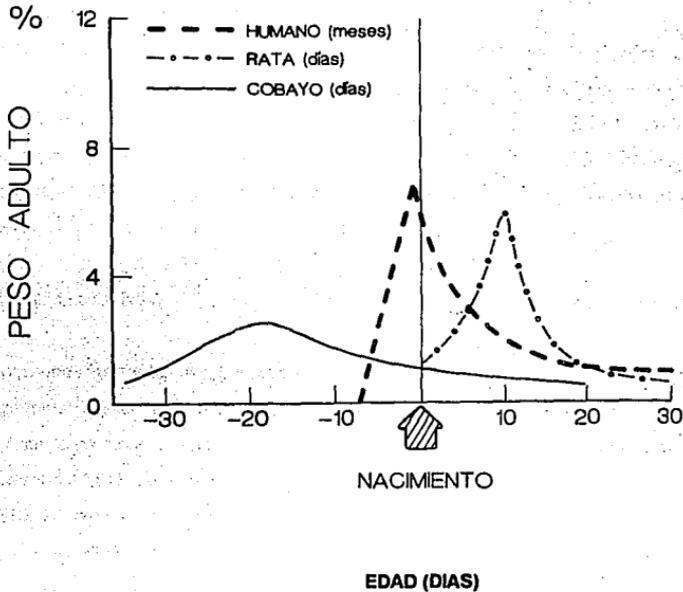


Figura 1. Curvas de crecimiento del cerebro en relación al nacimiento en diferentes especies, el cobayo (precocial) la rata y el ser humano (altriciales), (Modificado de Dobbing 1972).

EI NUCLEO SUPRAQUIASMATICO

En el hipotálamo se han descrito tres zonas, estas son, periventricular, medial y lateral. También se divide en anterior y posterior. El núcleo supraquiasmático (NSQ) se localiza en el hipotálamo anterior, está formado por un par de estructuras bilaterales al tercer ventrículo que hacen sobre el quiasma óptico (Isaacson, 1982; Moore-Ede, et al., 1982; Bleier y Byne, 1985).

La forma del NSQ es variable en las distintas especies, por ejemplo, es ovoide en los roedores, alargada e irregular en las aves; es irregular en algunos mamíferos como el gato y los primates y difusa e irregular en los humanos (Lydic y Moore-Ede, 1980); presenta además dimorfismo sexual (Blond, et al., 1982; Güldner, 1983). El NSQ parece estar especializado en recibir información luminosa para generar oscilaciones circadianas (Davis et al., 1990).

DESARROLLO DEL NSQ

Las neuronas del NSQ son generadas de una zona especial neuroepitelial de la matriz germinal adyacente al surco ventromedial del tercer ventrículo caudal al receso óptico. Esta zona tiene 2 componentes designados como primordios dorsomedial y ventrolateral del NSQ. Se producen entre los días embrionario E14 a E17 con un pico en el día E15, las células que se generan primero se localizan en la división ventrolateral seguidas de aquellas que se generan tardíamente localizadas en la división dorsolateral, las últimas en formarse (E17), se localizan en la parte basal. Como la neurogénesis cesa en el día E18, el surco disminuye en profundidad y la región es ocupada por la expansión del quiasma óptico. La mayoría de las células se localizan en la porción ventral del NSQ adyacente al quiasma óptico, por lo que el tiempo de generación de las células gliales en el NSQ no ha sido aún establecido. Sin embargo, la glía se forma

tempranamente, como en el caso de otras áreas y el tipo de glía radial se puede ver al microscopio electrónico en el E17. Es probable que continúe la formación de la glía en la matriz germinal hasta el día E18.

El NSQ se puede evidenciar con la técnica de Nissl el día E17, siendo las neuronas muy pequeñas y empaquetadas estrechamente. Entre los días E17 y postnatal (P) 10 (P10) el NSQ aumenta gradualmente y asume la apariencia del adulto. Hay un pequeño aumento en longitud y volumen entre los días P10 y P16 (Fig. 2).

El desarrollo de la función del NSQ parece ocurrir en dos fases; en la primera se genera la ritmicidad intrínseca y el ritmo de la utilización de glucosa lo que ha sido demostrado por el método de la 2-deoxiglucosa que aparece en el NSQ el día E19 (Reppert; 1985; Reppert y Schwartz, 1986; Shibata y Moore, 1987). Esta ritmicidad no depende de la ritmicidad materna lo que indica que está determinado genéticamente y refleja una oscilación intrínseca. Además, el ritmo se establece en un núcleo inmaduro en el día E19, porque tiene menos de una sinapsis por neurona. El segundo ritmo que aparece es el de disparo de las neuronas. Este ritmo está presente en el E22 pero es de baja amplitud y el desarrollo subsecuente se correlaciona muy bien con el desarrollo morfológico (Shibata y Moore, 1987; Moore, 1991) (Fig. 2).

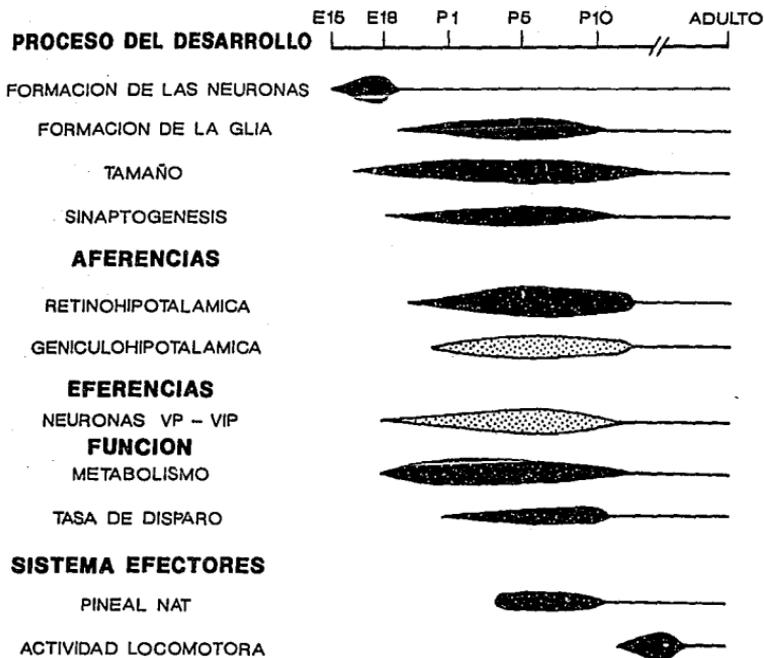


Figura 2. Desarrollo y funcionamiento del NSQ desde el estadio E15 al estado adulto. Las áreas negras representan el tiempo durante el cual ocurre el desarrollo, y la línea continua indica que la estructura o función se mantiene. Las áreas punteadas indican que la duración del proceso no se conoce con certeza (Modificado de Moore, 1991).

ANATOMIA DEL NSQ

En la mayoría de las especies de mamíferos se distinguen dos divisiones principales del NSQ, debidas al contenido de sustancias neuroactivas y la distribución de las proyecciones visuales. Una división recibe las aferencias de la vía del tracto retinohipotalámico (RHT) y las aferencias indirectas provenientes de la hojuela intergeniculada (HIG) del tálamo por vía del tracto geniculohipotalámico. Esta división ventrolateral se caracteriza por reunir neuronas peptidérgicas que contienen al péptido intestinal vasoactivo (VIP) y las células que contienen al neuropéptido Y (NPY) y la otra división dorsomedial corresponde a las neuronas que contienen vasopresina (VP) (Fig. 3). Esta expresión de fenotipo neuronal requiere el desarrollo de mecanismos de síntesis peptídica en las neuronas que fueron formadas en los días E15 y E17. Las neuronas VIP comienzan a mostrar inmunoreactividad en el día E19 (Sofroniew y Weindl, 1980; Moore, 1992) el número de neuronas inmunoreactivas aumenta gradualmente y es equivalente al del adulto en el día P10. Las neuronas VP se marcan con métodos inmunohistoquímicos en el día P2. Los plexos axonales de ambos grupos de neuronas peptidérgicas dentro del núcleo y áreas adyacentes, maduran gradualmente hasta alcanzar un patrón similar al del adulto en el día P10. Las neuronas que contienen somatostatina se distribuyen en todo el núcleo, además contienen otros neurotransmisores que se sintetizan dentro del núcleo, estos son la neurofisisina, el ácido aminobutírico (GABA), la bombecina y el péptido liberador de gastrina. Sin embargo, algunas de las neuronas del NSQ en ambas regiones contienen más de un péptido, algunos datos sugieren que muchas neuronas son productoras de GABA, por lo que las interacciones inhibitorias pueden tener importancia en la función oscilatoria (Moore, 1991).

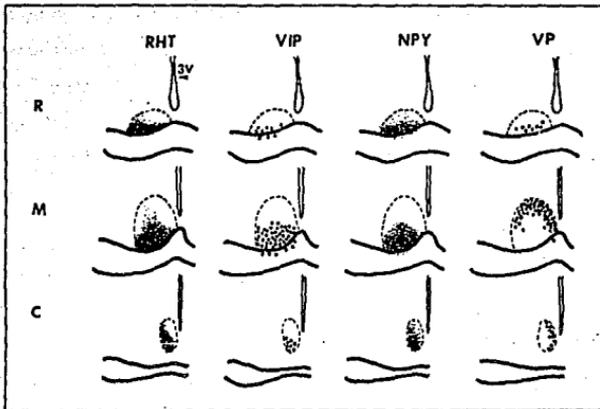


Figura 3. Distribución de las aferentes RHT, células VIP, células que contienen el NPY, y células que contienen aferentes de la HIG y células VP en los tres niveles del NSQ; rostral (R), medial (M) y caudal (C). (Modificado de Moore, 1992).

Histológicamente se han encontrado variaciones en la distribución regional; así como en el tamaño, la densidad y el empaquetamiento celular dentro del NSQ. Las neuronas del NSQ teñidas con la técnica de Golgi-Cox se clasifican con base en su arborización dendrítica en 5 tipos: 1) monopolares, 2) bipolares simples, 3) bipolares rizadas, 4) piriformes espinosas y 5) multipolares radiales (Van den Pol, 1980).

La vía directa RHT o tractos RHT se observan como proyecciones directas desde la vía visual a los dos NSQ, estas salen del quiasma óptico en el lado dorsal y terminan en las regiones ventrolaterales (Hendrickso, et al., 1972) y cuyos neurotransmisores podrían ser el glutamato y el aspartato. Los tractos genículo-hipotalámicos son las proyecciones visuales indirectas que provienen del lado ventral de la HIG (Moore, 1983). Se sugiere que el NPY se origina de estas proyecciones. Otras aferencias se originan del hipotálamo anterior y del área retroquiasmática, del núcleo ventromedial y del núcleo del rafe dorsal del meséncefalo (Moore, 1983). Las vías eferentes del NSQ, se proyectan a otras áreas del hipotálamo, a los núcleos septales y a las hojuelas periventriculares, dorsomediales e intergeniculadas del tálamo (Moore, 1983) (Fig. 4). Los dos NSQ se conectan entre sí por proyecciones organizadas en la región anteroventral de cada uno de ellos.

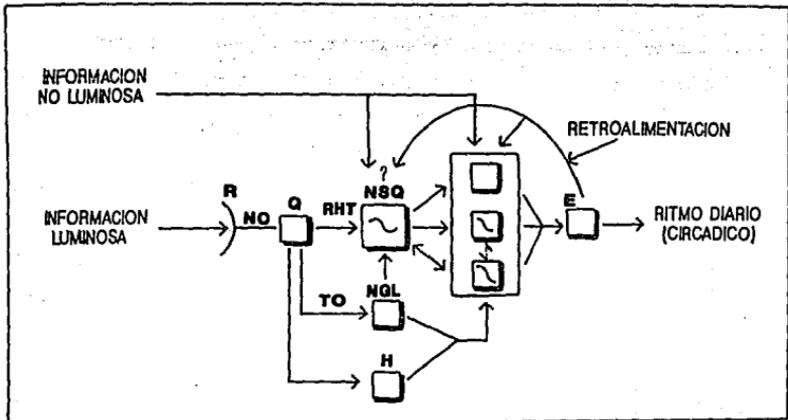


Figura 4. Modelo de los componentes del sistema circadiano y sus posibles relaciones en los mamíferos. Retina (R), nervio óptico (NO), quiasma óptico (Q), tracto retinohipotalámico (RHT), núcleo supraquiasmático (NSQ), tracto óptico (TO), núcleo geniculado lateral (NGL), hipotálamo (H) efector (E). (Modificado de Rusak, 1990).

EL NSQ Y LOS RITMOS CIRCADIANOS

La ritmicidad parece ser propiedad fundamental de la materia viva, se observa desde los organismos unicelulares hasta los animales pluricelulares y, en un gran número de funciones (Brady, 1984). El ritmo se define como un fenómeno repetitivo que ocurre en un intervalo de tiempo constante. En un sistema biológico se denomina ritmo biológico como el ciclo de sueño y vigilia (Friesen y Block, 1984).

Una oscilación biológica es un cambio cíclico, medible en cantidad, que muestra una forma de la onda y periodo relativamente constantes. La característica más importante de una oscilación es el periodo, el cual es el intervalo entre dos puntos idénticos de referencia en la onda.

La oscilación biológica se conoce desde 1729 a partir de las observaciones de De Mairan sobre la ciclicidad del movimiento de las hojas de una planta sensitiva posiblemente *Mimosa pudica*. Esta planta abre sus hojas y pedicelos durante el día y los cierra durante la noche y este ritmo persiste aislando a la planta de la luz solar (Moore-Ede, et al., 1982).

La ritmicidad circadiana se pudo originar debido a la presión de los cambios periódicos ambientales los cuales indujeron que los parámetros orgánicos presentaran ritmicidad y estos a su vez determinaran el desarrollo de relojes biológicos como una respuesta adaptativa. Más tarde se mostró la naturaleza genética del periodo de los ritmos de un organismo en oscilación espontánea (Aguilar, 1993). Posteriormente las observaciones de otras investigaciones mostraron la existencia de un reloj biológico. Este se define como un sistema orgánico capaz de generar un orden temporal en las actividades del organismo, lo que le confiere la propiedad de oscilar con un periodo regular. Estas oscilaciones a su vez, se pueden utilizar como una referencia interna del tiempo lo que le permite al organismo interactuar temporalmente de manera adecuada con el ambiente (Aguilar, 1993).

Una propiedad del ritmo circádico, es que la longitud del período puede oscilar entre 22 a 27 hs ya que no tiene que ser exactamente de 24 horas. Lo que resulta importante para argumentar la naturaleza endógena de los ritmos circadianos. (Moore-Ede, et al., 1982). Se consideran como una adaptación al ciclo solar de luz y oscuridad y tienen dos características principales: se generan por osciladores endógenos y se sincronizan por el ciclo de luz y oscuridad, y aunque son originados en ausencia de este último el período exacto y la relación de fase del ritmo son impuestos por fenómenos ambientales.

La característica fundamental de los ritmos circádicos es su capacidad de mantenerse en condiciones ambientales constantes de luz y oscuridad. A partir de esta información (Aschoff, 1984) se postuló una relación empírica que se conoce como "Ley circádica" o "Ley de Aschoff", según la cual para los animales de hábitos diurnos, el período circádico de actividad locomotora se acorta bajo iluminación constante y se alarga en oscuridad continua; en los animales nocturnos ocurre lo contrario (Aguilar, 1993).

Existen evidencias de que los reguladores circadianos primarios se encuentran en el sistema nervioso central y sugieren que el principal oscilador del sistema regulador de los ritmos biológicos circadianos está localizado en el cerebro y que el sistema nervioso periférico contiene osciladores circadianos secundarios (Moore-Ede, et al., 1982). Algunos de los ritmos biológicos regulados por el sistema circadiano son el sueño y la vigilia, la ingesta de agua y alimento, la termoregulación, la actividad locomotora y la actividad de la N-acetiltransferasa (NAT) de la pineal (Moore-Ede, et al., 1982). Además, se propone que el sistema circadiano es un sistema multioscador, sin embargo, no hay datos acerca de la existencia de otro oscilador que no sea el NSQ el cual se considera el marcapaso circadiano o bien un sistema multioscador (Hall et al., 1978; Moore, 1983; Van Den Pol, 1980; Shibata y Moore; 1987, Rusak, 1990; Moore, 1991), lo que se ha probado por medio de lesiones (Drucker-Colin, et al., 1984, Hua Li,

et al., 1993, Refinetti et al., 1994) o bien si se extirpa el NSQ en ratas neonatas se eliminan en forma permanente, los ritmos de ingesta de agua y actividad motora, lo que sugiere que en el cerebro no hay otras regiones con capacidad de reorganizar y sustituir la función del NSQ.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En estudios morfométricos previos (Cintra et al., 1994), acerca de la regionalización celular y de los diferentes tipos neuronales del NSQ se mostró que las neuronas de los NSQ de ratas sometidas a una dieta hipoproteínica con 6% y 8% de caseína mostraron reducciones significativas en el tamaño del soma, ejes menor y mayor, así como aumentos por la edad en los mismos parámetros estudiados. Además, los estudios electroencefalográficos realizados en estos mismos animales sometidos a la desnutrición han mostrado alteraciones en la conducta del ciclo de sueño y vigilia (Forbes, et al., 1977; Salas, et al., 1983; Cintra, et al., 1988, Cintra, et al., 1990b, Cintra, et al., 1991; Díaz-Cintra, et al., 1991a). Asimismo, se han encontrado efectos importantes en la manifestación circádica del ciclo de sueño y vigilia; tales como cambios cuantitativos en los estados de vigilancia en ambas fases del ciclo luz:oscuridad así como cambios circadianos en los estados del sueño de ondas lentas (SOL) y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), los que se manifestaron por "cambios de fase". Esto sugiere que la desnutrición proteínica crónica temprana, interfiere en ciertos procesos de maduración de estructuras o mecanismos cerebrales responsables de la homeostásis del sueño y la manifestación circadiana del ciclo de sueño y vigilia (Galván, 1993). Debido a la escasa información acerca de las alteraciones que produce la desnutrición proteínica en la rata y en especial en el NSQ, resulta de particular interés el estudio de su desarrollo anatómico.

HIPOTESIS

Dada la organización del núcleo supraquiasmático, se reconoce su participación en la regulación de los ritmos circadianos como el del sueño y la vigilia, que parece estar alterado en las ratas desnutridas. Al mismo tiempo, estos cambios fisiológicos, podrían estar asociados a alteraciones de la citoarquitectura en el desarrollo morfológico del NSQ.

OBJETIVOS

- 1.- Analizar las dimensiones así como el número de neuronas en los NSQ de ratas control y desnutridas de 30 y 60 días, que pudieran ser la base estructural de posibles alteraciones en la función circadiana de la rata.
- 2.- Determinar las características histológicas de las neuronas del NSQ en las ratas control y las ratas sometidas a desnutrición (6% de caseína) pre y posnatalmente de 30 y 60 días.
- 3.- Determinar el grado del daño neuronal en los distintos tipos celulares en el NSQ de las ratas desnutridas en las dos edades.

MATERIALES Y METODOS

CRUZAS Y OBTENCION DE CRIAS

Se utilizaron ratas de la cepa Sprague-Dawley, (*Rattus norvegicus*) provenientes del bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM; hembras (250-300 g) y

machos (300-400 g), mismas que se mantuvieron en condiciones de ambiente controlado, periodo de luz y oscuridad 12:12 horas, temperatura entre $22 \pm 2^\circ \text{C}$, con libre acceso a una de dos dietas (Tabla II).

Tabla II
Composición de las dietas control (25%)
e hipoproteínica (6%).

	25% caseína	6% Caseína
Proteína	18.8	5.3
Grasa	5.4	15.0
Carbohidratos	50.9	88.9
Mezcla de sales	4.7	4.0**
Mezcla de vitaminas	1.0	1.0
Agua	2.2	1.2
Elemento no nutritivo	4.2	4.2
Kcal/g	4.3	4.3

* Las dietas fueron suplementadas con L-metionina (0.4%) debido a que la caseína carece de este aminoácido esencial.

** Se le adicionó a las dietas fosfato de calcio monobásico (0.8%) y carbonato de zinc (0.001%) a la mezcla de sales de la dieta para mantener estos minerales en niveles iguales.

Para la obtención de dos grupos nutricionales se formaron 4 grupos de 3 hembras colocando cada uno en cajas de plástico de apareamiento (60X40X20 cm). Dos grupos se alimentaron con una dieta de 25% de caseína y otro con dos con una dieta hipoproteínica con 6% de caseína durante 5 semanas antes del apareamiento.

Posteriormente se colocó un macho en cada caja de apareamiento por 10 días. Se las hembras marcaron en la cola con un marcador de tinta indeleble para llevar un registro individual. Para determinar el primer día de la gestación se realizaron frotis vaginales

cada mañana. Las hembras que presentaron frotis positivos fueron separadas en cajas de plástico (48X27X16 cm) y continuaron expuestas a la dieta durante el periodo de gestación. Al nacimiento las camadas del mismo día e igual dieta fueron sexadas, pesadas y mezcladas entre sí. Se asignaron 4 hembras y 4 machos a cada madre de las mismas condiciones nutricionales, con la finalidad de obtener camadas heterógenas. Al destete (21 días) se colocaron 8 animales por caja del mismo sexo y la misma dieta y en ellas se mantuvieron hasta cumplir las edades de 30 y 60 días (Fig. 5).

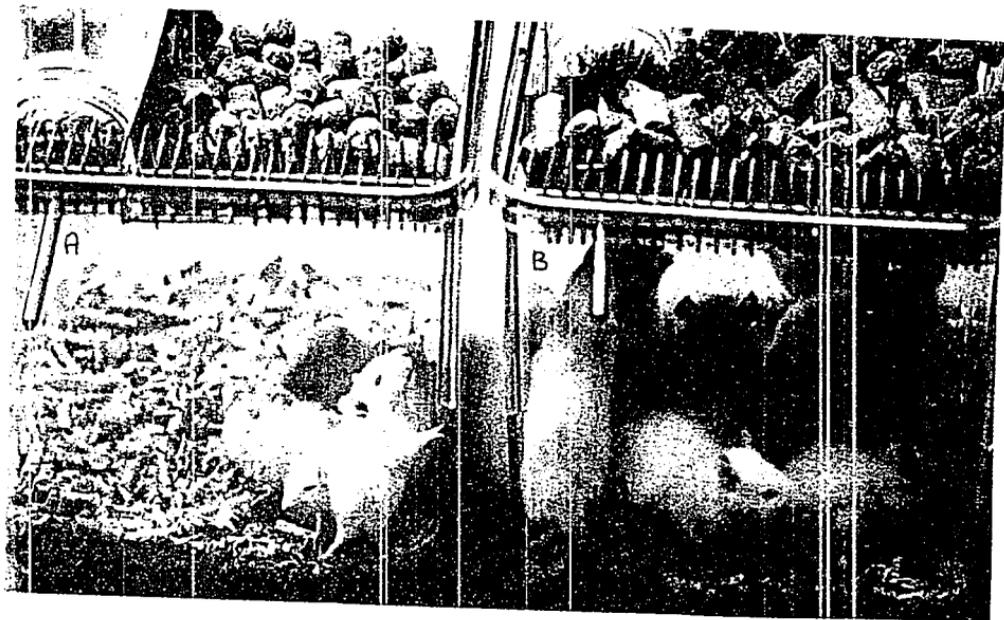


Figura 5. Ratas de los grupos desnutrido (A) y control (B) de 30 días de edad.

Técnicas histológicas

Para cada técnica se utilizaron 6 animales por dieta y edad, los cuales se anestesiaron con pentobarbital sódico (30 mg/kg de peso corporal), se pesaron y perfundieron con formol neutro (10%) por vía intracardíaca y al día siguiente de efectuada la perfusión se disecaron los cerebros y se pesaron. Los cerebros de los animales de cada condición experimental y edad se procesaron con las técnicas histológicas de, Nissl (cortes de 6 μm) y Golgi-Cox (cortes de 120 μm), después de deshidratar se incluyeron en parafina en el primer caso y en el segundo caso los cerebros se incluyeron en nitrocelulosa y los cortes se montaron en resina sintética y se dejaron secar para su posterior observación. Enseguida se les asignó un número al azar para que las observaciones fueran a ciegas con respecto a la dieta y edad.

Mediciones morfométricas

En el material histológico, se identificó la región medial del NSQ y se dividió en las dos regiones dorsal y ventral (Bregma 1.30 mm Paxinos y Watson, 1986; Moore, 1992;) de los NSQ derecho e izquierdo. En el material histológico procesado con la técnica de Nissl (Fig. 6) se midieron el área, el perímetro los ejes mayor y menor y se contó el número total de neuronas y el número de los diferentes tipos (monopolares, bipolares simples, bipolares rizadas, piriformes espinosas y multipolares) según un estudio previo (Van Den Pol, 1980, 1991) 7), se contaron en 12 cortes del NSQ por la edad y la dieta. En los cortes histológicos teñidos con la técnica de Golgi-cox (120 μm) (Fig. 7), se identificaron los 5 tipos de neuronas Se midieron los mismos parámetros del soma neuronal en 12 neuronas de cada tipo por cada dieta y edad. Las mediciones se efectuaron a través del programa Histo 2000 en imágenes digitalizadas (Figs. 8 y 9).

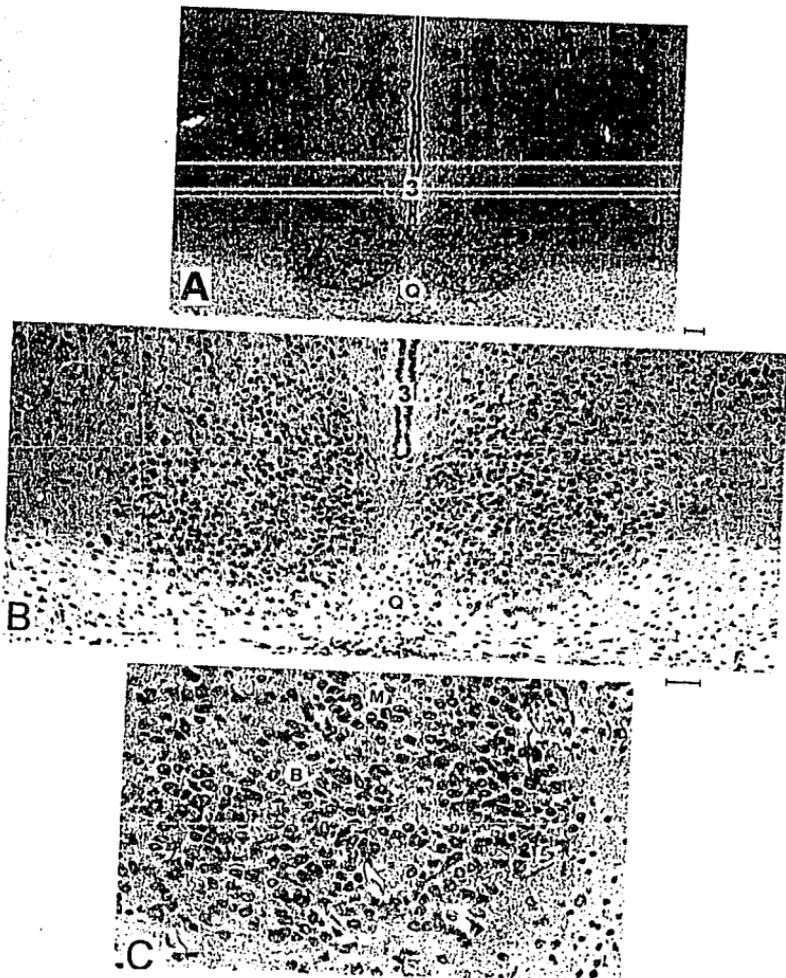


Figura 6. Fotomicrografías en A, de los NSQ, quiasma óptico (Q), tercer ventrículo (3) 10X; en B, 20X; en C, neurona monopolar (M) y bipolar (B) 40X. Línea = 50 μ . Técnica de Nissl.

ESTADISTICA

Los resultados de los parámetros medidos se evaluaron estadísticamente por medio del análisis de varianza (ANOVA de 2 vías), y los resultados que mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre grupos fueron analizados por medio de la prueba de comparaciones múltiples "Tukey", para lo cual se utilizó el programa SPSS 3.0 (Statistical Package for the Social Sciences 3.0).

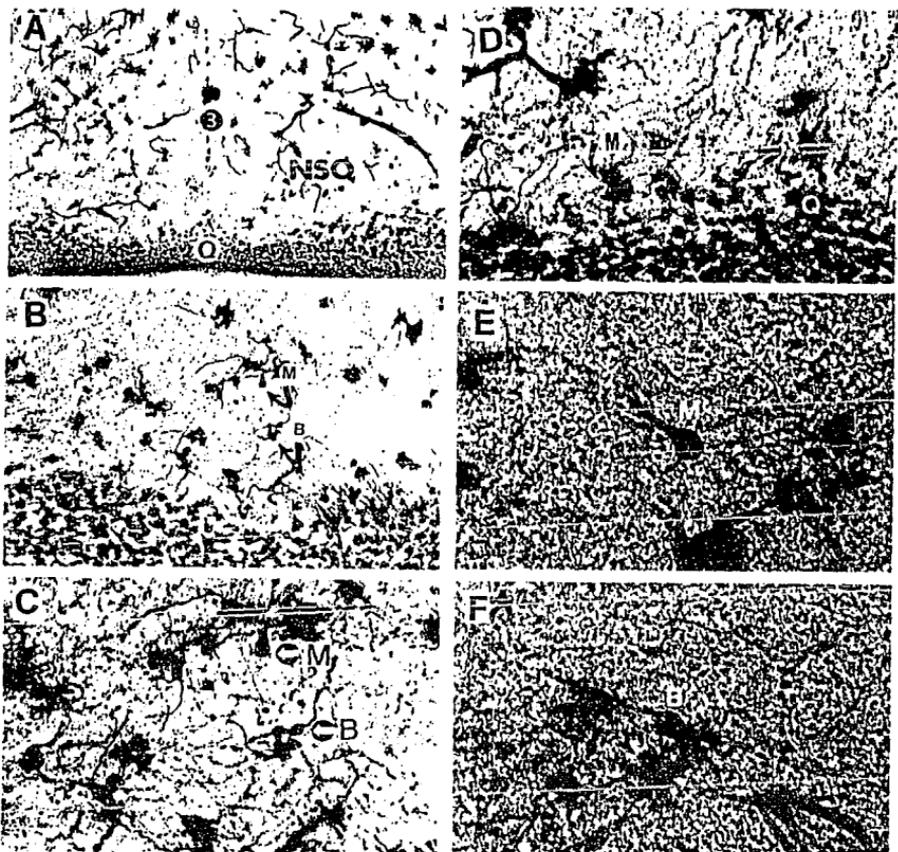


Figura 7. Fotomicrografías en A, NSQ, tercer ventrículo (3), quiasma óptico (Q) 10X; B, neuronas monopolar (M) y bipolar (B), 20X y en C 25X; en D, neurona monopolar 20X; en E, neurona monopolar 40X y en D, monopolar y bipolar; en F, bipolar 40X. Técnica Golgi-Cox.

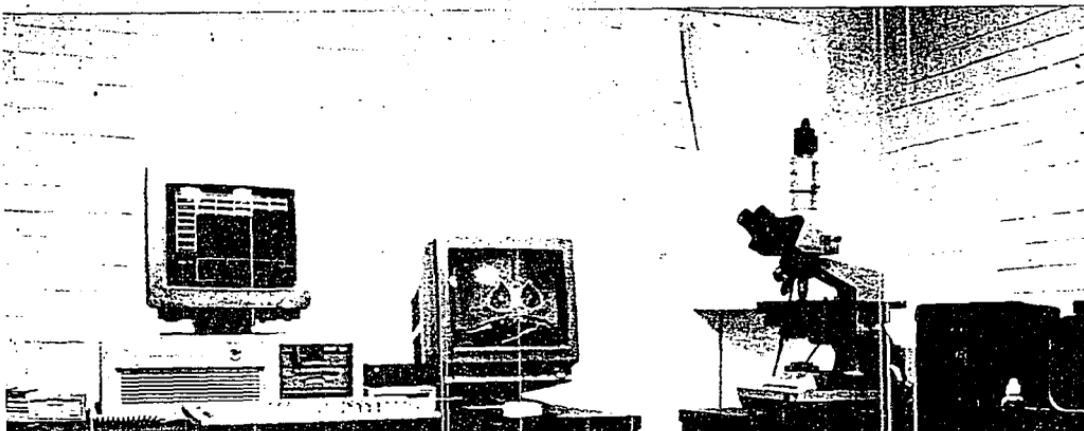


Figura 8. Equipo de computo utilizado para hacer las mediciones, mediante el programa Histo 2000.

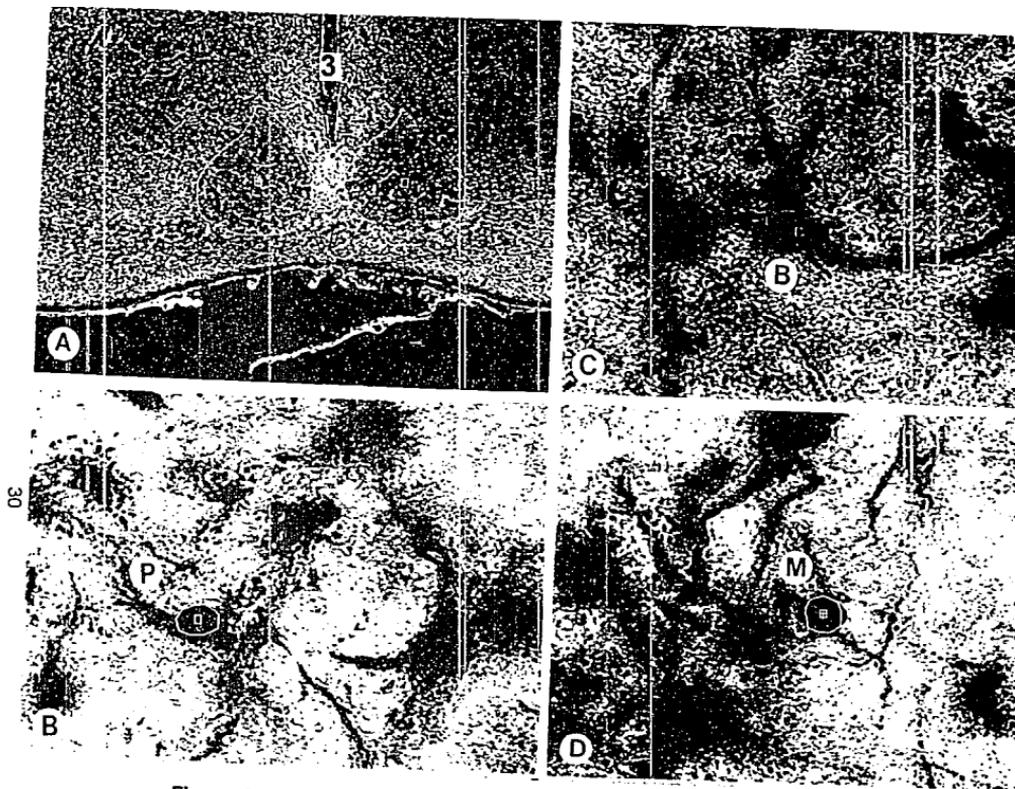


Figura 9. Imágenes en el monitor de los NSQ tercer ventrículo (3) (A) 10X, neuronas bipolar (B) y piriforme espinosa (C), y multipolar (D) 40X. Técnica de Golgi-Cox.

RESULTADOS

El análisis de varianza (ANOVA de dos vías) mostró diferencias significativas cuando se compararon los grupos experimentales (por la dieta, la región y la edad) en todos los parámetros medidos, los valores de la F se resumen en tablas IV a la XII después de la descripción de los resultados.

Pesos corporal y cerebral

La Tabla III, indica las medias y los errores estándar de los pesos cerebral y corporal de los animales de 30 y 60 días de edad. En la Tabla IV, los valores de F, del análisis estadístico efectuado con el ANOVA de 2 vías, que mostró diferencias significativas debidas a la dieta, la edad y la interacción. Los animales desnutridos de 30 días, mostraron disminuciones significativas ($p < 0.001$) en el peso corporal de 70%, y en el cerebral de 27%. En tanto que los animales desnutridos de 60 días su peso corporal mostró disminución del 74% ($p < 0.001$) y en el peso cerebral no se observó una diferencia estadísticamente significativa.

Tabla III
Pesos corporal y cerebral de las ratas de 30 y 60 días de edad de los grupos control y desnutrido.

	25% (n=10)	6% (n=10)	p<0.001
<i>Peso corporal</i>			
30	82.15 ± 3.08	24.16 ± 0.70	***
60	214.00 ± 6.09	55.90 ± 3.20	***
<i>Peso cerebral</i>			
30	1.65 ± 0.02	1.21 ± 0.05	***
60	1.62 ± 0.05	1.55 ± 0.02	***

*** Diferencia significativa con el grupo control $p < 0.001$ (Tukey).

Tabla IV
Pesos corporal y cerebral de ratas control y desnutridas de 30 y 60 días. ANOVA de dos vías con la dieta y edad como factores.

	Valores de F		
	DIETA	EDAD	INTERACCION
	(gl 1,36)	(gl 3,36)	(gl 3,36)
Peso corporal	470.2 ***	818.5 ***	177.1 ***
Peso cerebral	34.6 ***	12.8 **	18.25***

** p<0.01

*** p<0.001

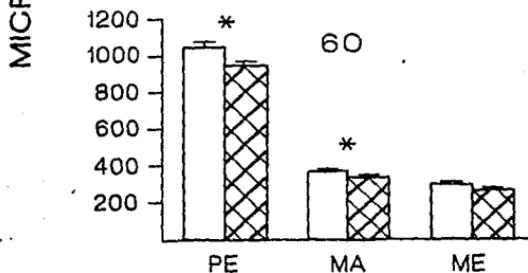
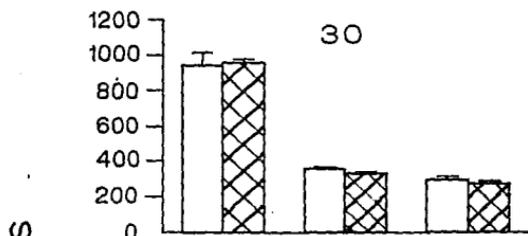
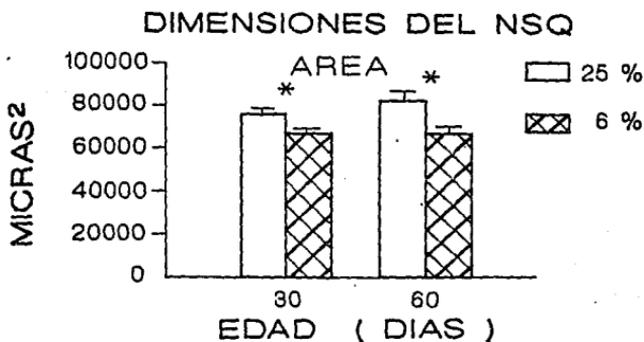
MEDIDAS MORFOLOGICAS DEL NSQ

El análisis estadístico de las dimensiones del NSQ con ANOVA de dos vías mostró diferencias significativas debidas a la dieta en el área y el eje mayor, y no mostró diferencias significativas debidas a la edad ni a la interacción de los factores dieta y edad (Tabla V)

Las ratas desnutridas de 30 días de edad disminuyeron significativamente un 14% en el área mientras el perímetro, los ejes mayor y menor no mostraron diferencias estadísticamente significativas. Las ratas desnutridas de 60 días de edad mostraron disminuciones significativas del 16% en el área (p<0.01) del 7% en el eje mayor (p<0.05) y del 10%; en el eje menor del NSQ al hacer comparaciones con los animales control de la misma edad (Fig. 10)

Tabla V
Medidas del NSQ, ANOVA de 2 vías con dieta y
edad como factores.

valores de F			
	DIETA	EDAD	INTERACCION
	(gl 1,60)	(gl 3,60)	(gl 3,60)
Area	16.6 ***	1.2 NS	1.1 NS
Perímetro	1.9 NS	1.4 NS	1.9 NS
Eje mayor	11.4 **	1.4 NS	0.0 NS
Eje menor	13.9 NS	0.1 NS	0.6 NS



PARAMETROS

Figura 10. Comparación del Área (AR), perímetro (PE), ejes mayor (MA) y menor (ME) del NSQ en ratas de 30 y 60 días del grupo control y desnutrido* $p < 0.05$.

NUMERO DE NEURONAS

El análisis estadístico realizado con el ANOVA de dos vías mostró sólo diferencias significativas en el número de neuronas por efecto de la dieta, el análisis *post hoc* con la prueba de Tukey, mostró aumento del 21% ($p < 0.001$) en los animales desnutridos de 30 días, en comparación con los animales control, en tanto que los ratas de 60 días no mostraron diferencias significativas debidas a la dieta en el número de neuronas, no se observaron diferencias por la interacción de ambos factores (Tabla VI y Fig. 11).

Tabla VI
Número total de neuronas ANOVA de 2 vías con dieta
y edad como factores.

valores de F		
DIETA	EDAD	INTERACCION
(gl 1,126)	(gl 3,126)	(gl 3,126)
16.4 ***	0.0 NS	0.0 NS

El número de neuronas de la región dorsal del grupo control de 30 días de edad mostró disminución significativa ($p < 0.001$) del 28% en comparación con la cantidad de la región ventral. En tanto que para el grupo control de 60 días esta disminución significativa ($p < 0.001$) en la cantidad de neuronas fue del 36% entre las dos regiones, en los animales desnutridos no se observaron diferencias significativas entre las dos regiones ni por la interacción de región y edad (Tabla VII y Figs. 11).

Tabla VII
Número total de neuronas ANOVA de 2 vías con las
region (dorsal y ventral) y edad como factores.

valores de F			
	REGION	EDAD	INTERACCION
	(gl 1,65)	(gl 3,65)	(gl 3,65)
Control	19.6 ***	0.0 NS	0.2 NS
Desnutrido	6.1 *	1.9 NS	0.4 NS

Al comparar la cantidad de neuronas tipificadas en las regiones dorsal y ventral por separado En la región dorsal el grupo desnutrido de 30 días de edad mostró aumento significativo ($p < 0.001$) en el número de neuronas monopolares del 24%, en el número de neuronas bipolares del 43% así como aumento significativo ($p < 0.05$) del 37% de las neuronas multipolares debido a la desnutrición en las ratas de 60 días en la misma región. En la región ventral no se encontraron diferencias estadísticamente significativas asociadas a la dieta. Se observaron cambios por la edad en la cantidad de neuronas piriformes en la región ventral y multipolares en la región dorsal e interacción de dieta y edad en la cantidad de neuronas bipolares de la región ventral (Tablas VIII y IX y Fig. 12).

Tabla VIII
Cantidad total de neuronas en las regiones dorsal y
ventral. ANOVA de 2 vías con la dieta y la edad como
factores.

valores de F			
	DIETA	EDAD	INTERACCION
	(gl 1,65)	(gl 3,65)	(gl 3,65)
Región dorsal	15.2 ***	0.9 NS	1.0 NS
Región ventral	2.6 NS	2.1 NS	1.7 NS

Tabla IX
Densidad neuronal tipificada de las regiones
dorsal y ventral. Con dieta y edad como factores.

	valores de F		
	DIETA	EDAD	INTERACCION
	(gl 1,68)	(gl 3,68)	(gl 3,68)
Monopolares			
Dorsal	9.8 **	0.0 NS	0.3 NS
Ventral	2.6 NS	2.1 NS	0.5 NS
Bipolares			
Dorsal	18.7 ***	2.0 NS	6.9 ***
Ventral	2.8 NS	3.7 NS	0.0 NS
Piriformes			
Dorsal	0.0 NS	0.0 NS	1.2 NS
Ventral	1.1	6.0 *	0.2 NS
Multipolares			
Dorsal	6.4 *	4.5 *	0.0 NS
Ventral	3.5 NS	0.0 NS	0.0 NS

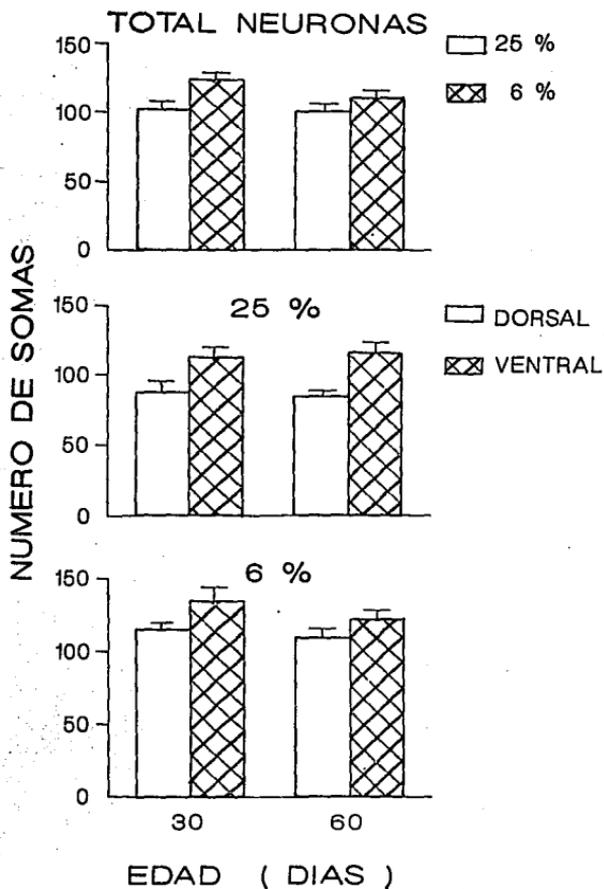


Figura 11. Comparación de la cantidad de neuronas, entre el grupo control y desnutrido y entre las regiones dorsal y ventral del NSQ de ratas de 30 y 60 días de edad.

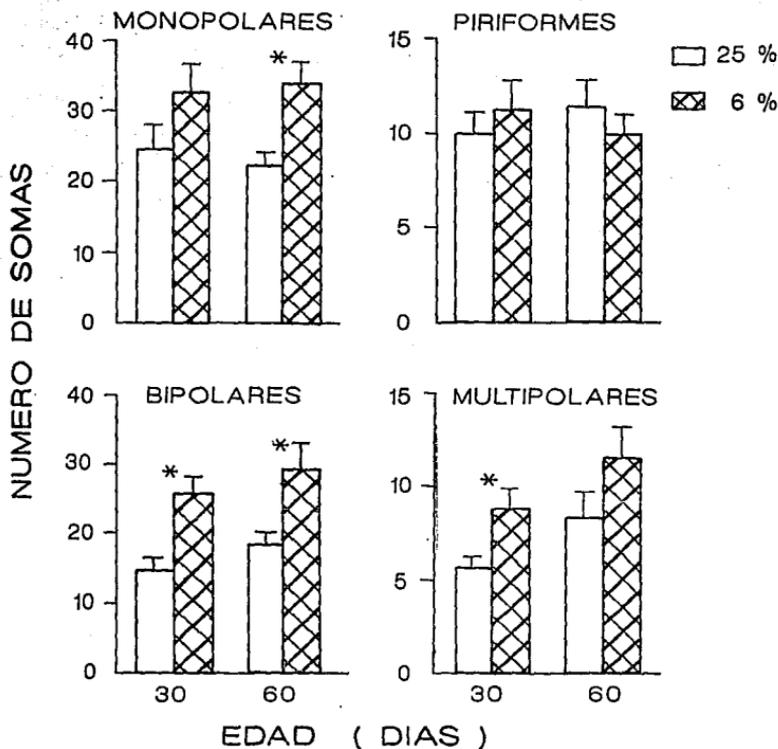


Figura 12. Comparación de la cantidad de neuronas monopolares, bipolares, piriformes y multipolares del la región dorsal del NSQ, de ratas de 30 y 60 días de edad, de los grupos control (25%) y desnutrido (6%).

MEDIDAS DEL SOMA NEURONAL

Monopolares

Se midieron las neuronas de los NSQ derecho e izquierdo, sin embargo, al hacer las comparaciones no se observaron diferencias significativas entre los dos núcleos.

Se presentan únicamente los resultados de las neuronas de la región ventral del de las ratas de 30 días de edad debido las dificultad técnica para teñir las neuronas, no se contó con un número suficiente para realizar el análisis estadístico.

En los animales de 30 días de edad se encontró que las neuronas monopolares de la región ventral mostraron disminuciones significativas ($F 12.5$; $gl 1,17$; $p<0.01$) del 27% en el área, del 13% en el perímetro, del 9% y del 18% en los ejes mayor y menor, respectivamente, comparados con el grupo control (Fig. 13).

En las ratas desnutridos de 60 días de edad, las neuronas monopolares de la región dorsal del NSQ mostraron aumento significativo ($p<0.05$) del 21% en el eje menor del soma en comparación con el grupo control. En la región ventral, se observaron aumentos significativos ($p<0.001$) de 48% en el área, del 31% en el perímetro, del 36% en el eje mayor y del 22% en el eje menor (Tabla X y Fig. 14).

Tabla X
Efectos de la desnutrición crónica sobre las neuronas monopolares de la región dorsal del NSQ en ratas de 60 días de edad, valores de F (ANOVA de una vía).

	valores de F	
	(gl 1,22)	(gl 1,46)
	Dorsal	Ventral
Area	6.4 *	91.9 ***
Perímetro	0.1 NS	108.4 ***
Eje mayor	0.9 NS	86.0 ***
Eje menor	41.4 ***	31.7 ***

Las neuronas monopolares de la región dorsal del NSQ de las ratas control de 60 días de edad mostraron disminuciones significativas ($p < 0.05$) del área del 31%, del perímetro del 28% y el eje mayor del 33% en comparación con las neuronas monopolares de la región ventral y los animales desnutridos de la misma edad mostraron disminución significativa ($p < 0.05$) del 23% en el eje mayor del soma (Tabla XI).

Tabla XI
Comparación de las mediciones de las neuronas monopolares entre las regiones dorsal vs ventral del grupo control y desnutrido de 60 días de edad (ANOVA de una vía).

	valores de F (gl 1,22)	
	25%	6%
Area	8.0 *	3.9 NS
Perímetro	7.7**	0.5 NS
Eje mayor	9.6 *	10.0 *
Eje menor	1.0 NS	4.2 NS

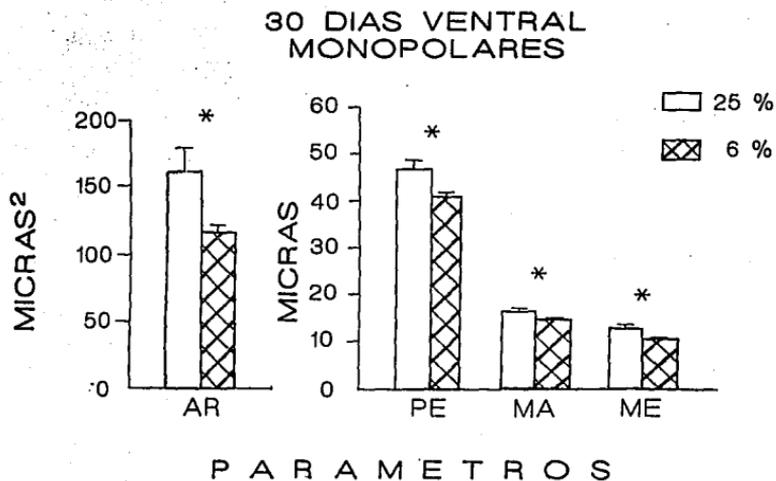
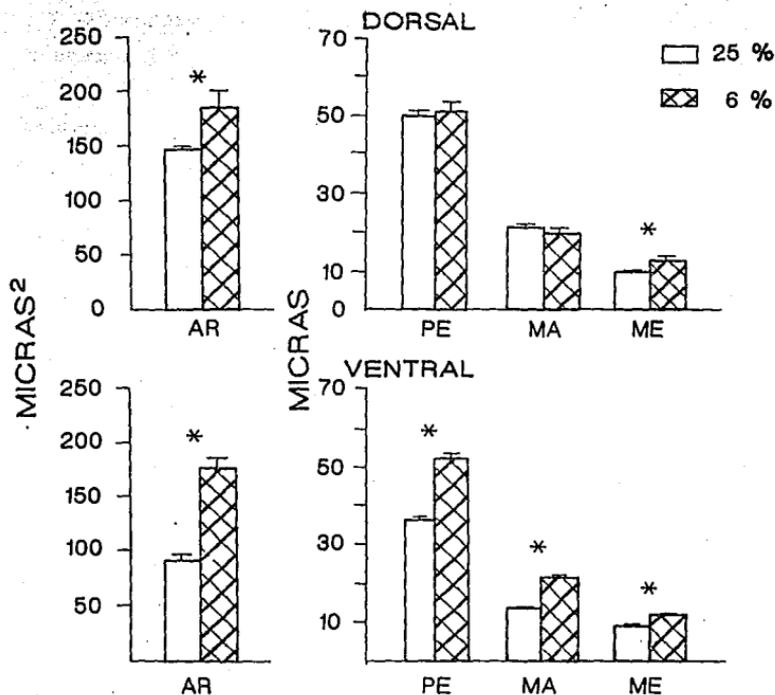


Figura 13. Mediciones de las neuronas monopolares de la región ventral del NSQ de ratas control y desnutridas de 30 días de edad.

60 DIAS MONOPOLARES



PARAMETROS

Figura 14. Mediciones de las neuronas monopolares de la región dorsal y ventral del NSQ de ratas del grupo control y desnutrido de 60 días de edad.

Piriformes Espinosas

Las neuronas piriformes espinosas de la región ventral del NSQ izquierdo de los animales desnutridos de 60 días mostraron aumentos significativos ($p < 0.001$) de 94%, 33%, 29% en el área, el perímetro y el eje mayor, respectivamente en comparación con las neuronas de los animales control (Tabla XII y Fig. 15).

Multipolares

Las neuronas multipolares de los animales desnutridos de 60 días de la región dorsal del NSQ derecho mostraron aumentos significativos ($p < 0.001$) de 97%, 28%, 27%, 26% en el área, perímetro, y de los ejes mayor y menor, respectivamente, en comparación con los animales control (Tabla XI y Fig. 15).

Tabla XII
Mediciones de las neuronas piriformes
espinosas y multipolares de la región ventral
de ratas desnutridas de 60 días de edad
(ANOVA de una vía).

valores de F (gl 1,22)	
Dieta	
Piriformes	
Área	64.7 ***
Perímetro	27.1 ***
Eje mayor	26.5 ***
Eje menor	24.5 **
Multipolares	
Área	84.0 ***
Perímetro	113.7 ***
Eje mayor	56.5 ***
Eje menor	52.3 ***

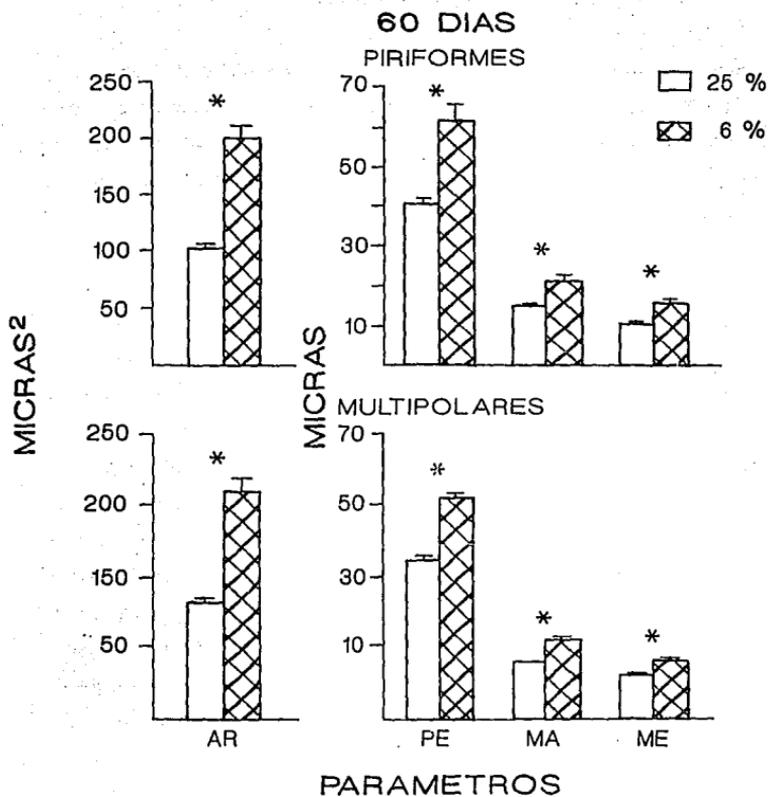


Figura 15. Comparación entre el grupo control y desnutrido, de las mediciones obtenidas de las neuronas piriformes de la región ventral, y multipolares de la región dorsal de ratas de 60 días de edad.

DISCUSION

El presente trabajo se realizó con la finalidad de conocer como afecta la desnutrición la densidad y la morfología de los NSQ y sus neuronas en ratas de 30 y 60 días. Los efectos se manifestaron sobre los pesos corporal y cerebral, sobre los parámetros celulares medidos al hacer la comparación entre los grupos control y desnutrido de las dos edades estudiadas. Igualmente se observaron diferencias significativas asociadas a la edad en algunos parámetros.

La la cantidad de neuronas de la región dorsal (ocupada por neuronas presumiblemente con contenido de VIP) de los animales control de 30 días fue menor que la densidad de la región ventral (formada por neuronas con contenido de VP), lo que concuerda con reportes previos (Van den Pol, 1980). Esta distribución celular, se relaciona con el contenido de sustancias neuroactivas la que es diferente en las regiones dorsal y ventral en condiciones normales. En cambio los animales desnutridos no mostraron diferencias significativas de la densidad entre dichas regiones. En los animales desnutridos de 60 días de edad no se encontró diferencia significativa de la densidad entre las regiones dorsal y ventral, lo que es diferente en condiciones normales según las descripciones de Moore (1992) y concuerdan con los hallazgos del presente trabajo lo que podría estar relacionado con modificaciones en la distribución de sustancias neuroactivas así como la densidad celular en los animales desnutridos.

Las causas del cambio en la cantidad de neuronas por la desnutrición proteínica pueden ser múltiples, entre las que se encuentran algunas que se han reportado para otras regiones del cerebro (Lewis y Balázs, 1979). Debidas por una parte, al retraso en la duración del ciclo celular (Debassio y Kemper, 1985) o mayor muerte neuronal en los animales desnutridos durante los procesos de desarrollo del núcleo objeto de estudio, o bien a efectos de la desnutrición proteínica sobre la migración neuronal que se ha encontrado disminuída en otras áreas del cerebro (Debassio y Kemper, 1985).

En este estudio los resultados mostraron disminuciones significativas debidas a la dieta en todos los parámetros del soma de las neuronas monopolares de los animales de 30 días de edad. En tanto que, se observaron aumentos significativos en todos los parámetros medidos en el soma de las neuronas de los animales de 60 días de edad. Las disminuciones del soma de las neuronas monopolares de la región ventral de los animales desnutridos de 30 días se relacionan con una mayor densidad de neuronas, lo que podría sugerir cierta plasticidad de tipo estructural (Kotlyar, 1992; Morgane et al., 1992) en respuesta a la desnutrición en el NSQ. Por otra parte, nuestros resultados sugieren de un modo indirecto que el establecimiento del núcleo semejante al del adulto no necesariamente corresponde al día P10, sino que este proceso continua hasta los 60 días de edad. Estos hallazgos ponen de manifiesto que los efectos de la desnutrición proteínica sobre los procesos de maduración celular dependen del momento del desarrollo del cerebro, lo que se manifiesta como efectos diferentes sobre la morfología celular de distintas áreas cerebrales y son dependientes de la edad del animal en estudio. Por ejemplo, los aumentos del tamaño del soma en los tres tipos de neuronas (monopolares, piriformes espinosas y multipolares) debidos a la desnutrición en los animales de 60 días de edad no se encontraron en otras estructuras del cerebro como la corteza visual, y el hipocampo ya que en estos estudios se encontraron decrementos significativos en los mismos parámetros celulares medidos en esta edad de 60 días. Sin embargo si concuerdan con algunos reportes previos que muestran que los efectos de la desnutrición proteínica sobre otras estructuras del cerebro tales como el núcleo locus coeruleus (Díaz-Cintra y Cintra, 1982; Díaz-Cintra, et al., 1984; Cintra, 1985; Díaz-Cintra, et al., 1991b,), giro dentado (Cintra, et al., 1990a), en el núcleo rafe dorsal (Díaz-Cintra, et al., 1981a,b) dependen de la edad.

Los cambios morfológicos del NSQ debidos a la desnutrición proteínica podrían estar relacionados con alteraciones a nivel de ultraestructura de las neuronas ya que se conoce que la síntesis de proteínas se encuentra disminuída en ratas alimentadas con

una dieta baja en caseína (Yokogoshi, et al 1992). Lo cual podría estar sustentado en el hecho de que las lesiones en el NSQ alteran el ritmo circadiano de locomoción en el ratón, lo que muestra la existencia de una regulación neuronal de los ritmos circadianos (Schwartz y Zimmerman, 1991) lo que sugiere que las alteraciones ocurridas a nivel neuronal se podrían manifestar como alteración en la expresión de la función circadiana. Además no se conoce a que se deban las disminuciones debidas a la desnutrición en los parámetros celulares de las ratas de 30 días, por una parte podría deberse a que hay pérdida de líquidos de la neurona o disminución en la cantidad de organelos, dado que se conoce la ultraestructura del NSQ en condiciones normales (Suburo y Pellegrino de Iraldi, 1969; Woods, et al., 1993) y se conoce además que se disminuye la síntesis de proteínas en el cerebro y del cerebelo de hamster donde se han utilizado dietas bajas en caseína (0%, 5% y 20%) (Yokogoshi, et al., 1992).

En contraste, las neuronas monopolares de la misma región, de los animales desnutridos de 60 días de edad mostraron aumento significativo en su tamaño, lo cual coincide con el aumento del área de los NSQ debido a la desnutrición por lo que podemos pensar en una hipertrofia del núcleo a esta edad, lo que sugiere que de 30 a 60 días ocurren procesos del desarrollo del NSQ aún desconocidos y la desnutrición proteínica conlleva a que la estructura neuronal sea diferente en las dos edades estudiadas. Por lo tanto hace falta información acerca de la actividad eléctrica neuronal lo que nos daría indicios de como es el ritmo circadiano de la actividad neuronal que se desarrolla del día P14 a P21 (Shibata y Moore, 1987; Inouye y Kawamura, 1982) en los animales desnutridos.

Las neuronas monopolares de la región dorsal de los animales control de 60 días son de mayor tamaño que las de la región ventral lo cual se podría relacionar con los hallazgos de otras investigaciones que la región se denomina "zona dispersa" por presentar las células más dispersas que en la región ventral la cual se ha denominado zona compacta, lo cual podría indicar que las neuronas son de mayor tamaño y se

encuentran en menor cantidad. (Van den Pol, 1980; Sofroniew y Weindl, 1980).

La menor cantidad de neuronas en la región dorsal es consistente con un mayor tamaño de las neuronas. Se podría pensar que el establecimiento del ritmo circadiano del ciclo sueño y vigilia se relaciona con la distribución y función de estas neuronas por lo que se encuentra alterado en los animales desnutridos en los cuales no se encontró el mismo patrón de distribución neuronal. Lo cual da indicio de que la distribución neuronal normal, caracterizada por el contenido de neuropeptidos VIP y VP por ejemplo, podría estar alterada en los animales desnutridos de las edades estudiadas, ya que las células inmunoreactivas al VIP y a la VP se han encontrado disminuidas en ratas desnutridas de 220 días (Rojas-Castañeda, et al., 1994).

La cantidad de neuronas monopolares, bipolares y multipolares de la región dorsal aumenta debido a la desnutrición proteínica. Por otra parte, se observó que la cantidad de las neuronas bipolares de la misma región mostró aumento debido a la edad en las ratas control en cambio en las ratas desnutridos se pierde esta relación, lo que sugiere que la plasticidad neuronal de las bipolares difiere de los otros tipos de neuronas (monopolares, piriformes espinosas, y multipolares) a los 60 días de edad.

La desnutrición proteínica afecta las neuronas del NSQ dependiendo de la edad de la rata mientras estos no dependen del tipo de neurona sino los efectos se manifiestan de manera similar. Estos resultados sugieren que la desnutrición podría afectar de manera similar la fisiología del NSQ por las modificaciones morfológicas encontradas en sus células, lo que se podría traducir en cambios a nivel de comunicación celular, y en consecuencia afectaría, la expresión del ritmo circadiano del ciclo de sueño y vigilia por ejemplo en cambios del reloj interno (Forbes, et al., 1977), lo que se ha mostrado estudiando el ritmo de utilización de glucosa el cual no se expresa de la misma manera, además de que en la literatura se reporta que el establecimiento del ritmo ocurre en edades tempranas (E19). Así nuestros hallazgos vienen en cierta forma a confirmar que los efectos de la desnutrición proteínica son a largo plazo.

Por estudios previos en animales desnutridos se sabe que hay modificaciones de fase en el ciclo de sueño y vigilia, en las edades de 30 y 60 días (Cintra, 1985; Cintra et al., 1988). Se sabe que la disminución del sueño MOR ocurre entre los 23 y los 29 días postnatales (Alfoldi, et al., 1990), en donde además ya se ha establecido el ritmo circadiano de actividad neuronal que se desarrolla a partir de los días P14 al P21 (Shibata, et al., 1983; Inouye y Kawamura, 1982). Estos cambios morfológicos del NSQ producidos por la desnutrición proteínica a los 30 días podrían ser la causa de la modificación de la expresión circadiana del ciclo sueño y vigilia, considerando que en el NSQ se encuentre parte del sistema de osciladores endógenos, que expresan los estados de vigilancia en la rata, lo cual ha sido sugerido por los hallazgos de investigaciones previas (Cintra, 1985) quien encontró diferencias entre los animales control y desnutridos tanto en días de fotoperíodo como en días de oscuridad constante.

Se conoce que las hormonas afectan los procesos básicos del desarrollo neuronal, la corticosterona por ejemplo influye sobre la motivación y los procesos de aprendizaje (Hall, 1982), se ha mostrado su influencia sobre la diferenciación neuronal. Algunas poblaciones neuronales la mayoría del sistema límbico, así como astrocitos y oligodendrocitos son blanco para corticoides (Bohn, 1978; Bohn y Lauder, 1980). La angiotensina aplicada directamente sobre cerebro induce las conductas de sueño e ingesta de agua en la rata (Epstein, 1980). Si bien en condiciones normales las hormonas no cruzan la barrera hematoencefálica, las hormonas ejercen sus efectos a través de los órganos circumventriculares (Epstein, 1980) entre los que encontramos el NSQ adyacente al tercer ventrículo. Esto significa que la concentración de hormonas circulantes ejerce sus influencias sobre el desarrollo del sistema nervioso por esta vía, teniendo como base el hecho de que la aplicación neonatal de tiroxina en la rata en el núcleo talámico reticular provoca aumentó significativo de la cantidad de neuronas a los 12 días y a los 20 y 30 días disminuyó la cantidad de las mismas (Salas, et al., 1993). Estos hechos sugieren que en la rata desnutrida, podrían manifestarse cambios en las

concentraciones hormonales y que, los efectos de la desnutrición sobre la morfología del NSQ estuvieran asociados a dichos cambios en las hormonas circulantes. Pueden ser hormonas que tengan como blanco al NSQ, o bien las que pasan a través del mismo aunque tengan como blanco otras estructuras cerebrales.

Se podría concluir que el sistema circadiano se encuentre alterado en las ratas desnutridas (Borbely, 1977; Tobler, et al., 1983) y que las neuronas del NSQ (componente importante del sistema circadiano) influyan de manera directa en la oscilación del ciclo de sueño y vigilia en la rata.

CONCLUSIONES

La desnutrición proteínica crónica produce pérdida de peso corporal y cerebral en la edad de 30 días y a los 60 días disminución del peso corporal únicamente.

La cantidad de neuronas de la región dorsal (ocupada por neuronas presumiblemente con contenido de VP) de las ratas control de 30 días fue menor que la cantidad de neuronas de la región ventral (formada por neuronas con contenido VIP), lo que concuerda con reportes previos (Van den Pol, 1980, 1991). Esta distribución celular, se relaciona con el contenido de sustancias neuroactivas, la que es diferente en las regiones dorsal y ventral en condiciones normales.

Las ratas desnutridas de 60 días de edad no mostraron diferencias significativas de la cantidad de neuronas entre dichas regiones, lo cual es diferente en condiciones normales.

Los resultados mostraron disminuciones significativas asociadas a la dieta en todos los parámetros del soma de las neuronas monopolares de los animales de 30 días de edad. En tanto que, se observaron aumentos significativos en todos los parámetros medidos en el soma de las neuronas de las ratas de 60 días de edad.

Por otra parte, nuestros resultados sugieren de un modo indirecto que el establecimiento del núcleo semejante al del adulto no necesariamente corresponde al día P10, sino que este proceso continúa hasta los 60 días de edad.

Estos hallazgos ponen de manifiesto que los efectos de la desnutrición proteínica sobre los procesos de maduración celular, dependen del momento del desarrollo en el que se encuentre el cerebro, lo que se manifiesta como efectos diferentes sobre la morfología celular de distintas áreas cerebrales.

La menor cantidad de neuronas en la región dorsal del NSQ es consistente con el mayor tamaño de sus neuronas. Podría pensarse que el establecimiento del ritmo circadiano del ciclo sueño y vigilia, se relaciona con la distribución y función de las neuronas que lo integran. Fundamentan esta conclusión, las alteraciones en el patrón neuronal que se observó en las ratas desnutridas. Asimismo, la distribución neuronal normal, caracterizada por el contenido de neuropéptidos VIP y VP por ejemplo, podría estar alterada en los animales desnutridos de las edades estudiadas, ya que las células inmunoreactivas al VIP y a la VP se han encontrado disminuidas en las ratas desnutridas de 220 días.

Los resultados permiten concluir que el sistema circadiano se encuentra alterado en las ratas desnutridas y que las neuronas del NSQ (componente importante del sistema circadiano) influyen de manera directa en la oscilación del ciclo sueño y vigilia en la

REFERENCIAS

- Aguilar, R. R. (1993): Teorías de los ritmos biológicos. **I curso latinoamericano de cronobiología**. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina. México, D. F. Julio 5 y 6.
- Alfoldi, P. Tobler, I. y Borbély, A. (1990): Sleep regulation in rats during early development. **Am. Phys. Soc.** R634-R644.
- Altman, J., Das, G.D. y Sudarshan, K. (1970): 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. **Dev. Psych.** 3: 281-301.
- Aschoff, J. (1984): Free running and entrained circadian rhythms. En: Jürgen Aschoff (Ed.), **Handbook of behavioral neurobiology vol 4: Biological Rhythms**. Plenum Press, New York, pp 81-93.
- Barrett, D. E. y Frank, D. A. (1987): Empirical studies on malnutrition and behavior. Chap. 3. En: **The effects of undernutrition on children's behavior**. Gordon and Breach Science Publishers, New York, pp 107-114.
- Bleier, R. y Byne, W. (1985): Septum and hypothalamus. En: Paxinos, J. (Ed.) **The rat nervous system Vol 1**, Academic Press, New York, pp 87-118.
- Blond, L.C.B., Morriri, S., Karakialakis, G., Powell, R y Thomas, P. J. (1982): Development of sexual dimorphism in the suprachiasmatic nucleus of the rat. **J. Endocr.** 95:137-145.
- Bohn, M.C. (1978): The effects of neonatal hydrocortisone on rat cerebellar development. **Dev. Neurosci.** 1: 250-266.
- Bohn, M.C. y Lauder, J. M. (1980): Cerebellar granule cell genesis in the hydrocortisone treated rats. **Dev. Neurosci.** 3: 81-89.
- Borbély, A. A. (1977): Sleep in the rat during food deprivation and subsequent restitution of food. **Brain Res.** 124:457-471.
- Bornstein, M. H. (1989): Sensitive periods in development: structural characteristics and causal interpretations. **Psych. Bull.** 105: 179-197.

Brady, J. (1984): Behavioral rhythms in invertebrates. En: Jurgen Aschoff (Ed.), **Handbook of behavioral neurobiology vol 4: Biological Rhythms**. Plenum Press, New York, pp 125-143.

Cintra, L. (1985): Efectos de la desnutrición proteínica en el ciclo de sueño-vigilia y su ritmicidad circadiana en la rata. Tesis de doctorado (Biología). Facultad de Ciencias UNAM. 70 pp.

Cintra, L. y Díaz-Cintra, S. (1982): Efecto de la desnutrición proteínica en los núcleos del rafé dorsal, locus coeruleus y en las células no piramidales de la corteza visual de la rata. **Rev. Chil. Nutr.** 13: 76-82.

Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Kemper, T y Morgane, P.J. (1982): Nucleus locus coeruleus: A morphometric Golgi study of rats of three age groups. **Brain Res.** 247: 17-28.

Cintra, L., Cintra, L. Galván, A. y Morgane, P.J. (1988): Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. **Bol. Estud. Med. Biol. Méx.** 36: 1-4) 3-17.

Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A., Kemper, T y Morgane, P. J. (1990a): Effects of protein undernutrition on the dentate gyrus in rats of three age groups. **Brain Res.** 247: 17-28.

Cintra, L. Galván, A. y Díaz-Cintra. (1990b): Sleep deprivation in normal and malnourished rats of 30 days of age. 20 th. Annual Meeting St. Louis, Missouri October 28-November 2, 16 (1):35.

Cintra, L., Galván, A. y Díaz-Cintra, S. (1991): Sleep deprivation in normal and malnourished rats of 60 days of age. WFSRS, Founding Congress. Sleep Research, Cannes France. September 21-25

Cintra, L., Galván, A., Díaz-Cintra, S. y Escobar, C. (1994): Protein malnutrition on suprachiasmatic nucleus cells in rats of three ages. **Bol. Estud. Med. Biol. Méx.** 42:11-19.

Cragg, B.G. (1972): The development of cortical synapses during starvation in the rat. **Brain**, 95:143-150.

Davis, F. C., Boada, R, y LeDeaux, J. (1990): Neurogenesis of the hamster suprachiasmatic nucleus. **Brain Res.** 119: 192-199.

Debassio, W. y Kemper, T. (1985): The effects protein deprivation on neuronal migration in rats. **Dev. Brain Res.** 20: 191-196.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J. (1981a): Nucleus raphe dorsalis: A morphometric Golgi study of rats of three age groups. **Brain Res.** **207**: 1-16.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J. (1981b): The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: A morphometric Golgi study of rats of three age groups. **Brain Res.** **221**: 243-255.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Ortega, A. y Kemper, T., Morgane, P. J. (1990): Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex in rats of three age groups, **J. Comp. Neurol.** **292**: 117-126.

Díaz-Cintra, S., Galván, A. y Cintra, L. (1991a): Sleep deprivation in normal and malnourished rats of 30 days of age. WFSRS, Founding Congress. Sleep Research, Cannes France. September 21-25.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Galván, A. y Morgane, P. J. (1991b): Effects of protein malnutrition on the postnatal development of the granule cells in the fascia dentata. **J. Comp. Neurol.** **301**: 356-364.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J. (1984): The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus: A morphometric Golgi study of rats of three age groups. **Brain Res.** **304**: 242-253.

Debassio, W. A. y Kemper, T. (1985): The effects of protein deprivation on neuronal migration in rats. **Dev. Brain Res.** **20**:191-196.

Dobbing, J. (1972): Vulnerable period of brain development. En: **Lipids, malnutrition and the developing brain.** Elsevier/Excerpta Médica/North Holland, Amsterdam. pp 9-29.

Drucker-Colin, R., Aguilar-Roblero, R., García-Hernández, F., Fernández-Cansino, F. y Rattoni, F. B. (1984): Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: Diurnal rhythm recovery of lesion rats. **Brain Res.** **311**: 353-357,

Epstein, A. N. (1980): Angiotensin-induced water and salt intake. En: Valverde-Rodríguez, C. y Aréchiga, H. (Eds.), **Frontiers of hormone research comparative aspects of neuroendocrine control of behavior.** S. Karger, New York, pp 105.117.

Forbes, W. B., Tracy, C., Resnick, O. y Morgane, P. J. (1977): Effects of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. **Exp Neurol.** **57**: 440-450.

Friesen, W.O. y Block, G. D. (1984): What is a biological oscillator? **Am. Phys. Soc.** **RR47-R651.**

Galván, A. (1993): Efectos de la privación total de sueño en ratas con desnutrición proteínica crónica. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Departamento de Fisiología Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM. pp 47-64.

Güldner, F. H. (1983): Numbers and astroglial cells in the suprachiasmatic nucleus of male and female rats. **Exp. Brain. Res.** **50**: 373-376.

Ginty, D. Kornhauser, J.M., Thompson, M. A. Bading, H., Mayo, K. E., Takahashi, S. J. Grennberg, M. E. (1993): Regulation of CREB phosphorylation in the suprachiasmatic nucleus by light and circadian clock. **Science**. **260**: (1105) 238-241.

Hall, R., Forbes, W.B y Robertson, W. (1978): The effects of protein malnutrition on the rats circadian patterns of food and water intake. **Nut. Rep. Int.** **18**:713-720.

Hall, E. D. (1982): Glucocorticoid effect on central nervous excitability and synaptic transmission. International Review of Neurobiology, Vol 23. Academic Press Inc., New York, pp 165-195.

Handrickson, A.E., Wagoner, N. y Cowan, W. M. (1972): An autoradiographic and electron microscope study of retino-hypothalamic connections. **Z. Zellforsch.** **135**: 1-26.

Hoff, E. y Janick, J. (1978): Los alimentos. cuestiones de bromatología. **Selecciones. Sci. Am.** 336 pp.

Hua Li, E. S., Cheng Liou, T.K.T., McArthur, A.J. Medanic, M. y Gillette, M.U. (1993): Do the suprachiasmatic nuclei oscillate in old rats. **Am. Phys. Soc.** R1216-R1222.

Inouye, S.T. y Kawamura, H. (1982): Characteristics of a circadian pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. **J. Comp. Physiol.** **146**:153-160.

Isaacson, R. L. (1982): The structure of the limbic system. En: **The limbic system.** Plenum Press, New York. 327 pp.

Jacobson, M. (1978): Developmental neurobiology. Plenum Press New York, pp 78-81.

Kotlyar, B. I. (1992): Functional and structural plasticity. En: John K. Young (De), **Plasticity in the nervous system.** Gordon and Breach science publishers Melbourne pp 5-27.

Latham, M. C. (1991): Malnutrición proteico-energética. En: **Conocimientos actuales sobre nutrición.** Organización Panamericana de la Salud Instituto Internacional de Ciencias de la Vida. Publicación científica No. 532, 6a Ed., pp 47-55.

Leuba, G. y Rabinowicks, T. (1979): Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. I. Cellular densities cortical volume and total number of cells. **Exp. Brain Res.** **37**: 283-298.

Levitsky, D. y Barnes, B. H. (1972): Nutritional and environmental interactions in the behavioral development of the rat: Long-term effects. **Science.** **176**: 68-71.

Lewis, P. D. y Balázs, R. (1979): The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain **Brain Res.** **168**:186-189.

Lydic, R. y More-Ede, M.C. (1980): Three dimensional structure of the mammalian suprachiasmatic nuclei in the diurnal squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). **Neurosci. Lett.** **17**: 295-299.

Monckeberg, F. (1985): Plasticidad y "rigidez" cerebral. **Rev. Chil. Nutr.** **13**: 73-75, .

Moore, R.Y. (1983): Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: the suprachiasmatic hypothalamic nucleus. **Fed. Proc.** **42**: 2783-2789.

Moore, R.Y. (1990): The circadian system and sleep-wake behavior. En: Montplaisir, J. y Golboub, R. (Eds.), **Sleep and biological rhythms basic mechanisms and applications to psychiatry.** Oxford University Press New York , pp 3-10.

Moore, R.Y. (1991): The suprachiasmatic nucleus and the circadian timing system. En: Klein, D.C. Moore, R.Y. Reppert, S.M. (Eds.) **The Suprachiasmatic nucleus, the mind's clock.** Oxford University Press New York, pp13-15

Moore, R. Y. (1992): Suprachiasmatic nucleus and the circadian timing system. **Discuss. Neurosc.** **VIII**: 26-33.

Moore-Ede, M.C.; Sulzman, F. M. y Fuller, C. A. (1982): Organization of the circadian timing system. En: **The clocks that time us.** Harvard University Press. USA. pp 113-151.

Morgane, P.J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J. y Galler, J. (1992): Malnutrition and the developing central nervous system. En: Isaacson, R.L., Jensen, K.F. (Eds.) **The vulnerable brain and environmental risks.** Plenum Pres, New York, pp 3-44.

Morgane, P.J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. y Galler, J.R. (1993): Prenatal Malnutrition and Development of the Brain. **Neurosc. Biobehav. Rev.** **17**:91-128.

Paxinos; G. y Watson, C. (1986): The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic

Press New York, 119 pp.

Refinetti, R. Kaufman, C.M. y Menaker, M. (1994): Complete suprachiasmatic lesions eliminate circadian rhythmicity of body temperature and locomotor activity in golden hamsters. *J. Comp. Neurol.* **175**: 223-232.

Reppert S.M. (1985): Maternal entrainment of the developing circadian system. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **453**: 162.

Reppert S.M. y Schwartz, W.J.J. (1986): Maternal suprachiasmatic nuclei are necessary for maternal coordination of the developing circadian system. *J. Neurosci.* **6**: 2724-2729.

Rodier, P.M. (1980): Chronobiology of neuron development: Animal studies and their clinical implications. *Dev. Med. Child Neurol.* 525-245.

Rojas-Castañeda, J. Cintra, L. Aguilar-Roblero, R. (1994): Efectos de la malnutrición hipoproteínica sobre la morfología del núcleo supraquiasmático de la rata. *IV Foro anual de Investigación.* Instituto Nacional de Pediatría. Ciudad de México 21, 22 y 23 de septiembre.

Rusak, B. (1990): Biological rhythms from physiology to behavior. En: Montplaisir, J. Godbout, R. (Eds.), *Sleep and biological rhythms: Basic mechanisms and applications to psychiatry.* Oxford University Press, pp 11-24.

Salas, M., Díaz, S. y Nieto, A. (1974): Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Res.* **73**: 139-144.

Salas, M., Ruiz C., Torrero, C. y Pulido, S. (1983): Neonatal food restriction: its effects on the sleep cycles and vigil behavior of adult rats. *Bol. Estud. Med. Biol. Méx.* **32**: 209-215.

Salas, M., Torrero, C. Regalado, M. y Carrillo, P. (1993): Alterations in the thalamic reticular nucleus of rats neonatally treated with thyroxine. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* **41**: 3-7.

Schottelius, B.A y Schottelius, D.D. (1982): Fisiología. Interamericana. México, 350-357 y 529-548.

Schwartz, W. J y Zimmerman, P. (1991): Lesions of the suprachiasmatic nucleus disrupt circadian locomotor rhythms in the mouse. *Physiol. Behav.* **49**:1283-1287.

Shibata, S., Liou, S.Y. y Ueki, S. (1983): Development of the circadian rhythm of neuronal activity in suprachiasmatic nucleus of rat hypothalamic slices. *Neurosc. Lett.*

43: 231-234.

Shibata, S. y Moore, R.Y. (1987): Development of neuronal activity in the rat suprachiasmatic nucleus. *Dev Brain Res.* **34**:311-315.

Smart, J. L. (1990): Vulnerability of developing brain to undernutrition. *J. Med. Sci. Suppl.* **48**: 21-41.

Smart, J. L. (1991): Critical periods in brain development. En: **The childhood environment and adult disease**. Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium). 156. 109-128.

Sofroniew, M.V. y Weindl, A. (1980): Identification of parvocellular vasopressin and neurophysin neurons in the suprachiasmatic nucleus of a variety of mammals including primates. *J. Comp. Neurol.* **193**: 659-675.

Strobel, D. A. y Zimmerman, R. R. (1972): Manipulatory responsiveness of protein malnourished monkeys. *Psychonom. Sci.* **24**: 19-20.

Suburo, A.M. y Pellegrino de Iraldi, A. (1969): An ultrastructural study of the rat's suprachiasmatic nucleus. *J. Anat.* **1053**: 439-446,

Susser, M. (1987): The development of studies of nutrition, the brain, and mental performance a brief retrospective. *Current Topics in Nutrition and Disease* volumen 16. 317-321.

Tobler, I., Borbely, A.A. y Groos, G. (1983): The effect of sleep deprivations on sleep in rats with suprachiasmatic lesions. *Neurosc. Lett.* **42**: 49-54.

Van den Pol, A.N. (1980): The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat: Intrinsic anatomy. *J. Comp. Neurol.* **191**: 661-702,

Van den Pol, A. N. (1991): The suprachiasmatic nucleus: Morphological and cytochemical substrates for cellular interaction. En: Klein, D.C.; Moore, R.Y. Reppert, S.M. S. (Eds.) **Suprachiasmatic nucleus, the mind's clock**. Oxford University Press, New York, pp 17-50.

Velázquez, A. Dehesa, S. y Escobar, C. (1981): Desnutrición y privación de estimulación: Efectos sobre aprendizaje y su frecuencia en México Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. pp 5-14.

Warren, M. A. y Bedi, K. S. (1982): Synapse-to-neuron ratios in the visual cortex of adult rats undernourished from about birth until 100 days of age. *J. Comp. Neurol.* **210**: 59-64.

West, C.D. y Kemper, T. (1976): The effect of a low protein diet on the anatomical development of the rat brain. *Brain Res.* 107:221-237.

Woods, W.H., Powell, E.W., Andrews, A. y Ford, C.W. (1993): Light and electron microscopic analysis of two divisions of the suprachiasmatic nucleus in the young and aged rat. *Anat.Rec.* 237:71-88.

Yokogoshi, H., Hayase, K. y Yoshida, A. (1992): The quality and quantity of dietary protein affect brain protein synthesis in rats. *Am. Inst. of Nut.* pp 2210-2217.